

ISSN 0029-0629 CODEN: NFGZAD

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

Vol. 42 No. 4 November 1997
第42卷 第4号 平成9年11月1日

Jpn. J. Fertil. Steril. / 日不妊会誌

第43回日本不妊学会総会および学術講演会 (第1回予告)

下記により第43回日本不妊学会総会および学術講演会を開催いたしますので多数の方々がご参加下さいますようお願い申し上げます。

記

- I 期 日：平成10年11月11日(水)理事会，幹事会
12日(木)学術講演会，評議会，総会，総懇親会
13日(金)学術講演会，理事会

- II 会 場：鹿児島市民文化ホール
〒890 鹿児島市与次郎2-3-1(TEL：099-257-8111)
鹿児島サンロイヤルホテル
〒890 鹿児島市与次郎1-8-10(TEL：099-253-2020)

演題募集要綱，その他詳細につきましては次号(第43巻第1号，平成10年1月発行)に予告いたします。一般演題の締切りは平成10年5月末日の予定です。

1997年(平成9年)11月

第43回日本不妊学会
会長 永田行博

連絡先：〒890 鹿児島市桜ヶ丘8-35-1
鹿児島大学医学部産婦人科学教室内
第43回日本不妊学会事務局
TEL：099-275-5423
FAX：099-265-0507

理事会報告

日本産科婦人科学会は、会告として「非配偶者間人工授精と精子提供に関する見解」について発表致しました。これに先立ち、本学会へ意見聴取がありました。本学会では、この問題を倫理委員会に諮問し、理事会は倫理委員会報告として答申をうけました。本学会はこれに基づき下記の通り日本産科婦人科学会宛に回答しましたので、その内容をここにご報告致します。

なお、参考までに日本産科婦人科学会の見解と解説を附します。

—— 記 ——

日本産科婦人科学会
会長 武田佳彦 殿

日本不妊学会倫理委員会は、貴会の「非配偶者間人工授精と精子提供に関する見解」について検討致しました。本法について会告の形で見解を明らかにしたことは、意義深いものであり、日本不妊学会として、その主旨と内容に賛同致します。

日本不妊学会では、「新しい生殖医療技術のガイドライン」発刊にあたり、「非配偶者間人工授精」の項でこの件に関して討議し、その後も検討を重ねており、さらに、将来的に以下のことなども検討していく必要があるとの意見がございますのでご報告します。

1. 正常精液所見の条件を具体的に明記すること、感染症や遺伝性疾患検査を十分に検査する間精子を凍結保存すること、などの必要性をいずれ検討されたい。
2. 本法の適応となりうる対象については、手術療法などの今後の医療技術の進歩に応じて検討していくことも必要と考えられる。
3. 記録の保存は、将来、本法による出生児が記録の開示を求めた場合に備えて、具体的な期間を定めたほうがよいと考えられる。
4. 営利目的で本法を行うべきでないことを遵守し、また施設登録を実施するにあたりこれらを審査する機関(法律家を交える)の必要性もあると考えられる。

以 上

平成9年2月14日
社団法人日本不妊学会
理事長 森 崇英

非配偶者間人工授精と精子提供に関する見解

(日本産科婦人科学会雑誌 第49巻5号)

精子提供による非配偶者間人工授精 (artificial insemination with donor semen: AID, 以下本法) は, 不妊の治療として行われる医療行為であり, その実際に際しては, 我が国における倫理的・法的・社会的基盤を十分に配慮し, これを実施する。

1. 本法以外の医療行為によっては, 妊娠成立の見込みがないと判断され, しかも本法によって挙児を希望するものを対象とする。
2. 被実施者は法的に婚姻している夫婦で, 心身ともに妊娠・分娩・育児に耐えられる状態にあるものとする。
3. 実施者は医師で, 被実施者である不妊夫婦双方に本法を十分に説明し, 了解を得た上で同意書等を作製し, それを保管する。また本法の実施に際しては, 被実施者夫婦およびその出生児のプライバシーを尊重する。
4. 精子提供者は健康で, 感染症がなく自己の知る限り遺伝性疾患を認めず, 精液所見が正常であることを条件とする。精子提供者は, 本法の提供者になることに同意して登録をし, 提供の期間を一定期間内とする。
5. 精子提供者のプライバシー保護のため精子提供者は匿名とするが, 実施医師は精子提供者の記録を保存するものとする。
6. 精子提供は営利目的で行われるべきものではなく, 営利目的での精子提供の斡旋もしくは関与または類似行為をしてはならない。
7. 非配偶者間人工授精を実施する施設は日本産科婦人科学会へ施設登録を行う。

“非配偶者間人工授精と精子提供に関する見解” に対する考え方 (解説)

非配偶者間人工授精は, 被実施者である不妊夫婦とその出生児および精子提供者のプライバシーに関わる部分も通常の医療以上に大きいため, 見解作成の経緯において, 多くの論議を慎重に重ねてきた。その結果, 非配偶者間人工授精の実施に際して, 我が国における倫理的, 法的, 社会的基盤が十分に配慮され, 本見解がより正しく理解されることを目的として本解説を付した。

1. 本法以外の医療行為によっては, 妊娠成立の見込みがないと判断され, しかも本法によって挙児を希望するものを対象とする。

(解説) 女性側に明らかな不妊原因がないか, あるいは治療可能であり, 以下のような場合本法の適応となり得る。1) 無精子症 (Azoospermia) および無精液症 (Aspermia)。2) 精子死滅症 (Necrozoospermia), または極端な乏精子症 (Oligozoospermia) で, 種々の精子増強策や顕微授精等を行っても受精せず, 妊娠不可能と考えられる症例であるが, 原則として本法の施行は無精子症に限定されるべきである。これら適応となり得

る例の場合、例えば無精子症であればその夫婦の選択は、(1)子供を得ることを断念する、(2)何らかの方法で養子を得ることを考える、(3)本法により妊娠し、児を得る、の3つに大別されると思われる。どの選択をするかはあくまでその夫婦の判断であり、第三者(この場合診療を担当している医師も含め)が本法を薦めるようなことは絶対あってはならない。また、慎重な配慮なしに他の治療法で妊娠可能な症例に本法を行うことは、厳に慎まなければならない。

無精子症に対しては、精子細胞を用いた顕微授精の応用も考えられるが、その安全性および確実性の点からも現時点での臨床応用は時期尚早と考えられる。精子細胞を用いた顕微授精の場合、女性側に過排卵刺激や採卵などの医療操作を加えなければならないことも問題となる。

2. 被実施者は法的に婚姻している夫婦で、心身ともに妊娠・分娩・育児に耐え得る状態にあるものとする。

(解説) 本法の対象者は、現時点では法律上の夫婦とし、戸籍謄本を提出することが望ましい。本法の実施にあたっては、同意書および戸籍謄本を各施設で責任をもって一定期間保存する。

3. 実施者は医師で、被実施者である不妊夫婦双方に本法を十分に説明し、了解を得た上で同意書等を作製し、それを保管する。また本法の実施に際しては、被実施者夫婦およびその出生児のプライバシーを尊重する。

(解説) AIDの実施者は生殖医学に関する知識・技術を習得した医師とする。本法に関するすべての技術は、男性不妊症に対する治療行為と考えられるので、責任者はすべて医師でなければならない。AIDの登録に対しては、女性側の不妊検査にて明らかな原因がないことを確認の上、夫婦ともに来院し、書面による同意を行う。同意書の様式は、各施設で決定するが、その同意書に夫婦とも署名、拇印を押し、本法の登録を行う。また本法を施行するごとに、夫の書面による同意を得ることとする。夫婦それぞれの血液型を確認し、精子提供者(ドナー)の選択の際、生まれる子供の血液型を考慮する。

本法は、当事者のプライバシーに関わる部分も通常の医療以上に大きいため、医師をはじめとした医療関係者が、被実施夫婦および出生児のプライバシーを守ることは当然の義務である。

4. 精子提供者は健康で、感染症がなく自己の知る限り遺伝性疾患を認めず、精液所見が正常であることを条件とする。精子提供者は、本法の提供者になることに同意して登録をし、提供の期間を一定期間内とする。

(解説) 精子提供者は、感染症(肝炎、AIDSを含む性病等)、血液型、精液検査を予め行い、感染症のないこと、精液所見が正常であることを確認する。また、自分の2親等以内の家族、および自分自身に遺伝性疾患のないことを提供者の条件とする。その上で提供者になることに同意する旨の同意書に署名、拇印を押し、提供者の登録を行う。提供者の感染症検査は、少なくとも年1回施行する。提供者の同意書、および検

査結果は少なくとも提供期間中は保存しておく。同一の精子提供者からの出生児数を考慮し、精子提供の期間を2年以内とする。余剰精液を凍結する場合、その保存期間は2年以内とする。

5. 精子提供者のプライバシー保護のため精子提供者は匿名とするが、実施医師は精子提供者の記録を保存するものとする。

(解説) 精子提供者のプライバシー保護のため、提供者は匿名にされる。この匿名性が保障されなければ、提供者本人およびその家族に与える社会的影響も大である。また提供された側もその後の家族関係の安定のため、提供者が匿名であることを通常希望している。

実施医師は、提供者の精液のquality評価のため、提供者を同定できるようカルテに記載する。しかし、精子提供者の記録は、現時点では生殖医学の見地からの精液評価等のために保存されるべきものである。また、カルテの保存期間については本法の特殊性を考慮し、より長期の保存が望ましい。

6. 精子提供は営利目的で行われるべきものではなく、営利目的での精子提供の斡旋もしくは関与または類似行為をしてはならない。

(解説) 本法は、これ以外の医療行為によっては妊娠成立の見込みのない絶対的男性不妊に対して適応されるべきであり、その施行にあたっては医学的立場のみならず、倫理的、かつ社会的基盤が十分に配慮されるべきである。営利目的で本法の斡旋もしくは関与またはその類似行為を行うことは許されるべきではない。本法の商業主義的濫用は、生殖技術の適正利用が保障されなくなると同時に被実施夫婦や提供者のプライバシーや出生児の権利も保障されなくなる。

7. 非配偶者間人工授精を実施する施設は日本産科婦人科学会へ施設登録を行う。

(解説) 本学会員が本法を施行する際、所定の書式に従って本学会に登録、報告することとする。

日本不妊学会雑誌

第42巻 第4号

平成9年11月1日

—目 次—

原 著

- 卵細胞質内精子注入法 (ICSI) で妊娠した胎児の染色体異常について (英文)Alibrahim 他..... 1
- Maturation promoting factor (MPF) の顕微注入によるマウス未成熟卵子の
体外成熟に関する検討中野 6
- 卵管避妊手術後の再開通術の成績に影響を与える因子に関する検討 (英文)大谷 他13
- 妊娠初期の血清ICAM-1値の検討 (英文)奈須 他17
- 当科における男性不妊症患者の臨床的検討秋山 他21
- 卵管水腫貯留液の体外受精の治療成績に及ぼす影響藤井 他27
- 尿中高感度LH簡易半定量測定キット「シユアーステップ®LH」による
LHサージ検出の基礎的・臨床的研究小田 他32
- 卵細胞質内精子注入法による不妊治療症例の卵胞期初期FSH値に関する検討田谷 他39
- 精子各種運動能の指標と妊孕性との関連八ッ橋45
- 血中抗クラミジア抗体と骨盤内癒着および卵管障害の相関 (英文)正橋 他55
- 閉塞性無精子症に対する手術療法の成績岩崎 他60
- 機能性不妊カップルの予後に関する検討木村 他66
- 不妊症患者の運動精子における障害感受性の検討山中 他71
- GnRH agonist投与下でのLH subpopulationの検討柳澤77
- 偽妊娠家兔の黄体退行におよぼす内因性TNF- α の影響 (英文)遠藤 他84

臨床報告

妊娠中tergurideを内服した下垂体プロラクチン産生腫瘍例

- 正常の周産期経過で正常児を分娩—— (英文)坂井 他89
- 凍結精子を用いたAIHにより妊娠した特発性逆行性射精の1例石井 他94
- 下垂体腺腫を合併した男性不妊症患者におけるプロモクリプチン療法の成績 (英文)吉田 他98

地方部会講演抄録 102

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 42, No. 4, 1997)

Japan Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Originals

- Chromosomal Analysis of Fetuses Obtained by Intracytoplasmic Sperm Injection
..... *N. Alibrahim, M. Inoue, A. Hasegawa,
N. Koyama, M. Mitsuo, H. Shibahara,
M. Shigeta, K. Koyama, H. Shima
& H. Sawai* ... 1
- The Study of the In Vitro Maturation of Mouse Oocytes Induced
by the Microinjection of Maturation Promoting Factor (MPF) *H. Nakano* ... 6
- Reversal of Tubal Sterilization: Analysis of Factors Affecting Pregnancy Rate
..... *T. Otani, I. W. Johnston & T. Maruo* ... 13
- Serum Levels of Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) in Early Pregnancy
..... *K. Nasu, H. Narahara & I. Miyakawa* ... 17
- A Clinical Study of Male Infertility *H. Akiyama, T. Oeda, H. Okabe,
M. Akiyama, H. Ozawa, A. Nagai
& H. Ohmori* ... 21
- The Influence of the Persistent Existence of Hydrosalpinx Fluid
on In-vitro Fertilization Outcome *S. Fujii, A. Fukui, Y. Fukushi,
A. Kagiya, S. Sato & Y. Saito* ... 27
- Basic and Clinical Studies on the Detection of LH Surge Using the Highly Sensitive,
Simplified and Semiquantitative Urinary [Sure-Step® LH] Assay Kit
..... *T. Oda, S. Miura, Y. Komiya,
K. Kimura & T. Ohno* ... 32
- Significance of Early Follicular FSH Levels in Patients
Underwent Intracytoplasmic Sperm Injection *J. Taya, O. Ishihara, M. Saitoh,
K. Arai, H. Numari, K. Kinoshita
& Y. Uchijima* ... 39
- Relationship between Sperm Motion Characteristics and Fertility *R. Yatsuhashi* ... 45
- Significance of Serum Chlamydia Trachomatis Antibody Testing
in Evaluating the Tubal Damage and the Presence of Pelvic Adhesion
..... *T. Masahashi, T. Hojo, T. Okamoto,
M. Noguchi & M. Nakanishi* ... 55

Results of Surgical Treatment for Obstructive Azoospermia

..... *M. Iwasaki, S. Ohta, H. Fuse,*
T. Kazama, R. Takatsuka, Y. Michi-kura
& O. Kato ... 60

Prognosis of Unexplained Infertility: A Clinical Study in 36 Cases

..... *M. Kimura, N. Mikuma, N. Itoh,*
H. Tachiki, S. Takagi, T. Sasao
& T. Tsukamoto ... 66

Evaluation of Fragility of Motile Sperm from Infertile Patients

..... *M. Yamanaka, N. Tsuboniwa, M. Koga,*
K. Nishimura, A. Tsujimura, M. Kitamura,
S. Takahara, K. Matsumiya & A. Okuyama ... 71

Effects of GnRH Agonist on Luteinizing Hormone (LH) Subpopulations ... *T. Yanagisawa* ... 77

Effects of Endogenous TNF- α Induction on Luteolysis in Pseudopregnant Rabbits

..... *T. Endo, K. Nariai, K. Kanayama*
& A. Tsukise ... 84

Case report

Terguride Administration During Pregnancy in a Patient

with Pituitary Macroprolactinoma in Normal Perinatal Outcome

..... *K. Sakai, K. Yoshida, K. Yoshimura,*
M. Seki & M. Kashimura ... 89

Idiopathic Retrograde Ejaculation with pregnancy by AIH with Frozen Sperm:

Case Report

..... *T. Ishii, N. Uchino, Y. Shinohara,*
S. Kamikatahira & T. Hayashi ... 94

Bromocriptine Treatment Outcome for a Pituitary Adenoma Patient Suffering

from Male Infertility

..... *A. Yoshida, K. Miura, M. Shirai,*
M. Motoyama, Y. Araki & S. Araki ... 98

CHROMOSOMAL ANALYSIS OF FETUSES OBTAINED BY INTRACYTOPLASMIC SPERM INJECTION

Nazih ALIBRAHIM, Miyuki INOUE, Akiko HASEGAWA,
Nobuo KOYAMA, Mizumi MITSUO, Hiroaki SHIBAHARA,
Minoru SHIGETA and Koji KOYAMA

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

Hiroki SHIMA

Department of Urology
Hyogo College of Medicine, Hyogo 663, Japan

Hideaki SAWAI

Pharmaceutical Research and Development,
MediTech International Co., Ltd., Osaka 541, Japan

Abstract: Karyotyping of fetuses resulting from Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) was performed to study the relationship between ICSI and chromosomal abnormalities. A total of 19 pregnancies (1 triplet, 2 twins and 16 singletons) resulted from an ICSI program at Hyogo College of Medicine. Five patients aborted spontaneously, 1 patient had an ectopic pregnancy, 13 patients gave birth to 17 healthy children. Two abortuses were successfully karyotyped; one had a normal karyotype 46XX and the other had a karyotype of 47XY with trisomy of chromosome 10. Of the born children, 12 were karyotyped prenatally and had a normal karyotype. All 17 babies were examined at birth and none of them had apparent congenital abnormalities. To date we can not detect sex chromosomal abnormalities of fetuses of ICSI.

Key words: ICSI, IVF, Karyotype, Chromosomal abnormalities.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 227 - 231, 1997)

Introduction

Intracytoplasmic sperm injection (ICSI), first reported by Palermo et al.¹⁾ as a novel method to assist fertilization in subfertile patients with severe male factor, has been the most significant breakthrough in assisted reproduction technology (ART) in recent years.

Success rates of fertilization, cleavage and pregnancies with ICSI have been so good that many centers have abandoned other micromanipulation techniques such as subzonal insemination (SUZI) and partial zona dissection (PZD) in favor of ICSI²⁾.

Van Steirteghem et al.²⁾, in describing the outcome of 2853 cycles in 1953 couples who underwent ICSI treatment, reported fertilization rate of 70 % of the intact oocytes after injection. Two thirds of the 2PN oocytes developed into cleaved embryos, and positive hCG was observed in 34 % of the cycles.

Recently, the good results of ICSI were overshadowed by some reports of increased sex chromosome abnormalities of children of ICSI. In't Veld and Coworkers³⁾ reported sex chromosome abnormalities in 5 out of 15 (33 %) fetuses of ICSI. Liebaers et al⁴⁾ reported 6 cases of chromosome ab-

normalities in a series of 585 children of ICSI (1 %), with 5 of six being sex chromosome abnormalities.

The above mentioned reports have raised concern about the genetic consequences of ICSI and its effect on offspring. Although other studies have failed to find an increase in chromosome abnormalities or congenital malformation after ICSI^{5 ~ 8}), the debate whether ICSI is safe has yet to be determined^{9 ~ 13}).

In this study we try to shed some light on the subject of ICSI and chromosome abnormalities by analyzing the data from ICSI treatment at the Hyogo College of Medicine.

Material and Methods

Patients

Data was reviewed for patients who became pregnant by ICSI at Hyogo College of Medicine until July 1996. Pregnancy was considered positive only if it was proved clinically (i.e. by ultrasound after 3 or more weeks of embryo transfer). Chemical pregnancies are not considered in this study. Infertility patients who became pregnant by ICSI at Hyogo College of Medicine were offered karyotyping of fetuses to detect chromosome abnormalities. Karyotyping was performed on fetal cells obtained through amniocentesis; which was done between 14th and 16th weeks of gestation or on cells obtained from the abortus in cases of abortion.

Karyotyping could not be performed on all patients, however physical examination was performed on all babies born to check any apparent abnormalities.

Ovulation Stimulation Protocol

Patients of Hyogo College of Medicine underwent a long protocol for ovulation stimulation that consisted of GnRha (300 microgram 3 times a day nasal spray) [Suprecur. Hoechst] starting in the midluteal phase until the day of hCG injection. FSH (300 IU per day) was administered IM starting on the 3rd to 7th day of menses 3 days followed by hMG 150 IU a day for 3 ~ 7 days when hCG 5000 IU was administered IM. hCG was injected when 2 or more follicles reached the diameter of 17 mm or more.

Oocyte Pick Up (OPU)

OPU was performed after 36 ~ 38 hours of hCG

injection under the guidance of ultrasound. Oocytes were aspirated to a tube with HAM's F10 medium. Tubes of the aspirate were immediately searched for oocytes under dissecting microscope in a laminar flow desk, then oocytes were transferred to a dish of B2 medium (Laboratories CCD) and incubated under 5 % O₂, 5 % CO₂ and 90 % N₂ until the time of ICSI 3 ~ 4 hours later.

Sperm preparation

Semen was obtained by masturbation from the husband at the day of the OPU after abstinence of three or more days. Semen was washed 3 times by B2 medium for 5 minutes at 1800 rpm and the final pellet was incubated under 5 % O₂, 5 % CO₂ and 90 % N₂ for 3 ~ 4 hours until the time of ICSI. For microsurgical epididymal sperm aspiration (MESA) patients, the operation was performed under spinal anaesthesia on the day of OPU, semen was collected from the epididymis by a fine pipette into a tube of B2 medium and checked immediately for the presence of sperm.

Oocyte preparation

Just before performing ICSI, oocytes were denuded of cumulus cells first by exposure to hyaluronidase (40 IU/ml) for 30 ~ 60 seconds, then using pipettes 150 ~ 200 micrometer in diameter the cumulus cells were removed mechanically. Next, oocytes were checked for the presence of the first polar body and only those oocytes with a polar body were used for ICSI.

ICSI procedure

ICSI was performed on the cover of a Falcon dish (# 3001). Two drops, each 3 mm in diameter, were placed on the cover under paraffin oil. The first drop contained 10 % PVP (Polyvinylpyrrolidone, Irvine Scientific # 99219) in Sperm Washing Medium (Irvine Scientific # 9983) for the sperm and the second drop was Sperm Washing Medium for the oocytes. A drop of sperm was transferred to the PVP drop and an oocyte to the other drop. Next, a spermatozoon with normal morphology swimming near the bottom of the dish was immobilized by cutting the tail by the ICSI pipette and aspirated into the pipette. The oocyte was held by a slight negative pressure on the holding pipette with the polar body at a 90° angle to the pipette. The spermatozoon was

then inserted deeply into the cytoplasm of the oocyte.

Injected oocytes were transferred to a dish of B2 medium and incubated under 5 % O₂, 5 % CO₂ and 90 % N₂ for 16 ~ 18 hours to check for the presence of two pronuclei. Fertilized oocytes were kept in a dish of B2 medium under mineral oil in the incubator for another 24 hours, at which time embryo transfer was performed for oocytes which had cleaved normally. A maximum of 3 embryos were transferred to the patient.

Luteal phase support

Luteal phase support comprised of hCG (3000 IU) on the day of embryo transfer (ET) and on the days 4 and 7 following OPU and then progesterone depot 125 mg/IM on day 11 after OPU. On day 14 after OPU, urinary hCG was measured by a pregnancy kit (testpack, Dynabott). If the pregnancy test was positive, progesterone depot 125 mg was administered weekly until 8 weeks of gestation.

Karyotyping

Karyotyping was performed on embryonic cells obtained by amniocentesis in all except two cases where karyotyping was performed on chorionic villus cells obtained from the abortus. Amniocentesis was performed between 14 ~ 16 weeks of gestation. Karyotyping of embryonic cells was performed by a method reported previously¹⁴⁾, briefly, amniotic fluid was aspirated by PTC needle (21 G). Chorionic villus cells taken from the abortus, or cells from

the amniotic fluid were cultured in several dishes in Chang medium with 10 % fetal calf serum for 10 ~ 14 days. Ten to 12 cells from each cultured dish were analyzed by Gimsa staining, Q banding and G banding.

Results

Until July 1996, 19 patients became pregnant by ICSI (16 singletons, 2 twins, 1 triplet). The patients aged between 30 ~ 39 years old, with a mean age of 34.6 years. The indication for ICSI was male factor in all cases with two cases of MESA-ICSI. Only pregnancies which were evidenced by ultrasound are included in this study. Five patients aborted, one patient had ectopic pregnancy, 13 patients (1 triplet, 2 twins and 10 singletons) have given birth to 17 babies.

From the 5 abortuses, 2 were successfully karyotyped, one had a normal karyotype 46XX and the other had a karyotype of 47XY with trisomy in chromosome 10. The ectopic pregnancy was not karyotyped. Of the 13 patients who had already delivered 17 babies (1 triplet, 2 twins and 10 singletons), karyotyping was performed on 12 of the fetuses before birth and all had a normal karyotype. All 17 babies were examined at birth and none of them had apparent congenital abnormalities. Results are summarized in table 1.

Table 1

Type of pregnancy (number)	No. of fetuses	Karyotyped number	Karyotype of fetuses	Results of babies
abortion (5)	5	2	46XX 47XY(trisomy of chromosome 10)	
ectopic pregnancies (1)	1	0		
delivered (13)	17	12	46XX 46XX 46XX 46XX 46XX 46XX 46XY 46XX 46XX 46XX 46XY 46XX 46XY	Normal female Normal female Normal female Normal female Normal female Normal female Normal male Normal female Normal female Normal female Normal male Normal female Normal male

Discussion

There are ICSI dependent problems which could give rise to chromosomal abnormalities. Edwards et al.¹⁵⁾ propose that calcium could have some role in ICSI related abnormalities since PVP medium, which is usually used for sperm in ICSI, has a calcium concentration of 5 mM whereas normal incubation medium for gametes (Earle's medium or similar preparations) have a calcium concentration of 1.7 mM. During ICSI procedure, exogenous, heterologous DNA can be carried into the oocyte, and also other foreign materials in the sperm suspension. Parthenogenesis as a result of ICSI is also suspected since unfertilized activated human oocyte can develop to the morula stage¹⁶⁾. Others¹⁷⁾ suggested that the reason for the possibility of the seemingly high frequency of sex chromosome abnormalities in ICSI is that some ICSI male patients could in fact be having Klinefelter's syndrome or 46XX/47XXY mosaicism, since not all men with Klinefelter's syndrome will be azoospermic¹⁸⁾. From this point of view, it is quite important for each ICSI program to report their results of ICSI and chromosome abnormalities by analyzing the data from ICSI treatment.

Recently, Engel et al.¹⁹⁾ argue that ICSI poses no risk to increase genetic abnormalities in the offspring, because the abnormal embryos will be aborted. Results from IVF born children show that there was no difference in chromosomal or congenital abnormalities from general population. So the reduction is more likely to be due to prenatal selection against embryos.

This is in agreement with the opinion that selection against abnormality is strong and is post conceptional. In't Veld and Coworkers³⁾ reported sex chromosome abnormalities in 5 out of 15 (33 %) fetuses of ICSI. Liebaers et al⁴⁾. reported 6 cases of chromosome abnormalities in a series of 585 children of ICSI (1 %), with 5 of six being sex chromosome abnormalities. While concerns of the relationship between ICSI and genetic abnormalities have been considerable, other studies have failed to find an increase in chromosome abnormalities or congenital malformation after ICSI^{5 ~ 8)}. Bonduelle et al.⁷⁾ found no increase of chromosome abnor-

malities in a follow up of 423 children born after ICSI. Furthermore, in the same study⁷⁾ the major malformation rate was 3.3 %, which is similar to that of most of the national registers.

Although our study has a limited number of patients, only one embryo had a chromosomal abnormality, and this embryo aborted spontaneously. Karyotyping was performed on 12 of the fetuses before birth and all had a normal karyotype. All 17 babies were examined at birth and none of them had apparent congenital abnormalities. To date we have not detected any fetuses of ICSI with sex chromosomal abnormalities. Furthermore, these results give some more assurance that ICSI could be a safe procedure and has probably very small risk on the offspring.

Concluding remarks

ICSI is still in early stages. To be sure about the safety of offspring resulting from this procedure, we need to see reproductive outcome of children born after ICSI. However, since ICSI has revolutionized infertility treatment, more research and studies will reveal more understanding and appreciation of ICSI and its safety and potential risks.

Acknowledgement

The authors thank Dr. Scott A. Coonrod for his review on the manuscript.

References

- 1) Palermo G, Joris H, Devroey P, et al. (1992) Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte, *Lancet* 340: 17-18
- 2) Van Steirteghem A, Tournaye H, Van der Elst J, et al. (1995) Intracytoplasmic sperm injection three years after the birth of the first ICSI child. *Human Reproduction* 10: 2527-2528
- 3) In't Veld P, Brandenburg H, Verhoeff, et al. (1995) Sex chromosomal abnormalities and intracytoplasmic sperm injection. *Lancet* 346: 773
- 4) Liebaers I, Bonduelle M, Assche EV, et al. (1995) Sex chromosomal abnormalities after intracytoplasmic sperm injection. *Lancet* 346: 1095
- 5) Bonduelle M, Desmyttere S, Buysse A, et al. (1994) Prospective follow up study of 55 children born after subzonal insemination and intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction* 9:

- 1765-1769
- 6) Bonduelle M, Legein J, Derde MP, et al. (1995) Comparative follow up study of 130 children born after intracytoplasmic sperm injection and 130 children born IVF. *Human Reproduction* 10: 3327-3331
 - 7) Bonduelle M, Legein J, Buysse A, et al. (1996) Prospective follow up study of 423 children born after intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction* 11: 1558-1564
 - 8) Feichtinger W, Obruca A and Brunner M (1995) Sex chromosomal abnormalities and intracytoplasmic sperm injection. *Lancet* 346: 1566
 - 9) Christopher J, Jong D and Pierce J (1995) ICSI-what kind of reproduction is being assisted? *Human Reproduction* 10: 2518-2520
 - 10) Pasquale P (1995). ICSI: potential genetic concerns. *Human Reproduction* 10: 2520-2523
 - 11) Yanagimachi R (1995) Is animal model needed for ICSI and other assisted reproductive technologies. *Human Reproduction* 10: 2525-2526
 - 12) Renee HM (1996) The risk of chromosomal abnormalities following ICSI. *Human Reproduction* 11: 924-925
 - 13) Chandley AC and Hargreave TB (1996) Genetic anomaly and ICSI. *Human Reproduction* 11: 930-931
 - 14) Tsumoto M, Mitsuo M, Sawai H, et al. (1995) Clinical significance of mid-trimester amniocentesis in women 35 years of age or older. *Adv Obstet Gynecol* 47: 83-87
 - 15) Edwards RG and Van Steirteghem AC (1993) ICSI and human fertilization: does calcium hold the key to success?. *Human Reproduction* 8: 988-989
 - 16) Winston N, Johnson M, Pickering S, et al. (1991) Parthenogenetic activation and development of fresh and aged human oocytes. *Fertility and sterility* 65: 904-912
 - 17) Persson JW, Peters GB and Saunders DM (1996) Is ICSI associated with risks of genetic disease? implication for counselling practice and research. *Human Reproduction* 11: 921-924
 - 18) Gordon DL, Krmpotic E, Thomas W, et al. (1972) Pathologic testicular findings in Klinefelter's syndrome. *Arch Int Med* 130: 726-729
 - 19) Engel W, Murphy D and Schmid M (1996), Are there genetic risks associated with microassisted reproduction?. *Human Reproduction* 11: 2359-2370

(受付：1996年11月27日)

(受理：1997年3月27日)

卵細胞質内精子注入法 (ICSI) で妊娠した胎児の染色体異常について

兵庫医科大学産婦人科教室

Nazih Alibrahim, 井上みゆき, 長谷川昭子, 小山伸夫
満尾 瑞, 柴原浩章, 繁田 実, 香山浩二

兵庫医科大学泌尿器科教室

島 博基

メディテックインターナショナル (株)

医薬品研究開発部門

澤井英明

卵細胞質内精子注入法 (ICSI) で臨床的に妊娠を確認した胎児の染色体検査を実施しICSIと胎児染色体異常について分析した。

1996年7月までに兵庫医大産婦人科においてICSI治療で妊娠成立したのは、19例(単胎16, 双胎2, 品胎1)であった。妊娠の転帰は、流産5例, 子宮外妊娠1例, 出産13例(新生児17例)であった。すべての出生児において明らかな先天奇形は認めず, 出生した17例中12例において, 羊水検査による染色体検査を実施できたが, 結果はすべて正常核型であった。流産例のうちで胎児の染色体検査を実施できたのは2例であったが, 1例は46XXの正常核型, 他の1例は, 47XY (10番染色体のトリソミー)であった。

現在までのところ, 我々の治療成績からはICSI治療と性染色体異常の関連性は認めなかった。

キーワード: 卵細胞質内精子注入法 (ICSI), IVF, 染色体分析, 染色体異常

Maturation promoting factor (MPF) の顕微注入による マウス未成熟卵子の体外成熟に関する検討

The Study of the In Vitro Maturation of Mouse Oocytes Induced by the Microinjection of Maturation Promoting Factor (MPF)

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室(主任:平川 舜教授)

中野 英之

Hideyuki NAKANO

1st Department of Obstetrics and Gynecology

Toho University School of Medicine, Tokyo 142, Japan

(Director: Prof. Shun Hirakawa)

卵母細胞は第1減数分裂(M I)前期(G_2/M 期境界)で休止状態にある。この状態からM期への移行は、卵成熟誘起因子(maturation inducing substance, MIS)で活性化される卵成熟促進因子(maturation promoting factor, MPF)によって制御されている。

今回アフリカツメガエル卵より抽出した、MPFをマウス卵核胞(germinal vesicle, GV)期卵に顕微注入して、体外成熟を誘起することが可能かどうかを検討した。ツメガエル卵より硫酸分画を用いMPFを抽出して、その活性をツメガエル精子核を用いた無細胞系で測定し、32倍希釈まで活性を確認した。Dibutyryl cyclic adenosine-3' 5'-monophosphate (dbcAMP) 添加HTF培養液中でMPFをマウスGV期卵に顕微注入して培養継続した群と、対照としてdbcAMP添加HTF液を顕微注入した群に分け、各群の卵核胞崩壊(germinal vesicle breakdown, GVBD)率、第1極体形成率を比較検討した。MPF群のGVBD率は注入後24時間で90.5%であり、対照群の2.2%に比し、有意にGVBDが発生した($p < 0.0001$)。MPF群の第1極体形成率は注入後24時間で84.1%であり、対照群は1.1%であった($p < 0.0001$)。

この結果、マウスGV期卵子に対して、成熟ツメガエル卵より抽出したMPFを顕微注入することによって、未成熟卵子を活性化し体外成熟卵子を得ることが認められた。

このことから体外自然成熟困難なヒト未成熟卵子でも、MPFの顕微注入により受精可能な体外成熟卵子として、assisted reproductive technology (ART)への応用の可能性があることが示唆された。

キーワード: MPF, ART, 未成熟卵子, 体外成熟, 顕微注入

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 232 - 238, 1997)

緒言

脊椎動物卵子の減数分裂は、M Iの複糸期で休止状態となり、性成熟期に到達して活性化され減数分裂を再開する。しかし排卵前後の第2減数分裂(M II)中期に至り、受精までの間、ふたたび休止状態になる。なぜ、このように成熟過程で休止、活性化、休止、再活性化を繰り返すのであろうか。正常受精が起きるためには卵子の成熟が不可欠である。また成熟分裂の完了には核の成熟のみならず、卵細胞質内

に存在する細胞内小器官や各種の蛋白が合成されることが重要である。近年、これらの卵子成熟過程に関与する細胞周期調節因子として卵成熟促進因子(MPF)が注目されている。MPFは1971年にMasui and Markertにより発見され、その後の研究により、すべての真核細胞のM期促進因子であり、細胞周期の上では G_2/M 期境界で休止した状態にある卵母細胞のM期移行に関与すると考えられてきている。

哺乳類卵子のMPFの存在は、ウサギ、マウス、ブタの成熟卵細胞質から、同種の未熟卵細胞質への顕

微注入や³⁻⁷⁾、マウス成熟卵細胞質からヒトデ、カエル、ブタ未成熟卵細胞質への異種間の顕微注入により、その活性が証明されてきた⁸⁻¹⁰⁾。また、1988年にLohka et al. によってMPFの精製法が初めて確立された¹¹⁾。

今回我々は、成熟ツメガエル卵よりMPFを含む卵抽出液を調整し、これに硫酸分画を行って得られた、MPF画分をGV期にあるマウス卵子に顕微注入して、GVBD、第1極体形成を観察し、体外自然成熟卵子、dbcAMP添加培養および顕微注入による体外成熟抑制卵子と比較した。本研究の目的は、種非特異性に基づくMPFの顕微注入法により、ヒトを含めた哺乳類未成熟卵子の体外成熟法の確立、および体外成熟卵のARTへの応用の可能性を検討することにある。

実験方法

1 MPFの抽出法¹¹⁻¹²⁾

約2~3年齢、雌アフリカツメガエルにPMSG(セロトロピン®, 帝国臓器)100 IU, hCG(ゴナトロピン®, 帝国臓器)750 IUを96時間間隔で投与し、過排卵誘起を行い、0.1 M NaCl溶液中で排卵させた。2%システイン溶液でゼリーを除去し、Tris溶液(50 mM Tris (pH 7.0), 0.1 M NaCl)で洗浄した。Buffer A (15 mM MgCl₂, 20 mM HEPES, 80 mM β -グリセロリン酸, 20 mM EGTA, 50 mM NaF, 1 mM dithiothreitol (DTT), 20 mM α -ナフチルリン酸, 0.3 μ l/ml ロイペプチン, 0.3 mM phenylmethane sulfonyl fluoride (PMSF), 1 mM ATP- γ s)で洗浄し、15,000 g, 15分間、遠心し卵を破碎した。その上清を100,000 g, 4時間遠心し、さらにその上清に3.8 M 硫酸アンモニウムを添加し30分間の静置後、15,000 g, 20分間遠心した。

上清を除去後、沈殿を透析バッグ(SPECTRA POR 2: SPECTRUM MEDICAL INDUSTRIES INC.)に入れ、Buffer B (100 mM β -グリセロリン酸, 15 mM MgCl₂, 5 mM EGTA, 20 mM HEPES, 1 mM DTT, 300 μ M PMSF)中で12時間透析した。透析後、内容物をドライアイスエタノールにて急速凍結し、-80℃で保存した。

2 無細胞系によるMPF活性の検定¹¹⁻¹²⁾

1) ツメガエル精子核の作成

2~3年齢、雄ツメガエルから両側精巣を採取し細切した。70% Percoll液にて5,000g, 10分間遠心し、Sucrose buffer (SB; 0.2 M sucrose, 2.5 mM MgCl₂, 10 mM HEPES)を添加し5,000 g, 15分間遠心、洗浄した。

沈殿した精子ペレットに、リゾレシチン溶液(0.5 mg/ml リゾレシチン, 10 μ l/ml ロイペプチン)を添加

し、静置した。3%ウシ血清アルブミン(BSA, Sigma)を添加したSBを加え、5,000 g, 15分間遠心し精子核を作製した。さらに沈殿精子核に0.4% BSAを添加したSBを加え5,000 g, 15分間遠心、洗浄した。洗浄後、精子核に33%グリセロールを添加しドライアイスエタノールにて急速凍結し、-80℃で保存した。

2) カエル賦活卵抽出液作成

2~3年齢の雌ツメガエルにPMSG 100 IU, hCG 750 IUを96時間間隔で投与し、過排卵誘起を行い、0.1 M NaCl溶液中で排卵させた。2%システイン溶液でゼリーを除去して卵子のみとし、Tris溶液で洗浄した。卵をBuffer C (0.1 M KCl, 5 mM MgCl₂, 20 mM HEPES, 2 mM β -メルカプトエタノール, 0.3 μ l/ml ロイペプチン, 0.3 mM PMSF)中で15,000 g, 15分間遠心し、破碎した。上清に5 μ l/ml サイトカラシンBを添加し15,000 g, 15分間遠心した。上清に精子核を1 \times 10⁶/ml添加し、19℃, 1時間培養し、検定液とした。検定液1 mlに対し0.3 M sucrose, 100 mM ATP, 300 mM クレアチンリン酸, 100 mg/ml CPKの混合液を1.2 ml添加し、凍結した。

3) MPF活性の検定

検定は倍数希釈により施行した。希釈液として、100 mM β -グリセロリン酸, 15 mM MgCl₂, 5 mM EGTA, 20 mM HEPES, 1 mM DTT, 300 μ M PMSFを使用した。抽出したMPF溶液を被検液として、希釈液を添加し合計を12 μ lにした。対照は希釈液のみとした。先の検定液を被検MPF希釈倍数系列にそれぞれ6 μ l添加し、19℃, 2時間インキュベートした。検体に、同量の4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)を加えて、スライドガラス上でDAPI染色し、蛍光顕微鏡にて検鏡した。精子核が染色体凝縮、核膜消失を呈した場合、活性あり、それ以外の場合、活性なしと判定した。同一の検体に対し、4回検定を行い、最も活性の低い結果を得たものを、本検体の活性値とした。

3 マウス卵胞卵の採取

4~6週齢、Crj:CD-1 (ICR)雌マウスを人工昼夜(08:00~20:00点灯)下で飼育し、8~10週齢にて使用した。

使用した培養液は、HTF培養液(HTF, IRVINE SCIENTIFIC, USA), 150 μ g/ml dbcAMPを添加したHTF培養液(cAMP-HTF), 21.0 mM HEPESの入った修正HTF培養液(mHTF, IRVINE SCIENTIFIC, USA), 150 μ g/ml dbcAMPを添加したmHTF培養液(cAMP-mHTF)であった。培養液はすべて3 mg/ml BSAを添加し、使用した。培養は炭酸ガス培養器で、5% CO₂, 95%

air, 100%湿度の条件下で行った。

雌マウスにPMSG 5 IUを腹腔内投与し, 42~48時間後, 卵巣を摘出した。実体顕微鏡下で27G注射針により卵胞をcAMP-HTF中で穿刺し, 卵丘細胞に含まれた卵胞卵を採取した。ピペettingにより卵丘細胞を除去し, 数回洗浄後, 培養皿(FALCON #3037)中のcAMP-HTFに移した。卵細胞の輪郭が明瞭で, 卵細胞質の中央部にGVを有し, 細胞質の色調, 分布状態が均一な形態学的に正常な卵を, 1回につき20個使用し, 同一実験を5回繰り返して, 合計100個の卵を実験に供した。すでにGVBDを起こしている卵や卵細胞の輪郭が不明瞭で変形しているもの, または細胞質の分布が不均一な変性卵は実験から除外した。

4 マウス未成熟卵子の経時的観察 (HTF群, cAMP群)

HTF群では, cAMP-HTF中で得られたマウスGV期卵子(GV卵)を, ミネラルオイル下のcAMP-mHTF中に25分間, 大気相中で17~18℃で放置, その後10分間室温下で放置した。その後, ただちにHTF中に移し, 培養器(37℃, 5% CO₂, 95% air)にて24時間培養を継続した。培養開始後6時間までは30分間隔で, それ以降は培養開始後12, 18, 24時間で, GVBD, 第1極体の出現を観察し, 同時に変性卵の有無を検討した。

cAMP群では, cAMP-HTF中で得られたマウスGV卵をミネラルオイル下のcAMP-mHTF中に25分間大気相中で17~18℃で放置, 続いて10分間室温下で放置した。その後, ただちにcAMP-HTF中に移し, 培養器(37℃, 5% CO₂, 95% air)にて24時間培養継続した。培養開始後6時間までは30分間隔で, それ以

降は培養開始後12, 18, 24時間で, GVBD, 第1極体出現の有無を観察した。

5 顕微注入法¹³⁾

倒立顕微鏡(Nicon, TMD 300-2)下で, マイクロマニピュレーター(ジョイスティック油圧マイクロマニピュレーター, 成茂NT88)の先端に, 卵保持用(内径15μm, 外径75μm, HP)および注入用微小ガラスピペット(内径2~3μm, 外径5μm, IP)をそれぞれ取り付け, HPで卵を保持し, IPにより顕微注入操作を行った。卵の9時方向に設置したHPで卵を保持し, 3時方向より中心部に向けて, GVを傷つけないようにIPを挿入した。注入量は10~20 plであった。これらの操作は, ミネラルオイル下のcAMP-mHTF中で, 17~18℃で行った。顕微注入後, 卵を20分間, 大気相中で17~18℃で放置, その後10分間室温下で放置した。

その後, 顕微注入卵は, 培養器(37℃, 5% CO₂, 95% air)にて, cAMP-HTF中で24時間培養を継続し, HTF群と同様に観察した。

各群の有意差はStudent-t検定で検討した。

実験成績

1) MPF活性の測定結果

本実験で得られたMPFの活性を, Lohka et al.の方法¹¹⁾により検定した結果, 抽出したMPFは32倍希釈まで活性があることがわかった。また, 対照とした希釈液にはMPF活性を認めなかった。

2) マウスGV期卵の自然体外成熟率 (HTF群)

正常回収卵中のGVBD発生率は, 採卵後1時間で48.0%, 4時間で77.8%, 12時間で90.9%, 24時間で

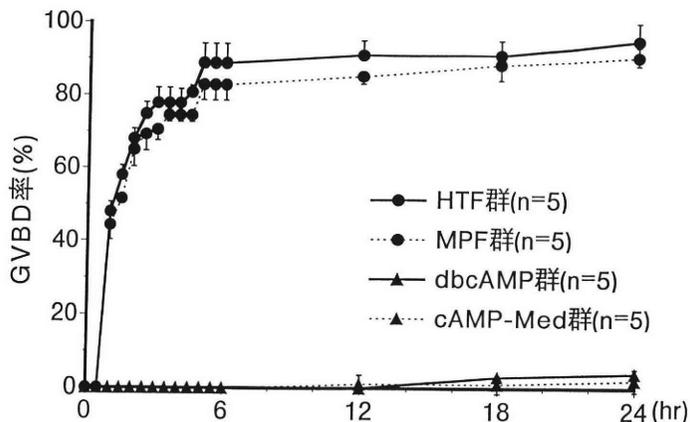


図1 マウスGV期卵のGVBD率の比較

各群とも, 正常な卵を1回につき20個使用し, 同一実験を5回繰り返して合計100個の卵を実験に供した

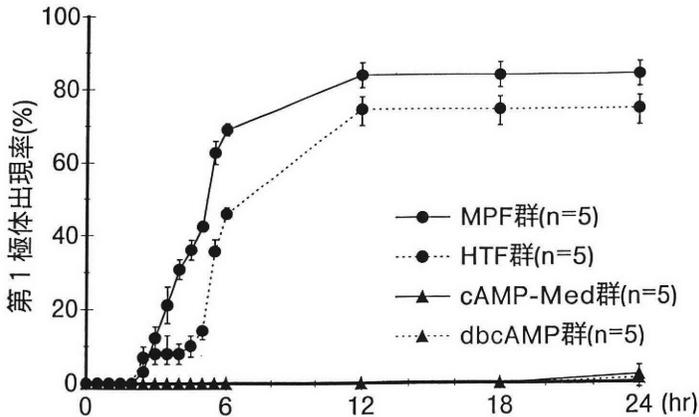


図2 マウスGV期卵の第1極体出現率

各群とも、正常な卵を1回につき20個使用し、同一実験を5回繰り返して合計100個の卵を実験に供した

95.0%であった(図1)。また第1極体出現率は、採卵後1時間で0%、4時間で30.9%、12~24時間で84.1%であった。さらに観察時間内での変性率は2.0%であった(図2)。

3) マウスGV卵のcAMPによる体外成熟抑制(cAMP群)

cAMP群でのGVBD発生率は、採卵後12時間までは0%、24時間で3.1%であった(図1)。同時間でのGVBD発生率をHTF群と比較すると、有意にHTF群が高かった($p < 0.0001$)。第1極体出現率は、採卵後18時間までは0%、24時間で1.1%であり(図2)、同時間での第1極体出現率をHTF群と比較すると、有意にHTF群が高かった($p < 0.0001$)。変性率は24時間で3.0%であった。同時間での変性卵出現率を、HTF群と比較すると、有意差はなかった。

4) マウスGV卵へのcAMPの顕微注入による影響(cAMP-Med群)

マウスGV卵へのcAMP-MedおよびMPFの顕微注入を写真に示す。Aは本実験に供したマウスGV卵、Bは顕微注入中、Cは顕微注入後の写真であり、C中の矢印は刺入点を示している(写真)。

顕微注入後の生存卵中のGVBD発生率は、注入後6時間までは0%、12時間で1.1%、24時間で2.2%であった(図1)。また顕微注入後の生存卵中の第1極体出現率は、注入後18時間までは0%、24時間で1.1%であった(図2)。変性率は、顕微注入後24時間で6.1%であった。

5) マウスGV卵へのMPFの顕微注入による体外成熟(MPF群)

予備実験として、30個のマウスGV卵へBuffer Aを

顕微注入した。注入後24時間でのGVBD発生率は2.8%、第1極体出現率は0%であった。

MPF顕微注入後の生存卵中のGVBD発生率は、注入後1時間で44.4%、4時間で74.5%、12時間で85.1%

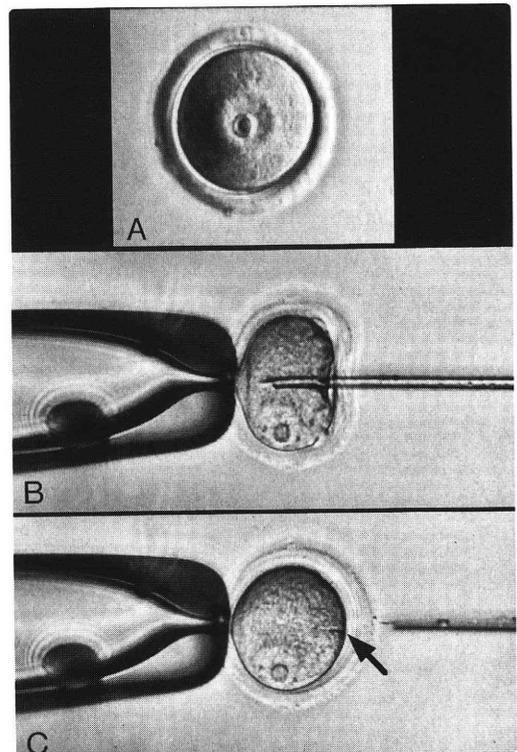


写真 マウスGV期卵の顕微注入

A: マウスGV期卵($\times 200$) B: 顕微注入中

C: 顕微注入後、矢印は刺入点

%, 24時間で90.5%であった(図1). 同時間でのGVBD発生率をcAMP-Med群と比較すると, 有意にMPF群が高かった($p < 0.0001$). 生存卵中の第1極体出現率は, 顕微注入後1時間で0%, 4時間で30.9%, 12~24時間で84.1%であった(図2). 同時間での第1極体出現率をcAMP-Med群と比較すると, 有意にMPF群が高かった($p < 0.0001$). 変性率は, 顕微注入後24時間で6.0%であり, cAMP-Med群と比較しても有意差はなかった.

また, 同時刻でのGVBD率, 第1極体出現率, 変性率をHTF群, MPF群の間で比較すると, GVBD率, 変性率は両群間に有意差はなかった(図1). 第1極体出現率は, 採卵後1時間では有意差がなかったが, 4時間以降では有意にMPF群が高かった($p < 0.005$)(図2).

考 察

卵母細胞が成熟して, 受精可能な状態になる過程で, 卵母細胞は種特異的なシグナルに反応して休止期を脱し, 第一減数分裂を再開する. そのシグナル物質を成熟誘起物質 maturation inducing substance (MIS) と呼んでいる. MISとして特定されているものには, ヒトでは1-メチルアデニン, カエルではプロゲステロンがあるが, 哺乳動物では不明な点が多い. MISはゴナドトロピンなどの刺激を受けた卵胞細胞から生成され, 未成熟卵の表面に作用し, 卵内成熟促進因子であるMPFを介して成熟を誘起する. これによりGVBD, 染色体凝縮, 核膜消失が引き起こされ, M I中期を経て, 第1極体放出後, M IIに入る. 脊椎動物では卵成熟はM II中期で再び停止するが, この停止は受精により解除される. MISが作用する以前では, 顆粒膜細胞から産生される減数分裂再開抑制因子である oocyte maturation inhibitor (OMI) により, M Iの再開は抑制されていると考えられている. OMIは分子量2,000以下のポリペプチドで顆粒膜細胞で産生され, paracrine的に卵子-卵丘細胞複合体だけに作用する¹⁴⁾. したがって裸化卵子にはその抑制作用がみられないと報告されており, OMIは卵丘細胞と卵母細胞間の物質移動を介して作用を発現すると考えられている. したがって, MISによる減数分裂再開にあたっては, OMIの伝達阻止が起ることが示唆されている¹⁴⁾. またcAMPやcAMP分解酵素であるホスフォジエステラーゼの阻害剤による未成熟卵子の体外成熟抑制は以前から報告されており, Cho et al.は, 100 μ g/ml dbcAMPの存在下で, マウスの未成熟卵子の体外成熟抑制を報告している¹⁵⁾. 本研究において

もこのcAMPによる自然成熟抑制は確認されており, 採卵後24時間でGVBD発生率は3.1%であり, 第1極体出現率は1.1%であった. これに対し, Lindner et al.はマウスの卵胞を取り出しLHの存在下で培養すると卵母細胞中のcAMPの増加と卵成熟が起こること, および微量のdbcAMPを卵胞腔に注入すると培養液中にLHがなくても卵成熟が発生することを報告している¹⁶⁾.

一方Magunusson et al.は, ラット卵胞卵をdbcAMPの存在下で2時間培養し, その後, ゴナドトロピンをまったく含まない培養液中で培養すると, 93.7%の卵子が成熟したと報告し, 一時的な卵胞内のcAMPの上昇により卵子の成熟が誘起されるのに対し, 高濃度cAMPの持続的作用は卵子成熟を抑制すると考察している¹⁷⁾.

M I再開の信号が種によって異なっている, 卵子の細胞内では種非特異的な伝達機構, すなわち, MPFによりM Iの開始が調節されていると考えられている. 現在, MPFは酵母からヒトに至る多種の細胞において, 種非特異的に活性を持つことが知られ, あらゆる真核生物細胞において, M期開始を司る因子であると考えられている²⁾.

大多数の哺乳類の未成熟卵子は, 体外培養により減数分裂が再開し, 自然成熟が発生する. Cross et al.は, マウスにおいて, 排卵前の未成熟卵子の自然成熟には12~15時間かかり, 未成熟卵子の98%に自然成熟が発生したと報告した¹⁸⁾. また, マウス未成熟卵子の自然成熟において, GVBD率, 第1極体形成率をRandall et al.はそれぞれ83.2%, 25.3%, Candy et al.はそれぞれ88%, 74%と報告している^{19~20)}. 本研究において, GVBDは採卵後24時間で95.0%に発生し, 第1極体は74.6%に出現している.

哺乳類卵子のMPFの存在は, 異種間の顕微注入により証明されてきた^{8~10)}. しかしながら精製または部分精製されたMPFの顕微注入の報告は少ない. 本研究では, ツメガエル卵から抽出したMPFを, マウスGV卵に顕微注入すると, GVBDの発生が高率に観察された. これは, cAMPにより自然成熟を抑制した状態で施行したものであり, 顕微注入したMPFによる卵成熟機構が作動することで, 誘発されたものと考えられる. しかし, 内因性のMPFはdbcAMPにより活性化を抑制されているものの, 顕微注入された活性化型MPFにより, 外因性のMPF活性化だけではなく, 内因性MPFの二次的活性化が起り, これらによりGVBDが誘起されると同時に, MPFの増幅が起っている可能性もある. また, GV卵にdbcAMP添加HTF

培養液, Buffer Aを顕微注入しても, 自然成熟が誘発されなかったことより, 顕微注入という物理的操作や, Buffer Aに含まれるphosphatase inhibitorによるものではないことがわかった²¹⁾.

1978年に世界初の体外受精児が, 自然周期にて誕生して以来, controlled ovarian hyperstimulation (COH)の目的で各種排卵誘発剤, 排卵誘発法が開発されてきた。ARTにおけるCOHの目的は, より質の高い成熟卵子を多数回収することであるが, low responseの症例や, 卵巣子宮内膜症などにより, COHが困難なことがある。

また, ギナドトロピン刺激による排卵誘発時に, しばしば発症する副作用のひとつとして卵巣過剰刺激症候群(OHSS)があり, その予防法のためにさまざまな試みがされているが, 満足すべき結果は得られていない。とくに多嚢胞性卵巣(PCO)の患者では, 排卵誘発を施行したとき, 最初は反応が悪く, 治療を続けると重症OHSSが発生し, 排卵誘発が困難になることがある。さらに, 排卵誘発剤が, 卵巣癌の発生を増加させる可能性がある, という報告もある²²⁾。このようにCOHにおける多くの問題の解決法として, ヒト未成熟卵の採取および体外成熟が挙げられる。生殖年齢にある女性の卵巣皮質には, 生涯を通して排卵するよりも多くの卵母細胞が存在し, もしこれらの未熟卵子を体外成熟できれば, 副作用を軽減したARTのひとつとして利用しうる²³⁾。また卵子凍結保存の概念を, ヒト体外受精に導入する場合, 卵巣腫瘍などで切除された卵巣より, 卵母細胞を採取し, 受精可能な状態まで体外成熟させた方が実用的かつ効果的である。

Trounson et al.²⁴⁾は, 自然周期のPCO患者の卵巣から, 未成熟卵を採取し, ホルモン添加培養液中での長期培養によって, 体外成熟, 体外受精に成功している。ヒト体外受精における卵巣刺激周期の採卵時には, GV期卵が20~40%存在するとされており, これらの卵に対しては, 体外成熟培養後の媒精が試みられているが, 一般的には, まだ満足すべき結果は得られていない²⁵⁾。

しかしながら, 体外自然成熟困難なヒト未成熟卵でも, 種非特異的な性質を有する, MPFの顕微注入によって, 受精可能な体外成熟卵として, ARTへの応用の可能性があることが, 本研究により示唆された。

謝 辞

稿を終えるに臨み, ご校閲を賜った東邦大学第

1産科婦人科学教室, 平川 舜教授に深甚なる謝意を表するとともに, 直接ご指導, ご鞭撻を賜った東邦大学第1産科婦人科学教室, 久保春海教授, 同生化学教室, 山下 茂教授に深謝致します。また本研究の機会を与えて下さった, 東邦大学医学部生化学教室, 天野久夫教授に感謝致します。

なお本論文の要旨は第40回日本不妊学会総会, 第48回日本産科婦人科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Masui Y, Markert CL (1971) Cytoplasmic control of nuclear behavior during meiotic maturation of frog oocytes. *J Exp Zool* 177: 129-146
- 2) Kishimoto T (1988) Regulation of Metaphase by a Maturation-Promoting Factor. *Develop Growth Differ* 30: 105-115
- 3) Hashimoto N, Kishimoto T (1988) Regulation of mitotic metaphase by a cytoplasmic maturation-promoting factor during mouse oocyte maturation. *Develop Biol* 126: 242-252
- 4) Sorensen RA, Cyert MS, Pedersen RA (1985) Active maturation-promoting factor is present in mature mouse oocytes. *J Cell Biol* 100: 1637-1640
- 5) Miake-Lye R, Newport J, Kirschner M (1983) Maturation-promoting factor induces nuclear envelope breakdown in cycloheximide-arrested embryos of *Xenopus laevis*. *J Cell Biol* 97: 81-91
- 6) Balakier H, Czolowska R (1977) Cytoplasmic control of nuclear maturation in mouse oocytes. *Exp Cell Res* 110: 466-469
- 7) Fulka J Jr (1983) Nuclear maturation in pig and rabbit oocytes after interspecific fusion. *Exp Cell Res* 146: 212-218
- 8) Prochazka R, Motlic J, Fulka J (1989) Activity of maturation promoting factor in pig oocytes after microinjection and serial transfer of maturing cytoplasm. *Cell Differ Develop* 27: 175-182
- 9) Kishimoto T, Yamazaki K, Kato Y, et al. (1984) Induction of starfish oocyte maturation by maturation-promoting factor of mouse and surf clam oocytes. *J Exp Zool* 231: 293-295
- 10) Sunkara PS, Wright DA, Rao PN (1979) Mitotic factors from mammalian cells induce germinal vesicle breakdown and chromosome condensation in amphibian oocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 2799-2802
- 11) Lohka MJ, Hayes MK, Maller JL (1988) Purification of maturation-promoting factor, an intracellular regulator of early mitotic events. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 3009-3013

- 12) Yamashita S, Maller JL (1990) Identification of an activator required for elevation of maturation-promoting factor (MPF) activity by γ -s-ATP. *J Cell Biol* 110: 1583-1588
- 13) Kimura Y, Yanagimachi R (1995) Intracytoplasmic sperm injection in the mouse. *Biol Reprod* 52: 709-720
- 14) Van de Wiel DFM, Bar-Ami S, Tsafirri A, et al. (1983) Oocyte maturation inhibitor, inhibin and steroid concentrations in porcine follicular fluid at various stages of the estrous cycle. *J Reprod Fertil* 68: 247-252
- 15) Cho WK, Stern S, Biggers JD (1974) Inhibitory effect of dibutyryl cAMP on mouse oocyte maturation in vitro. *J Exp Zool* 187: 383-386
- 16) Lindner HR, Tsafirri A, Lieberman ME, et al. (1974) Gonadotropin action on cultured Graafian follicles: Induction of maturation division of the mammalian oocyte and differentiation of the luteal cell. *Recent Prog Horm Res* 30: 79-138
- 17) Magnusson C, Hillensjo T (1977) Inhibition of maturation and metabolism in rat oocytes by cyclic AMP. *J Exp Zool* 20: 139-147
- 18) Cross PC (1973) The role of cumulus cells and serum in mouse oocyte maturation in vitro. *J Reprod Fertil* 34: 241-245
- 19) Randall GW, Awadalla SG, Shivers CA (1990) Isolation, in vitro maturation, and fertilization of germinal vesicle oocytes obtained from the intact murine ovary. *J Vitro Fert Embryo Transfer* 7: 314-320
- 20) Candy CJ, Wood MJ, Whittingham DG, et al. (1994) Cryopreservation of immature mouse oocytes. *Hum Reprod* 9: 1743-1748
- 21) Gavin AC, Vassalli JD, Cavadore JC, et al. (1992) Okadaic acid and p13suc1 modulate the reinitiation of meiosis in mouse oocytes. *Molecular Reprod Develop* 33: 287-296
- 22) Whittemore AS, Harris R, Itnyre J (1992) Characteristics relating to ovarian cancer risk: Collaborative analysis of 12 US case-control studies. *Am J Epidemiol* 136: 1184-1203
- 23) Winston RML, Handyside AH (1993) New challenges in human in vitro fertilization. *Science* 260: 932-936
- 24) Trounson A, Wood C, Kausche A (1994) In vitro maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. *Fertil Steril* 62: 353-362
- 25) Testart J, Frydman R, De Mouzon J, et al. (1983) A study of factors affecting the success of human fertilization in vitro. I. Influence of ovarian stimulation upon the number and condition of oocytes collected. *Biol Reprod* 28: 415-424

(受付: 1997年3月21日)

(受理: 1997年5月12日)

The study of the In vitro maturation of mouse oocytes induced by the microinjection of maturation promoting factor (MPF)

Hideyuki Nakano

1st Department of Obstetrics and Gynecology
Toho University School of Medicine, Tokyo (Director: Prof. Shun Hirakawa)

In most animals, primary oocytes in the follicles are arrested at the prophase of the first meiotic division. MPF acts at the resumption of meiosis and non-specifically throughout the animal species. There exists a considerable literature on MPF, but little work has been done to study the induction of maturation of mammalian oocytes by microinjection of extracted MPF. The immature (GV stage) mouse oocytes were induced to undergo meiotic maturation in vitro in the presense of dbcAMP by microinjection of MPF extracted from matured *Xenopus* eggs. The activity of *Xenopus* MPF had been analyzed by the cell-free assay system following the extraction. The activity was detected to 32 times dilution. The rate of germinal vesicle breakdown (GVBD) induced at 24 hours after MPF injection was significantly higher (90.5 %) than control (2.2 %) which was injected the HTF medium containing dbcAMP ($p < 0.0001$). The rate of the extrusion of first polar body at 24 hours after MPF injection was significantly higher (84.1 %) than that of same control (1.1 %) ($p < 0.0001$).

From these results, it is concluded that the maturation of mammalian oocytes can be induced by the microinjection of MPF extracted from other species for the assisted reproductive technology.

Key words: MPF, ART, immature oocyte, in vitro maturation, microinjection

REVERSAL OF TUBAL STERILIZATION: ANALYSIS OF FACTORS AFFECTING PREGNANCY RATE

Tetsuo OTANI and Ian W. JOHNSTON

Reproductive Biology Unit
The Royal Women's Hospital, Melbourne, Australia

Takeshi MARUO

Department of Obstetrics and Gynecology
Kobe University School of Medicine, Kobe 650, Japan

Abstract: To study factors affecting tubal sterilization reversal outcome, we analyzed 70 patients who underwent tubal reanastomosis for post-operative fertility. Patients who had been sterilized either by laparoscopic clip or Falope ring had a better chance of intrauterine pregnancy and lesser chance of ectopic pregnancy than those who were sterilized by laparoscopic diathermy or laparotomy. In tubal sterilization reversal, itmic to itmic reanastomosis showed better chance of intrauterine pregnancy and less chance of ectopic pregnancy than anastomosis involving the ampulla. When the reconstituted tube was longer than 6cm, patients had better chance of pregnancy. Duration between sterilization and reversal operation had no effect on fertility. These results indicated that sterilization by laparoscopic clip or ring is preferable to that by laparoscopic diathermy or laparotomy in succeeding in pregnancy after reanastomosis.

Key words: tubal sterilization reversal, microsurgery

(*Jpn. J. Fertil. Steril.*, 42 (4), 239 - 242, 1997)

Introduction

With the advent of in vitro fertilization (IVF), the indication for reconstructive tubal surgery is becoming less obvious, but there is undoubtedly one area where microsurgery still is clearly superior to IVF; this is tubal sterilization reversal. Gomel¹⁾ published a detailed method of reanastomosis of the fallopian tube in 1980 in 118 cases and reported the overall intrauterine pregnancy rate of 64.4 %. Winston²⁾ also described a method in 1980 and reported an intrauterine pregnancy rate of 58 %.

Our study analyzed factors that affect surgical outcome such as sterilization method, location of tube anastomosed, and length of reconstituted tube.

Materials and Methods

Tubal anastomosis was performed on patients who presented to Reproductive Biology Unit, The Royal

Women's Hospital. Those who had been proven to have clips or Falope rings were operated on without laparoscopic assessment unless there was other indications for laparoscopy. Patients who underwent sterilization either by diathermy or laparotomy had preoperative laparoscopy and patients with very short (< 1 cm) ampullary segments, massive adhesions or other lesions which made them unsuitable for reversal were excluded from the operation. Patients who underwent surgery between January 1989 and May 1993 formed the study group.

The standard surgery involved freeing ligated tube ends with diathermy and cold dissection, opening the lumen, anastomosing the muscularis and mucosa of the tubes with four 8-0 nylon sutures placed at 90 degrees to each other, and proximating the serosa by a continuous 8-0 nylon suture. Irrigation with heparinized Hartman's solutions was used throughout the procedure, which was done under surgical microscopy.

Table 1 Relationship between the method of tubal sterilization and the outcome of re-anastomosis

Previous sterilization method	Total number of cases	intrauterine pregnancy	Ectopic pregnancy	Not pregnant
Clip/Falope ring	46	39 (85 %)	0	7
Diathermy/Laparotomy	23	14 (61 %)	4	7
Unknown	1	0	0	1

* Of the 4 ectopic pregnancies, 2 had intrauterine pregnancy also

** $p < 0.05$ *** $p < 0.01$

Table 2 Relationship between the site of re-anastomosis and pregnancy

Site of anastomosis	Total number of cases	intrauterine pregnancy	Ectopic pregnancy	Not pregnant
Isthmic-Isthmic anastomosis	47	39 (83 %)	0	8
Ampullary anastomosis	20	12 (60 %)	4	6
Others	3	2 (66 %)	0	1

* Of the 4 ectopic pregnancies, 2 had intrauterine pregnancy also

** $p < 0.05$ *** $p < 0.01$

Appropriate resection was performed when cornual or interstitial anastomosis was indicated.

Statistical analysis used the chi squares test.

Results

Of the 92 cases seen during the study, 70 (76 %) were traced for postoperative fertility. Of these, 53 (76 %) achieved at least one intrauterine pregnancy, 15 failed to achieve pregnancy, and 2 (3 %) achieved only ectopic pregnancies. The cumulative number of pregnancies was 66. Of these, a total of 4 (6 %) were ectopic. Two patients had both intrauterine and ectopic pregnancies. The spontaneous abortion rate among intrauterine pregnancies was 21 %.

Table 1 shows the pregnancy rate related to the sterilization method. For the pregnancy rate after reversal, those sterilized either by application of clips (Filsie³) or Hulka⁴) or Falope⁵) rings by laparoscopy fared very well, achieving a pregnancy rate of 85 %, all of which were intrauterine. Patients sterilized either by diathermy or laparotomy, however, had lesser chance of intrauterine pregnancy at 61 % ($p < 0.05$). As stated before, only those deemed suitable for surgery would have proceeded to anastomosis. More importantly, all four ectopic pregnancies occurred in this group of patients ($p < 0.01$ when compared with clip/ring group). Two of the patients had

another intrauterine pregnancy, but for the other two, pregnancy was ectopic only.

Table 2 shows the relation between site of anastomosis and pregnancy rate. Those who had isthmic-isthmic anastomosis on one or both sides had a intrauterine pregnancy rate of 83 %. Those who received only anastomosis involving the ampullary portion had a significantly lower intrauterine pregnancy rate of 60 % ($p < 0.05$). It should also be noted that all 4 ectopic pregnancies we experienced were among these patients ($p < 0.01$ compared to isthmic-isthmic anastomosis).

Table 3 shows pregnancy rates in relation to reconstituted tubal length. Those whose longest tube was longer than 6 cm had a better chance of pregnancy ($p < 0.05$).

As shown in Table 4, patients under 35 year had a higher chance of pregnancy than those over 35 ($p < 0.05$). No relationship between interval from sterilization to reversal and pregnancy rates was found.

Discussion

The pregnancy rate after reversal of sterilization was comparable to or better than those reported by others. Gomel¹⁾ and Winston²⁾ both claimed intrauterine pregnancy rates of around 60-70 %. Our results indicate slightly higher pregnancy rate of 76 %, which is very reassuring.

Table 3 Relationship between the length of the reconstructed tube and pregnancy

Longest length of tube	Total number of cases	intrauterine pregnancy	Ectopic only	Not pregnant
≥ 6 cm	52	43 (83 %)*	1	8
< 6 cm	12	6 (50 %)	1	5
Unknown	6	4 (67 %)	0	2

* p < 0.05

Table 4 Effect of the duration between sterilization and reversal (above) or age (below) on pregnancy

	Total number of cases	intrauterine pregnancy	Ectopic only	Not pregnant
Duration between sterilization and reversal ≥ 5 years	40	31 (77.5 %)	1	8
Duration between sterilization and reversal < 5 years	30	22 (73.3 %)	1	7
Age ≥ 35	32	20 (62.5 %)*	2	10
Age < 35	38	33 (86.8 %)	0	5

* p < 0.05

Among our cases, previous sterilization by laparoscopic application of clips or Falope rings fared best with regard to pregnancy rate and avoidance of ectopic pregnancy. Cases of sterilization by laparotomy or diathermy, which proceeded to surgery, however had a lower pregnancy rate and, more importantly, a very high ectopic pregnancy rate. As to the anastomosis site, isthmic-isthmic anastomosis had the highest chance of pregnancy without ectopic occurrence. Ampullary anastomosis was much less successful and resulted in all the ectopic pregnancies. These findings clearly indicate that sterilization by laparoscopic application of clips or Falope rings, which minimizes tubal damage, is most preferable in terms of successful pregnancy outcome.

Vasquez et al.⁶⁾ reported that the longer the duration between sterilization and reversal, the lower the chance of pregnancy. They also have reported microscopic mucosal cell damage in the adjacent tube, using a scanning electron microscope, in women who had been sterilized longer than 5 years. The results of our study showed that in terms of intrauterine pregnancy rate, this interval was not a significant factor (Table 4). Unlike male sterilization, where spermatogenesis will be affected after as little as one year after ligation, ovulation can proceed without

tubes and residual tubal luminal cells are unlikely to be adversely affected by blockage in the tube. However, we did find that, in women over 35, the pregnancy rate was lower than in those under 35, which is in keeping with fertility rates in the normal population. This may help explain Vasquez et al.'s finding as patients who had a long interval would tend to be older than their counterparts.

References

- 1) Gomel V (1980) Microsurgical reversal of female sterilization: A reappraisal. *Fertil Steril* 33: 587-597
- 2) Winston RML (1980) Reversal of sterilization. *Clin Obstet Gynecol* 23: 1261-1268
- 3) Filshie GM, Casey D, Pogmore JR, et al. (1981) The titanium/silicone rubber clip for female sterilization. *Br J Obstet Gynaecol* 88: 655-662
- 4) Hulka JF, Fishburne JI, Mercer JP, et al. (1973) Laparoscopic sterilization with a spring clip: a report of the first fifty cases. *Am J Obstet Gynecol* 116: 715-718
- 5) Yoon-I, King TM (1975) The laparoscopic falope ring technique. *Adv Plann Parent* 10: 154-159
- 6) Vasquez G, Winston RML, Boeckx W, et al. (1980) Electron microscopic changes in sterilized tubes. *Am J Obstet Gynecol* 138: 86-92

(受付: 1997年3月1日)

(受理: 1997年5月19日)

卵管避妊手術後の再開通術の成績に影響を与える因子に関する検討

Reproductive Biology Unit
The Royal Women's Hospital, Melbourne, Australia
大谷徹郎, Ian W. Johnston

神戸大学医学部産科婦人科学教室
丸尾 猛

卵管避妊手術後に妊娠を希望したためマイクロサージェリーによる再開通術を施行し、術後の妊娠について追跡することのできた70例を対象として、妊娠の成立に影響を与える因子について検討した。

その結果、最初の避妊手術が腹腔鏡下で卵管にクリップカリングをかけて閉塞させる方法によって行われた群では、電気メスや開腹術といった卵管の破壊の大きな方法によって避妊手術を施行された群に比して、有意に妊娠率が高かった。また、卵管峡部の再縫合が可能であった群では卵管膨大部での縫合を余儀なくされた群に比し有意に妊娠率が高く、子宮外妊娠が少なかった。再建された卵管の長さが6 cm以上の群では6 cm未満の群より有意に妊娠率が高かった。また、年齢が35歳未満の群ではそれ以上の群に比し有意に妊娠率が高かった。避妊手術を受けてから再開通術を受けるまでの期間は妊娠率に影響を与えなかった。

以上の結果から、卵管避妊手術後の再開通術の成功に影響を与える最も大きな因子は、最初の避妊手術時に卵管に与えたダメージの多寡であることが判明した。

キーワード: 卵管避妊手術再開通術, マイクロサージェリー

SERUM LEVELS OF INTERCELLULAR ADHESION MOLECULE-1 (ICAM-1) IN EARLY PREGNANCY

Kaei NASU, Hisashi NARAHARA and Isao MIYAKAWA

Department of Obstetrics and Gynecology
Oita Medical University, Oita 879-55, Japan

Abstract: To investigate whether a soluble form of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is involved in early pregnancy, serum levels of free ICAM-1 were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay in 15 women during early gestation and 30 nonpregnant volunteers (15 follicular phase, 15 luteal phase).

ICAM-1 serum levels were significantly decreased in women during early gestation compared to women in the follicular phase ($p < 0.01$), and tended among all patients to be higher in the follicular than luteal phase. And also its levels were higher in the luteal phase than during the early gestation. These findings may reflect immunological tolerance in the maternal-fetal interface.

Key words: ICAM-1, CD54, early pregnancy

(*Jpn. J. Fertil. Steril.*, 42 (4), 243 - 246, 1997)

Introduction

In the first trimester of normal human pregnancy, trophoblasts invade maternal tissue to anchor the placenta to the decidua, establishing the maternal-fetal interface¹.

Large populations of maternal large granular lymphocytes and macrophages also migrate to decidual tissue^{2,3}. The underlying mechanisms of the marked infiltration by fetal trophoblasts have not been clarified.

Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1, CD54), a member of the immunoglobulin superfamily of adhesion receptors, has 5 extracellular immunoglobulin-like domains, a single transmembrane region, and a short cytoplasmic tail^{4,5}. ICAM-1 is expressed on various cell types, including fibroblasts, keratinocytes, vascular endothelial cells, macrophages, decidual lymphocytes, villous stromal cells, glandular epithelial cells and stromal cells in the uterus, oocyte, and early embryos^{2,6-11}. ICAM-1 is a ligand for lymphocyte function-associated antigen-1 (LFA-1 or CD11a/CD18), which is present on lymphocytes, monocytes, and neu-

trophils¹². These molecules have been implicated in a wide variety of cell-to-cell interactions ranging from cell adhesion, migration and differentiation to wound healing and embryogenesis¹³.

ICAM-1 is an important early marker of immune activation and response¹⁴⁻¹⁶, and its expression on cell surfaces has been observed in diseases such as human liver allograft rejection¹⁴, lymphocytic infiltration in autoimmune thyroiditis¹⁵, and metastatic carcinoma¹⁶.

Seth et al.¹⁷ detected circulating ICAM-1 in serum obtained from healthy young volunteers using a chemiluminescence technique. They found that ICAM-1 existed in both membranous and soluble forms, the latter lacking the cytoplasmic tail and the transmembrane region because of an alternative splicing at mRNA transcription. Although its functional characteristics have not been clarified, Rothlein et al.¹⁸ have suggested that the circulating molecule may reflect inflammation, tissue damage, and proteolysis.

To determine the mechanism involved in pregnancy-associated changes, we measured free ICAM-1 serum levels in early gestational and nonpregnant

women. Here, we discussed the possible implications for the immunological aspects of maternal-fetal interactions.

Materials and Methods

We obtained 6 mL serum samples from 15 women in the first trimester and 30 nonpregnant volunteers (15 follicular, 15 luteal phase). There were no significant differences in age between pregnant and nonpregnant women (28.8 ± 3.5 yr vs 28.4 ± 4.1 yr). All were uncomplicated singleton pregnancies.

Gestational age was calculated as the number of weeks elapsed from the first day of the last normal menstrual period and was confirmed by ultrasonography before 16 weeks' gestation. Gestational ages of the pregnant women were 8.8 ± 2.8 weeks. Venous blood was allowed to clot at 4°C and was then centrifuged at $1,000 \times g$ for 15 minutes to remove the clot. The serum sample was divided into 1 mL aliquots and frozen at -70°C until needed.

Serum levels of free ICAM-1 were measured by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using an ICAM-1 test kit (CELLFREE®, T Cell Diagnostics, Inc., Cambridge, MA). The serum was allowed to thaw at room temperature and then diluted 100-fold in a dilution buffer. The assay was in duplicate as follows: Standards or diluted samples were placed in polystyrene microtiter wells pre-coated with an anti-ICAM-1 monoclonal antibody. A horseradish peroxidase-conjugated anti-ICAM-1 monoclonal antibody was immediately added to the microtiter wells. The microtiter wells were incubated for 2 hours at room temperature. Wells were washed with phosphate-buffered saline, and a chromogen solution added. The reaction was terminated by the addition of $2\text{ N H}_2\text{SO}_4$ and absorbance was measured at 490 nm using a microplate reader (Model 3550, Bio-Rad Laboratories, Richmond,

CA).

The detection limit of the assay is calculated to be 0.3 ng/ml. The assay did not detect any known crossreactive antigens and is specific for human ICAM-1.

Data is the mean \pm SD. Mean data were analyzed by Fisher's PLSD test. A value of $p < 0.05$ was regarded as statistically significant.

Results

ICAM-1 serum levels were 280.5 ± 54.7 ng/ml in pregnant women in the 1st trimester, 357.2 ± 111.0 ng/ml in nonpregnant women during the follicular phase, and 302.2 ± 80.8 ng/ml in nonpregnant women during the luteal phase (Table 1). ICAM-1 serum levels in nonpregnant women during the follicular phase were significantly higher than that in pregnant women during the 1st trimester ($p < 0.01$). Although not statistically significant, the mean serum levels of ICAM-1 tended to be higher in the follicular phase than in the luteal phase, and in the luteal phase than in the 1st trimester.

Discussion

ICAM-1 expression has been observed on fetal and maternal cells, including decidual scattered leukocytes, endothelial cells, villous stromal cells, placental macrophages, trophoblast cells, oocytes, and early embryos^{2,8,10,11,19}). Tabibzadeh et al.¹⁰) reported that the vessels in endometrium exhibited ICAM-1 throughout the menstrual cycle. Burrows et al.¹⁹) detected ICAM-1 expression in decidual vascular endothelial cells, especially at the site of implantation, and in trophoblasts, including endovascular trophoblast cells and interstitial trophoblast cells. It has been suggested that vascular invasion by the trophoblasts is regulated via ICAM-1 expression in which the interaction between endovas-

Table 1 Serum levels of ICAM-1 in women in the follicular phase, luteal phase, and 1st trimester

Group	n	Serum ICAM-1 (ng/ml) ^a
Follicular phase	15	357.2 ± 111.0
Luteal phase	15	302.2 ± 80.8
1st trimester	15	280.5 ± 54.7^b

^a Data are means \pm SD.

^b $p < 0.01$ vs follicular phase, Fisher's PLSD test

cular trophoblasts and decidual endothelial cells is controlled. Burrows et al.²⁾ detected expression of both ICAM-1 and LFA-1 on the cell surfaces of decidual large granular lymphocytes by immunohistochemistry and suggested that heterotypic cellular interactions were involved in pregnancy.

Tabibzadeh and Poubouridis⁹⁾ observed the immunohistochemical expression of ICAM-1 on epithelial and stromal cells in the endometrium and suggested that ICAM-1 expression might provide an alternate mechanism of leukocyte adhesion to glandular and surface epithelial cells, facilitating the scattering of leukocytes in the endometrial stroma. Campbell et al.¹¹⁾ demonstrated ICAM-1 expression on oocytes and early embryos. However, the above-cited results were obtained in immunohistochemical studies using tissue sections.

In the present study, ICAM-1 serum levels were significantly lower in pregnant women in the 1st trimester than in nonpregnant women during the follicular phase, and tended to be lower in the 1st trimester than in the luteal phase. Rothlein et al.¹⁸⁾ suggested that soluble ICAM-1 might serve as a marker of inflammation, tissue damage, and proteolysis. Cardiac transplant rejection has been shown to be associated with an increase in the circulating ICAM-1 level, suggesting that increased ICAM-1 may indicate activation of cells that participate in allograft rejection²⁰⁾. Recently, Somigliana et al.²¹⁾ demonstrated that cultured endometrial stromal cells constitutively shed soluble ICAM-1 and that this was regulated during the menstrual cycle. Their findings may support our results.

Excessive activation of the ICAM-1-LFA-1 interaction on cell surfaces during pregnancy may promote interactions among trophoblasts, inflammatory cells, and decidual endothelial cells, resulting in rejection of the fetal semi-allograft. Although further investigation is necessary, the significantly lower ICAM-1 serum levels in pregnant women in the present study may reflect immunological tolerance in the maternal-fetal interface.

References

1) Brosens I, Robertson WB, Dixon HG (1967) The physiological response of the vessels of the pla-

cental bed in normal pregnancy. *J Pathol Bacteriol* 93: 569-579

- 2) Burrows TD, King A, Loke YW (1993) Expression of adhesion molecules by human decidual large granular lymphocytes. *Cell Immunol* 147: 81-94
- 3) Bulmer JN, Johnson PM (1984) Macrophage populations in the human placenta and amniochorion. *Clin Exp Immunol* 57: 393-403
- 4) Springer TA (1990) Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 346: 425-434
- 5) Staunton DE, Dustin ML, Erickson HP, et al. (1990) The arrangement of the immunoglobulin-like domains of ICAM-1 and the binding sites for LFA-1 and rhinovirus. *Cell* 61: 243-254
- 6) Dustin ML, Rothlein R, Bhan AK, et al. (1986) Induction by IL-1 and interferon- γ : tissue distribution, biochemistry and function of a natural adherence molecule (ICAM-1). *J Immunol* 137: 245-254
- 7) Larson RS, Springer TA (1990) Structure and function of leukocyte integrins. *Immunol Rev* 114: 181-217
- 8) Salafia CM, Haynes N, Merluzzi VJ, et al (1991) Distribution of ICAM-1 within decidua and placenta and its gestational age-associated changes. *Pediatr Pathol* 11: 381-388
- 9) Tabibzadeh SS, Poubouridis D (1990) Expression of leukocyte adhesion molecules in human endometrium. *Am J Clin Pathol* 93: 183-189
- 10) Tabibzadeh SS, Kong QF, Babaknia A (1994) Expression of adhesion molecules in human endometrial vasculature throughout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 1024-1032
- 11) Campbell S, Swann HR, Seif MW, et al. (1995) Cell adhesion molecules on the oocyte and preimplantation human embryo. *Hum Reprod* 10: 1571-1578
- 12) Marlin SD, Springer TA (1987) Purified intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is a ligand for lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1). *Cell* 51: 813-819
- 13) Buck CA (1992) Immunoglobulin superfamily: structure, function and relationship to other receptor molecules. *Semin in Cell Biol* 3: 179-188
- 14) Adams DH, Hubscher SC, Shaw J, et al. (1989) Intercellular adhesion molecule-1 on allografts during rejection. *Lancet* 8672: 1122-1125
- 15) Weetman AP, Cohen S, Makgoba MW, et al. (1989) Expression of an intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1, by human thyroid cells. *J Endocrinol* 122: 185-191

- 16) Vogetseder W, Feichtinger H, Schulz TF, et al. (1989) Expression of 7F7-antigen, a human adhesion molecule identical to intercellular adhesion molecule-1 in human carcinomas and their stromal fibroblasts. *Int J Cancer* 43: 768-773
- 17) Seth R, Raymond FD, Makgoba MW (1991) Circulating ICAM-1 isoforms: diagnostic prospects for inflammatory and immune disorders. *Lancet* 338: 83-84
- 18) Rothlein R, Mainolfi EA, Czajkowski M, et al. (1991) A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J Immunol* 147: 3788-3793
- 19) Burrows TD, King A, Loke YW (1994) Expression of adhesion molecules by endovascular trophoblast and decidual endothelial cells: implications for vascular invasion during implantation. *Placenta* 15: 21-33
- 20) Ballantyne C, Mainolfi EA, Young JB, et al. (1991) Prognostic value of increased levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 after heart transplant. *Clin Res* 39: 285a
- 21) Somigliana E, Viganó P, Gaffuri B, et al. (1996) Human endometrial stromal cells as a source of soluble intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 molecules. *Hum Reprod* 11: 1190-1194
(受付: 1997年3月10日)
(受理: 1997年5月19日)

妊娠初期の血清ICAM-1値の検討

大分医科大学産科婦人科学教室
奈須家栄, 植原久司, 宮川勇生

First trimesterの正常妊娠15例と非妊娠正常群30例(卵胞期15例, 黄体期15例)について, 血清可溶性ICAM-1値をELISA法により測定した。

血清可溶性ICAM-1値は1st trimesterでは 280.5 ± 54.7 ng/ml, 卵胞期では 357.2 ± 111.0 ng/ml, 黄体期では 302.2 ± 80.8 ng/mlであった。1st trimesterの血清可溶性ICAM-1値は卵胞期に比べ, 有意に低値であった ($p < 0.01$, Fisher's PLSD test)。また黄体期の血清可溶性ICAM-1値は, 卵胞期に比べて低下する傾向が認められた。

以上より, 炎症などの免疫が活性化された状態とは異なり, 妊娠初期には血清可溶性ICAM-1値が低下することが判明した。これは胎児に対する免疫寛容状態を反映しているのではないかと考えられる。また, ICAM-1が妊娠の維持に関して, 何らかの作用を有する可能性が示唆された。

キーワード: 可溶性ICAM-1, CD54, 妊娠初期

当科における男性不妊症患者の臨床的検討

A Clinical Study of Male Infertility

岡山大学医学部泌尿器科学教室

秋山 博 伸 Hironobu AKIYAMA	大 枝 忠 史 Tadashi OEDA	岡 部 浩 典 Hirofumi OKABE
秋 山 道 之 進 Michinoshin AKIYAMA	小 澤 秀 夫 Hideo OZAWA	永 井 敦 Atsushi NAGAI
	大 森 弘 之 Hiroyuki OHMORI	

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

1991年1月から1995年12月までの5年間に、岡山大学泌尿器科を受診した男性不妊症患者について、統計を含めた臨床的検討を行った。5年間に不妊を主訴に新来した患者は316例であり、全新来患者4,865人の6.5%に相当した。5年間の年次推移はほぼ横這い傾向を示した。年代別では30歳代が最も多く、全体の67.1%であった。精液所見では、特発性無精子症23.1%、閉塞性無精子症10.3%、乏精子症39.4%、精子無力症9.0%、正常18.3%であった。原因別では、特発性あるいは原因不明52.5%、精索静脈瘤26.6%、精路閉塞症10.1%、染色体異常7.0%であった。治療は、各種薬物療法、精路閉塞症に対する精路再建術、精巣上体精子吸引術、精索静脈瘤に対する結紮術などが主体であった。妊娠は18例に確認できた。

キーワード：男性不妊症，統計，臨床的検討

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 247 - 252, 1997)

緒 言

近年の産婦人科分野における assisted reproductive technique (ART) のめざましい進歩により、男性不妊症の治療は大きく変わりつつある。今回、当科における男性不妊症患者について、統計を含めた臨床的検討を行うとともに、今後の男性不妊診療の展望について考察を加えたので報告する。

対象および方法

対象は、1991年1月から1995年12月までの5年間に、不妊を主訴に岡山大学泌尿器科を受診した新来患者316例である。これらの症例に対し、患者背景、診断、治療、治療成績などを中心に、臨床的検討を行った。

結 果

1 新来患者数とその年次変化

5年間に当科を受診した全新来患者数(4,865人)に対する男性不妊症患者(316人)の割合は6.5%であり、その年次推移はほぼ横這い傾向を示した(図1)。なお、316例のうち紹介患者は234例であり、紹介率は74.1%であった。

2 初診時の年齢

初診時の年齢は、22から69、平均33歳であり、年代別では、30歳代が全体の67.1%と最も多く、20歳代が24.4%とこれに続いた(図2)。

3 妻の年齢

妻の年齢は22から47、平均29.7歳であり、年代別では、20歳代が50.2%、30歳代が48.4%であった。

4 不妊期間

結婚から初診までで避妊期間を除いた不妊期間は、

0から204, 平均45か月であった。

5 既往歴および妻の異常

主な既往歴としては, 発熱, 精巣上体炎, 流行性耳下腺炎, 鼠径ヘルニア根治術などがあり, 妻の異常としては, 卵管閉塞, 卵巣機能障害, 子宮内膜症などが主体であった。

6 精液所見

精液検査は312例に施行し得た。分類は, WHOの基準を参考にし, 精子を認めないものを無精子症, 精子濃度 $20 \times 10^6/ml$ 未満を乏精子症, 精子濃度 $20 \times$

$10^6/ml$ 以上, 運動率50%未満のものを精子無力症, 精子濃度 $20 \times 10^6/ml$ 以上, 運動率50%以上のものを正常とした。また, 無精子症については, 精巣容積, 血中FSHが正常を示すものを閉塞性無精子症と疑い²⁾, 既往歴, 精巣生検, あるいは精管造影などにて診断し, 特発性無精子症と閉塞性無精子症に分類した。結果は, 特発性無精子症23.1%, 閉塞性無精子症10.3%, 乏精子症39.4%, 精子無力症9.0%, 正常18.3%であった(図3)。

7 男性不妊症の原因

特発性あるいは原因不明のものが52.5%と最も多く, ついで精索静脈瘤, 精路閉塞症, 染色体異常などの順であった(図4)。

8 原因別検討

1) 特発性あるいは原因不明

特発性あるいは原因不明の症例は166例で, 全体の52.5%であった。治療法としては, 乏精子症患者を中心に, tranilast³⁾, methyl B₁₂⁴⁾, 補中益気湯⁵⁾などの各種薬物療法が行われており, 8例で妊娠に至った。なお, 無精子症患者のうち18例でAIDへ紹介となった。

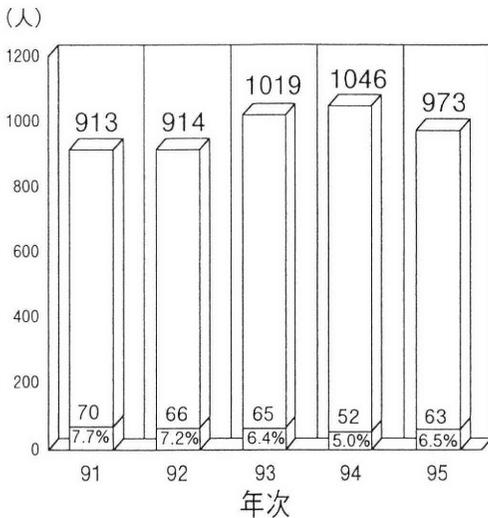


図1 全 newcomers 数と男性不妊症 newcomers 数の年次推移

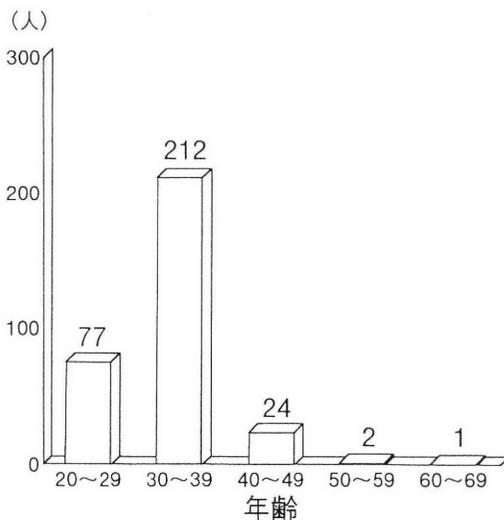


図2 初診時年齢分布

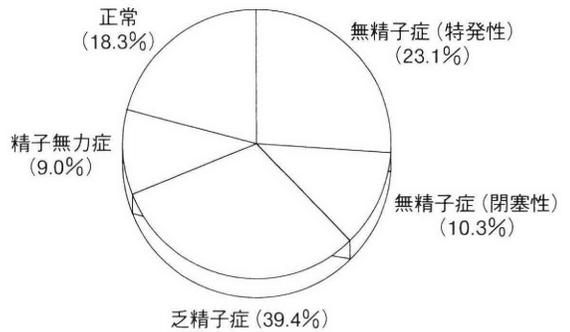


図3 精液所見分布 (n = 312)

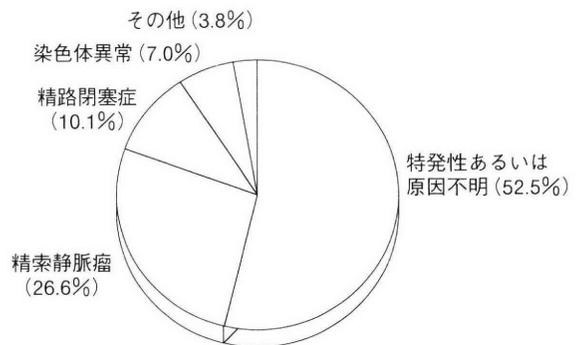


図4 男性不妊症の原因分布 (n = 316)

2) 染色体異常

染色体異常によるものは22例、全体の7%であり、特発性無精子症患者の21.1%に相当した。その内訳はすべて性染色体異常であり、47,XXYのKlinefelter症候群が17例と最も多く、他は、46,XX, 47,XXY, 46,Xdel(Y)(q11), 45,X,46,Xdel(Y)(q11)/46,Xdic(Y)(q11), 46,X+marであった。精巣容積は縮小(右 4.9 ± 3.4 ml, 左 4.9 ± 3.4 ml)しており、FSHの高値(42.8 ± 16.8 mIU/ml)、高度の造精機能障害(JSC: 2.7 ± 0.87 , $n=8$)を認めた。22例のうち希望のあった8例でAIDへ紹介となった。

3) 精路閉塞症

精路閉塞症による男性不妊症は32例、全体の10.1%であり、無精子症患者の31.1%に相当した。精巣容積(右 21.4 ± 5.4 ml, 左 21.1 ± 4.6 ml)、FSH(7.56 ± 7.47 mIU/ml)、JSC(7.61 ± 1.39 , $n=22$)は正常所見を示した。閉塞の原因としては、鼠径ヘルニア根治術が7例、精管切断術が6例、精巣上体炎が4例、不明あるいはその他が15例であった。治療は、精管精管吻合術を9例、精管精巣上体管吻合術を4例、経尿道的精阜切除術を2例、精巣上体精子吸引術(microscopic epididymal sperm aspiration, MESA)を5例計9回施行した。精管精管吻合術では、9例中6例で精子が出現、そのうちの1例で妊娠が得られた。精管精巣上体管吻合術では、4例中2例で精子が出現したが、妊娠例は認められなかった。経尿道的精阜切除術を施行した2例のうち1例で精子の出現と妊娠を認めた。MESAでは、9回中8回で運動精子を回収し得、全例に卵細胞質内精子注入法(Intracytoplasmic sperm injection, ICSI)が行われたが、妊娠には至らなかった。

4) 精索静脈瘤

精索静脈瘤を認めたものは84例、全体の26.6%であった。患側は、右側のみが1例、両側が1例であり、他は全例左側のみであった。精巣容積(右 19.8 ± 4.5 ml, 左 18.3 ± 4.0 ml)、FSH(8.64 ± 5.77 mIU/ml)、JSC(7.4 ± 1.0 , $n=17$)は比較的正常に保たれていた。治療は、高位結紮術が8例、腹腔鏡下高位結紮術が34例、低位結紮術が10例に行われており、妊娠は7例、手術施行症例の13.5%に認められた。

5) その他

その他の原因として、停留精巣4例、逆行性射精3例、低ゴナドトロピン性性腺機能低下症2例、インポテンス1例、精巣腫瘍術後1例、急性骨髄性白血病に対する化学療法1例などがあり、低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の1例で、hCG-hMG療法によ

る妊娠の成立を認めた。

9 妊娠例の検討

妊娠は18例で認められた。その一覧を表1に示す。

考 察

1 統計

近年の社会的背景の変化にもともない男性不妊症患者は増加傾向にあり、泌尿器科領域においても重要な分野となっている。泌尿器科全 newcomers 患者数に対する割合については、不妊症専門外来の有無、あるいは各施設での重点診療分野の違いなどにより、施設間で差を認めるが^{6,7)}、今回の検討では6.5%であり、年次推移はほぼ横這いであった。したがって、近年のARTの発達にもかかわらず、男性不妊症の診断、治療に対する需要は依然として根強く存在するといえる。また、紹介率が74.1%と高率であり、専門外来を有する大学病院の特性であると思われた。今後、一般病院での診療の充実により、患者の分散も予想されるが、大学病院としての専門外来の必要性は依然として高いと考えられる。

2 特発性あるいは原因不明の男性不妊症

特発性男性不妊症は、男性不妊症の大半を占めるにもかかわらず、その正確な病態生理についてはほとんど解明されておらず、有効な治療法は未だ存在しない。現在、実際の診療の場においては、乏精子症患者、精子無力症患者を中心に各種薬物療法が行われている。クロミフェン⁸⁾、hCG-hMG⁹⁾などの内分泌療法や、Methyl B₁₂⁴⁾をはじめとする非内分泌療法が挙げられるが、いずれの成績も芳しいものではない。最近我々は、肥満細胞遮断薬であるtranilast³⁾や、漢方製剤の補中益気湯⁵⁾を用い、比較的良好な成績を得ているが、満足のいく成績には遠く及ばないのが現状である。

病態生理の解明については、各施設において遺伝子をはじめとしたさまざまな研究が行われている^{10,11)}。我々は、精巣内aromatase活性の上昇と、それによる精巣内E₂濃度の増加が特発性男性不妊症の原因のひとつである可能性について報告した^{12,13)}。より科学的根拠に基づいた治療法の確立には、病態生理の解明が不可欠であり、今後の一層の成果が期待される。

3 染色体異常

男性不妊症と染色体異常の関連性についてもさまざまな報告がある¹⁴⁾。当科においても無精子症患者に対しては原則として染色体検査を施行している¹⁵⁾。今回の検討においては、22例、全体の7%、特発性無精子症の21.2%で染色体異常が認められた。特発

表1 妊娠例一覧

No.	原因	治療法	治療前精液所見		妊娠時精液所見		妊娠法
			精子濃度 (万/ml)	運動率 (%)	精子濃度 (万/ml)	運動率 (%)	
1.	特発性	tranilast	4390	45	5040	15	自然妊娠
2.	特発性	tranilast	650	5	5840	15	AIH
3.	特発性	tranilast	720	55	1880	45	自然妊娠
4.	特発性	補中益気湯	380	45	4330	45	自然妊娠
5.	特発性	補中益気湯	1480	65	1340	15	IVF
6.	特発性	methyl B ₁₂	880	15	1190	45	自然妊娠
7.	特発性	methyl B ₁₂	5340	2.5	4030	45	AIH
8.	特発性	AIH	1200	15	2260	5	AIH
9.	精索静脈瘤	高位結紮	170	55	2800	55	自然妊娠
10.	精索静脈瘤	高位結紮	1800	45	3000	55	自然妊娠
11.	精索静脈瘤	腹腔鏡	3950	65	7280	75	自然妊娠
12.	精索静脈瘤	腹腔鏡	470	25	4044	55	自然妊娠
13.	精索静脈瘤	腹腔鏡	5700	65	10300	45	自然妊娠
14.	精索静脈瘤	腹腔鏡	960	75	3360	75	AIH
15.	精索静脈瘤	低位結紮	2360	25	7500	53	自然妊娠
16.	閉塞性	精管精管吻合	0	0	540	5	自然妊娠
17.	閉塞性	精阜切除	0	0	260	0	自然妊娠
18.	下垂体性	hCG-hMG	550	25	1810	25	自然妊娠

性男性不妊症同様有効な治療法はなく、8例でAIDへ紹介となったが、近年、精子の前段階である円形精子細胞の核だけを卵子に注入する、いわゆるround spermatid nucleus injection (ROSNI)¹⁶⁾が、日本不妊学会としては慎重に行うよう自粛を要請しているものの、徐々に臨床応用されつつあることを考慮すると、円形精子細胞の有無を確認するための精巣生検の必要性も今後高くなっていくことが予想される。

4 精路閉塞症

精路閉塞症は、手術による治療効果が期待できる点で注目されており、男性不妊症の5~7.5%、無精子症患者の22.7~29%を占めるとされている^{2,17)}。今回の検討では、全体の10.1%、無精子症患者の31.1%であり、本疾患に対する注目度の上昇や、診断技術の向上により増加傾向にあると思われる。特発性造精機能障害に対する有効な治療法が未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、精路閉塞症の治療成績の向上の要因となっている。最近では、精巣内精子を用いたICSIによる妊娠も多数報告されており¹⁸⁾、MESAによる精子回収不能症例を中心に今後さらに普及すること

が予想される。以上の如く、精路閉塞症は手術による精路再開や運動精子の回収が可能であり、今後も積極的に治療を行うべきと考えられた。

5 精索静脈瘤

精索静脈瘤も、手術による治療効果が期待でき、正確な診断と適切な治療が重要である。診断には、視触診に加え、サーモグラフィー、シンチグラフィー、MRIなどが用いられ、総合的に診断されている^{19,20)}。最近では超音波カラードプラが普及し、sub-clinicalな症例も含め、診断に効力を発揮しており²¹⁾、我々も使用している。治療は、従来より高位結紮術、腹腔鏡下高位結紮術が行われてきたが、近年、より侵襲の少ない低位結紮術が開発され、各施設でこれに移行しつつある²²⁾。今後は各手術の有効性に関し、長期成績も含めた比較検討が必要であると思われる。

6 その他の原因による男性不妊症

その他の原因として、停留精巣、逆行性射精、低ゴナドトロピン性性腺機能低下症、インポテンスなどが認められた。これらのうち、逆行性射精では、尿中精子を回収し、AIHを行う方法が普及し、妊娠例も多数報告されている²³⁾。また、低ゴナドトロピン性性腺機能低下症に対しては、hCG-hMG療法が主に行われ²⁴⁾、今回の検討においても妊娠例を認めた。

これらの疾患についても、正確な診断と、その症例に応じた治療が必要であると思われる。

7 妊娠例に関する検討

精索静脈瘤では、手術による精液所見の改善、自然妊娠が得られており、手術の有用性が示唆された。また、ほとんどの症例で、妊娠時の精子濃度は $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以上であり、自然妊娠、AIHによる妊娠にはある程度の精子濃度が必要であると思われた。閉塞性の2例については、いずれも自然妊娠が得られたものの、精液所見は必ずしも良好ではなかった。

8 男性不妊診療の今後の課題と展望

ARTの普及により、男性不妊症に対する治療は大きな変貌を遂げた。それにともない不妊診療における泌尿器科医あるいはandrodistの位置付け、役割も変わりつつある。しかし、我々の外来を受診する男性不妊症患者は決して減少しておらず、相変わらずその治療に対しては大きな需要が存在するものと考えられる。また、ARTによっても十分な妊娠率が得られている訳ではなく、長期的な視点において未だ解決されていない問題点も多いのが現状である²⁵⁾。

一方、精路閉塞症、精索静脈瘤に対する手術が自然妊娠に寄与しているのも事実であり、これらのいわゆる“治癒可能な不妊症”に対しては、自然妊娠を目指すという基本方針に基づいて治療を行うのが理想であると考えられる。しかし、手術によっても精液所見の改善が得られない症例に関しては、ARTの併用も積極的に考慮していく必要がある。また、手術施行前の段階においても、自然妊娠、ARTのいずれを選択するかは夫婦それぞれの意思によるものであり、我々泌尿器科医は、これらに関する十分な情報を与えるべきであると思われる。

これに対し、いわゆる“治癒困難な不妊症”すなわち特発性不妊症については、時期を逃さずARTへ移行するのが望ましい。治療法選択のための基準、すなわち精液検査、精子機能検査の結果により、AIH、IVF、ICSIのいずれを選択すべきかある程度明確な基準を設定し、それに基づいて治療法を振り分けていくことが泌尿器科医の主な役割と考える。

その一方で、研究面における特発性造精機能障害の病態生理の解明と有効な治療法の確立も重要な課題であり、不妊診療における泌尿器科医、あるいはandrodistとしての責任は依然重要である。今後も、産婦人科との連携を密にし、治療成績の向上に努めるべきであると考えられた。

において発表した。

文 献

- 1) WHO (1992) WHO laboratory manual for the semen and semen-cervical mucus interaction. Published on behalf of the World Health Organization, 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge, New York, New Rochelle, Melbourne, Sydney
- 2) 秋山博伸, 永井 敦, 市川孝治 他(1996)閉塞性無精子症の臨床的検討. 日不妊会誌 41: 229-233
- 3) 秋山博伸, 大枝忠史, 市川孝治 他(1996)特発性男性不妊症に対するtranilastの有用性に関する検討. 日不妊会誌 41: 54-58
- 4) 大橋輝久, 永井 敦, 入江 伸 他(1987)特発性男性不妊症に対するMethylcobalaminの検討—精漿内Vitamin B₁₂濃度を中心として—. 日不妊会誌 32: 200-205
- 5) 秋山道之進, 大枝忠史, 秋山博伸 他(1997)男性不妊症に対する補中益気湯の使用経験. 西日泌尿 59: 442-446
- 6) 片山 喬(1990)男性不妊. 日泌尿会誌 81: 1287-1301
- 7) 天野俊康, 今尾哲也, 伊藤秀明 他(1996)経時的にみた男性不妊症の臨床的検討. 日不妊会誌 41: 247-252
- 8) Sorbie PJ and Perez-Marrero R (1984) The use of Clomiphene citrate in male infertility. J Urol 131: 425-429
- 9) Oeda T, Nagai A, Ichikawa T, et al. (1996) Clinical evaluation of hCG-hMG combined therapy in patients with male infertility. Jpn J Fertil Steril 41: 18-24
- 10) Nagafuchi S, Namiki M, Nagahori Y, et al. (1993) A minute deletion of the Y chromosome in men with azoospermia. J Urol 150: 1155-1157
- 11) 松宮清美, 北村雅哉, 並木幹夫 他(1996)精子形成と遺伝子. 臨泌 50: 454-458
- 12) 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
- 13) 秋山博伸(1997)精巢内aromatase活性に関する検討—ラット精巢内高E₂モデルにおける造精機能障害について—. 日泌尿会誌 88: 649-657
- 14) 吉田 淳, 三浦一陽, 原 啓 他(1996)無精子症における染色体異常の研究. 日不妊会誌 41: 164-169
- 15) 永井 敦, 大枝忠史, 秋山博伸 他(1995)無精子症における染色体異常の臨床的検討. 日本アンドロロジー学会抄録集 14: 138-139

- 16) Tesarik J, Mendosa G and Testart J (1995) Viable embryos from injection of round spermatids into oocytes. *New Engl J MED* 333: 525
- 17) 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
- 18) Silber SJ, Van Steirteghem AC, Liu J, et al. (1995) High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biopsy. *Human Record* 10: 148-152
- 19) 秋山博伸, 永井 敦, 市川孝治 他 (1996) 精索静脈瘤の診断における陰囊部シンチグラフィとサーモグラフィの有用性. *臨泌* 50: 657-659
- 20) 秋山博伸, 永井 敦, 市川孝治 他 (1996) 精索静脈瘤の診断におけるMRIの有用性. *臨泌* 50: 759-761
- 21) 渡辺賀寿雄, 片岡肇一, 渡辺政信 他 (1994) 泌尿器科領域におけるカラードブラ法の応用(II) 精索静脈瘤. *泌尿外* 7: 335-338
- 22) 奥野 博, 七里泰正, 吉田 修 (1996) 精索静脈瘤の診断と治療. *臨泌* 50: 471-477
- 23) 三浦一陽 (1992) 射精機能障害の治療—逆行性射精・人工射精・人工精液瘤—. *インポテンス診療の実際*. 白井將文編, 第1版, 金原出版, 東京, pp116-124
- 24) 市川孝治, 大枝忠史, 小澤秀夫 他 (1996) Hypogonadotropic hypogonadism に対するホルモン療法の効果に関する検討. *日不妊会誌* 41: 253-262
- 25) 吉村愼一, 大野虎之進 (1993) 体外受精・胚移植. *臨泌* 47: 813-819

(受付: 1997年3月18日)

(受理: 1997年5月19日)

A clinical study of male infertility

Hironobu Akiyama, Tadashi Oeda, Hirofumi Okabe, Michinoshin Akiyama
Hideo Ozawa, Atsushi Nagai and Hiroyuki Ohmori

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

Clinical and statistical study were performed on 316 infertile male patients who consulted the Department of Urology, Okayama University Hospital between 1991 and 1995.

The incidence of male infertility was 6.5 % of the total number of outpatients and the peak of age distribution was 30 to 39 years old. In semen analysis, 23.1 % of the patients showed idiopathic azoospermia, 10.3 % obstructive azoospermia, 39.4 % oligozoospermia, 9.0 % asthenozoospermia and 18.3 % normozoospermia.

In 52.5 % of the patients, no definite cause of infertility was found. Most frequent etiological finding was varicocele (26.6 %), following obstruction of seminal tract (10.1 %) and chromosomal abnormality (7.0 %).

Oral administration of various medicines was performed mainly for idiopathic oligo- or asthenozoospermia, microscopic surgery (vaso-vasostomy, vaso-epididymostomy and epididymal sperm aspiration) for obstructive azoospermia and venous ligation for varicocele.

Pregnancy was achieved in 18 cases.

Key words: male infertility, statistical study, clinical study

卵管水腫貯留液の体外受精の治療成績に及ぼす影響

The Influence of the Persistent Existence of Hydrosalpinx Fluid on In-vitro Fertilization Outcome

弘前大学医学部産科婦人科学教室

藤井 俊 策

Shunsaku FUJII

鍵谷 昭 文

Akifumi KAGIYA

福井 淳 史

Atsushi FUKUI

佐藤 重 美

Shigemi SATO

福士 義 将

Yoshiyuki FUKUSHI

齋藤 良 治

Yoshiharu SAITO

Department of Obstetrics and Gynecology

Hirosaki University School of Medicine, Aomori 036, Japan

卵管水腫が体外受精の治療成績に及ぼす影響について、卵管性不妊患者175例の435周期を、Without hydrosalpinx (WH) 群 (n = 292) : 水腫なし、Occult hydrosalpinx (OH) 群 (n = 68) : 超音波断層法では確認できない水腫、Persistent hydrosalpinx (PH) 群 (n = 55) : 超音波断層法で確認可能な水腫、の3群に分類し、後方視的に比較検討した。また、PH群の5周期で卵管腔内にインジゴカーミン色素を注入し、水腫貯留液の子宮腔への流出の有無を下着やナプキンの着色により調べた。

1) 患者年齢はOH群が他の2群と比較して有意に ($p < 0.05$) 高く、体外受精施行回数はPH群が他の2群と比較して有意に ($p < 0.005$) 多かった。2) PH群の子宮内膜厚は他の2群と比較して有意に ($p < 0.0001$) 厚く、超音波断層法による子宮内膜パターンの異常率も有意に ($p < 0.001$) 高かった。3) 採卵数、受精卵数はOH群で有意に高かったが、受精率は3群間で有意差を認めなかった。4) 移植あり妊娠率は、PH群 (8.5%) がWH群 (27.9%) と比較して有意に ($p < 0.005$) 低かった。5) PH群の5周期とも、インジゴカーミン色素による着色を認めた。

以上の結果から、卵管水腫貯留液が子宮腔に流入し、胚の固定などの着床仮定が阻害された可能性が示唆された。

キーワード：卵管水腫，体外受精，経腔超音波断層法，着床

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 253 - 257, 1997)

緒 言

近年、卵管水腫を有する患者、就中、超音波断層検査でその存在が確認可能な卵管水腫例では、体外受精・胚移植 (in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET) での妊娠率が低く、また、流産や子宮外妊娠などの early pregnancy loss が高率に発生することが報告されている¹⁻⁶⁾。しかしながら、卵管水腫が妊娠成立を阻害する機序に関しては、諸説はあるものの未だ定説はない。

今回、我々も卵管性不妊患者の治療において、卵管水腫の存在がIVF-ET治療周期に及ぼす影響につき

後方視的に検討し、2, 3の知見を得たので報告する。

対象および方法

1995年4月から1997年9月までの間に、弘前大学医学部産婦人科不妊外来でIVF-ETを施行した卵管性不妊患者175例の435周期を対象とした。IVF-ETの実施に先立って行われた子宮卵管造影や腹腔鏡下での通色素試験の結果、あるいは既往開腹手術所見上、一側または両側の卵管にその拡張をともなう遠位端での閉塞を認めた場合を卵管水腫と診断した。また、体外受精治療周期の過排卵刺激中に経腔超音波断層法 (transvaginal ultrasonography, TVUS) で卵管水腫

と思われるecho free space⁷⁾の有無を確認のうえ、患者の治療周期を以下1)~3)の基準により、3群に分類した。

1) Without hydrosalpinx (WH) 群: HSGまたは腹腔鏡、およびTVUSで両側とも卵管水腫を認めない。

2) Occult hydrosalpinx (OH) 群: HSGまたは腹腔鏡で一側または両側の卵管水腫を認めるが、TVUSでは卵管の腫脹を確認できない。

3) Persistent hydrosalpinx (PH) 群: HSGまたは腹腔鏡で一側または両側の卵管水腫を認め、TVUSでも両側の卵管の腫脹を確認できる。

各群ごとに臨床的背景、治療の転帰を比較検討した。

なお、IVF-ETの過排卵刺激は、GnRH agonist (Suprecur®, ヘキスト薬品工業)とpure FSH製剤 (Fertinorm-P®, セローノジャパン)あるいはhMG製剤 (Humegon®, 日本オルガノン)とを併用し、主にshort protocolあるいはlong protocolで行った。子宮内膜厚はhMG最終投与時に経膈超音波断層法で測定し、同時に子宮内膜のエコーパターンを評価した。すなわち、基底層と内腔に線状の高輝度エコーを有するleaf patternを示したものをtypicalとし、不規則な高輝度エコーなどを認めた場合はatypicalとした。また、過排卵刺激期間を通じて卵管水腫の有無をTVUSで確認した。妊娠は超音波断層法で胎嚢を確認した症例と、胎嚢が不明瞭であっても組織学的に絨毛を確認できた症例とした。

さらに、TVUSで卵管水腫を確認できた症例のうちPH群の5周期において、卵管水腫貯留液の子宮腔内

への流入の有無を、患者の同意を得て以下の方法で確認した。すなわち、採卵の際に卵管水腫貯留液を穿刺・吸引するとともに、穿刺・吸引後の卵管腔内に生理食塩水を希釈したインジゴカーミン色素を約5 ml注入し、その後、7日間にわたり下着やナプキンへのインジゴカーミンによる着色の有無を患者自身に確認してもらったうえ、着色が認められた場合には卵管水腫貯留液の子宮腔への流入ありと判定した。

なお、統計学的検討は、分散分析についてはScheffe's F testを、分割表分析についてはFisher's exact probability testを用いて検定し、 $P < 0.05$ で有意差ありと判定した。

結 果

対象となった治療周期の臨床的背景を表1に示した。治療周期数は、WH群が292周期、OH群が68周期、PH群が55周期であった。対象患者の年齢はOH群が他の2群と比較して有意に高く、体外受精の施行回数はPH群が他の2群と比較して有意に多かった。hMG総投与量は3群間で有意差を認めなかった。PH群の子宮内膜厚は他の2群と比較して有意に厚く、TVUSによる子宮内膜パターンの異常率もPH群では有意に高かった。穿刺卵胞数、採卵数、移植胚数はOH群で有意に高かったが、受精率は3群間で有意差を認めなかった。

治療の転帰を表2に示した。キャンセル率については、3群間で有意差は認められなかった。移植あり妊娠率は、PH群がWH群と比較して有意に低く、OH群と比較しても低い傾向を認めた。妊娠あり流産率

表1 治療周期の臨床的背景

	WH (n = 292)	OH (n = 68)	PH (n = 55)	P		
				WH vs OH	WH vs PH	OH vs PH
年齢 (歳)	34.4 ± 4.3	33.0 ± 4.4	35.0 ± 4.2	< 0.05	NS	< 0.05
体外受精施行回数	2.4 ± 1.7	2.4 ± 1.7	3.6 ± 3.0	NS	< 0.0005	< 0.005
hMG投与量	1850.5 ± 659.8	1763.9 ± 537.7	1810.2 ± 975.0	NS	NS	NS
子宮内膜厚 (mm)	10.7 ± 2.3	10.3 ± 1.9	11.5 ± 1.8	NS	NS	< 0.01
子宮内膜異常周期数 (周期あたり異常率)	15 (5.1%)	9 (13.2%)	27 (49.1%)	NS	< 0.0001	< 0.0001
穿刺卵胞数	8.6 ± 6.4	12.3 ± 7.0	7.9 ± 5.2	< 0.0005	NS	< 0.001
採卵数	5.3 ± 3.9	7.1 ± 4.1	5.0 ± 3.4	< 0.01	NS	< 0.05
受精卵数	3.5 ± 3.2	4.8 ± 3.6	3.9 ± 3.0	< 0.005	NS	< 0.05
受精率 (%)	75.0 ± 29.4	71.2 ± 30.6	81.2 ± 27.2	NS	NS	NS
移植胚数	2.1 ± 1.3	2.7 ± 1.5	2.3 ± 1.4	< 0.005	NS	NS

*Values are means ± SD.

†NS, not significant.

表2 治療周期の転帰

	WH (n = 292)	OH (n = 68)	PH (n = 55)	P		
				WH vs OH	WH vs PH	OH vs PH
移植周期数	247	60	47			
(キャンセル率)	(15.4 %)	(11.8 %)	(14.5 %)	NS	NS	NS
妊娠数	69	12	4			
(移植あたり妊娠率)	(27.9 %)	(20.0 %)	(8.5 %)	NS	<0.005	<0.09
流産数	9	2	1			
(妊娠あたり流産率)	(13.0 %)	(16.7 %)	(25.0 %)	NS	NS	NS
子宮外妊娠数	1	1	0			
(妊娠あたり外妊率)	(1.4 %)	(8.3 %)	(0.0 %)	NS	NS	NS

*NS, not significant.

と子宮外妊娠率は3群間で有意差を認めなかった。

さらに、卵管水腫内腔にインジゴカーミン色素を注入したPH群の5周期のうち5周期(100%)で、下着やナプキンへの着色を確認した。着色を認めた時期は、胚移植当日から胚移植4日後までの期間に及んだ。

考 察

卵管水腫は、卵管遠位端の閉塞により卵管分泌液が卵管内腔に貯留し、それによって卵管が拡張したものである。卵管が閉塞していても、液体の貯留や卵管の拡張をとまなう場合とともなわなう場合があるが、両者を分ける要因を説明するのは難しい。今回の検討では、卵管の拡張をとまなわなうOH群では、卵管の拡張をとまなうPH群と比較して患者の平均年齢が有意に低かったことから、卵管閉塞後の期間が長くなるとPH群に移行する可能性が推測された。

穿刺卵胞数、採卵数、受精卵数がOH群で有意に高い結果となったが、これはOH群の平均年齢が低かったためと思われる。また、OH群では、受精卵数が多いにもかかわらず移植胚数が有意に少ない結果となった。これは、三胎以上の多胎妊娠の発生を防ぐため、当科では20歳代の患者の場合には移植胚数を原則的に2個以下に制限しており⁸⁾、平均年齢が低いOH群では移植胚数が2個以下の周期が多くなったためである。

治療成績については、卵管水腫患者にIVF-ETを行っても容易に妊娠の成立を期待できないことが再確認できた。しかも、TVUSで確認できるような貯留液の多い卵管水腫患者、すなわちPH群では妊娠率が著しく低下したことも、Andersenら⁹⁾の報告と同様の結果であった。彼らはearly pregnancy lossも増加する

と報告しているが、今回我々の検討では、流産率と子宮外妊娠に3群間で有意差を認めず、妊娠の転帰に及ぼす影響については、なお検討が必要と思われる。

卵管水腫が妊娠成立を阻害する機序については、第1に卵管水腫貯留液中に存在するさまざまな炎症性サイトカインやマクロファージにより胚発生が障害されること、第2に貯留液の子宮腔への流入により胚の子宮内膜への固定が障害されること、などが推定可能である。現在我々は、卵管水腫貯留液に胚発生阻害作用があるかどうかを検討しているが、胚盤胞発生率の検討ではこれまでのところ明らかな阻害作用は認められていない(未発表)。したがって、第2の胚の固定障害が主な原因であると仮定して考察する。

卵管水腫貯留液は、排卵誘発刺激によって増大することが報告されている^{9,10)}。IVF-ETのように強力に過排卵刺激を行う周期では、それがさらに顕著になり、排卵前期～着床期の卵管水腫貯留液の増加にともなう子宮内腔への貯留液の流入も増すことが予想される。

今回の我々の検討において、PH群では非典型的なエコーパターンをとまなう厚い子宮内膜像が観察されたが、これは子宮腔内に流入した卵管水腫貯留液の影響によるものと考えられる。すなわち、子宮腔内の水分が過剰の状態になり、分泌期子宮内膜で観察されるようなエコー強度の高い像を呈することになる。

Mansourら¹¹⁾は、IVF-ETを行った卵管水腫患者3例において、採卵の前後で帯下の増加と子宮留水腫を認めたと報告している。このような子宮腔への水分貯留は卵管水腫のほかには子宮頸管の閉塞によっても起こり得ると報告されている¹²⁾。今回のインジゴ

カーミン色素を用いた検討でも、卵管水腫貯留液が絶えず子宮腔に流入していることを確認できた。我々の施設では、採卵の際に卵管水腫が確認できた場合には必ずそれを穿刺・吸引しているが、その効果は一時的なものに過ぎないと思われ、今回の検討で示されたようにPH群では極めて低い妊娠率しか得られなかった。

最近、卵管水腫患者におけるIVF-ETの治療成績を改善する試みも行われている。そのひとつとして卵管切除術があり、水腫となった卵管を切除することによって妊娠率が向上するという報告もなされている^{13,14)}。一方、正常の機能を有する卵管は受精だけではなく胚発生の場でもあるため、卵管上皮からの分泌液が移植胚の子宮腔内での発生において重要な機能を担っている可能性も否定できず、一律に卵管切除術を施行することに対して警鐘を鳴らす報告もある¹⁵⁾。しかしながら、すでに卵管が切除されていた患者にIVF-ETを施行した場合に妊娠率が低下するという報告は皆無である。したがって、たとえ卵管分泌液が胚の発生に非常に適した組成であるとしても、卵管は主に配偶子や胚の輸送のために機能しており、胚発生や着床のために必須であるとは考え難い。

妊娠の成立には胚が子宮腔に固定されることが必要である。今回の検討結果から、卵管水腫患者では子宮腔に流入する貯留液によって子宮腔や上皮組織内に水分が多い状態となり、胚の腔腔や卵管への流出が起りやすい状態となっていると推測される。したがって、卵管水腫貯留液の子宮腔への流入を断つか、あるいは移植胚が子宮内膜に確実に固定できるような胚移植法を行うことにより、IVF-ETの治療成績が向上する可能性がある。以上のことを念頭におき、反復してIVF-ETが不成功に終わった卵管水腫患者に対しては、早急に何らかの治療を行う必要があると考える。

文 献

- 1) Kassabji M, Sims JA, Butler L, et al. (1994) Reduced pregnancy outcome in patients with unilateral or bilateral hydrosalpinx after in vitro fertilization. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 56: 129-132
- 2) Strandell A, Waldenstrom U, Nilsson L, et al. (1994) Hydrosalpinx reduces in-vitro fertilization/embryo transfer pregnancy rates. *Hum Reprod* 9: 861-863

- 3) Vandromme J, Chasse E, Lejeune B, et al. (1995) Hydrosalpinges in in-vitro fertilization: an unfavourable prognostic feature. *Hum Reprod* 10: 576-579
- 4) 軽部裕子, 児玉英也, 福田 淳 他 (1995) 体外受精における卵管留水腫の影響. *日不妊会誌* 40: 181-184
- 5) Sharara FI, Jr RTS, Marut EL, et al. (1996) In-vitro fertilization outcome in women with hydrosalpinx. *Hum Reprod* 11: 526-530
- 6) Andersen AN, Yue Z, Meng FJ, et al. (1994) Low implantation rate after in-vitro fertilization in patients with hydrosalpinges diagnosed by ultrasonography. *Hum Reprod* 9: 1935-1938
- 7) Blumenfeld Z, Yoffe N, Bronshtein M (1991) Transvaginal sonography in infertility and assisted reproduction. *Obstet Gynecol Surv* 46: 36-49
- 8) 藤井俊策, 池田史郎, 相良守峰 他 (1996) 体外受精・胚移植における多胎妊娠の発生に影響する因子の検討. *弘前医学* 48: 132-138
- 9) Hill GA, Herbert CM, Fleischer AC, et al. (1986) Enlargement of hydrosalpinges during ovarian stimulation protocols for in vitro fertilization and embryo replacement. *Fertil Steril* 45: 883-885
- 10) Schiller VL, Tsuchiyama K (1995) Development of hydrosalpinx during ovulation induction. *J Ultrasound Med* 14: 799-803
- 11) Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI, et al. (1991) Fluid accumulation of the uterine cavity before embryo transfer: A possible hindrance for implantation. *J In Vitro Fert Embryo. Transfer* 8: 157-215
- 12) Grgan T, Urman B, Aksu T, et al. (1993) Fluid accumulation in the uterine cavity due to obstruction of the endocervical canal in a patient undergoing in vitro fertilization and embryo transfer. *J Assisted Reprod Genetics* 10:442-444
- 13) Shelton KE, Butler L, Toner JP, et al. (1996) Salpingectomy improves the pregnancy rate in in-vitro fertilization patients with hydrosalpinx. *Hum Reprod* 11: 523-525
- 14) Andersen AN, Lindhard A, Loft A, et al. (1996) The infertile patient with hydrosalpinges-IVF with or without salpingectomy? *Hum Reprod* 11: 2081-2084
- 15) Puttemans PJ, Brosens IA (1996) Salpingectomy improves in-vitro fertilization outcome in patients with a hydrosalpinx: blind victimization of the Fallopian tube. *Hum Reprod* 11: 2079-2081

(受付: 1997年2月14日)

(受理: 1997年5月20日)

The influence of the persistent existence of hydrosalpinx fluid on in-vitro fertilization outcome

Shunsaku Fujii, Atsushi Fukui, Yoshiyuki Fukushi
Akifumi Kagiya, Shigemi Sato and Yoshiharu Saito

Department of Obstetrics and Gynecology
Hirosaki University School of Medicine, Aomori 036, Japan

A retrospective study was designed to examine the influences of the hydrosalpinx fluid on in-vitro fertilization (IVF) outcome. A total of 435 IVF cycles of 175 patients with tubal factor infertility was categorized into three groups as follows; Without hydrosalpinx (WH) group (n = 292), Occult hydrosalpinx (OH) group (n = 68), and Persistent hydrosalpinx (PH) group (n = 55). Additionally, in 5 patients of PH group, we injected indigocarmine into hydrosalpinx to assess whether the hydrosalpinx fluid flow into the uterine cavity. If the coloration of underwears or sanitary napkins was confirmed, we considered the inflow was present.

The mean age was significantly higher ($p < 0.05$) in OH group, and the mean number of IVF trial was significantly greater ($p < 0.005$) in PH group. In PH group, the endometrial thickness was significantly increased ($p < 0.0001$) and the percentage of endometrium with abnormal sonographic pattern was significantly higher ($p < 0.001$). Though the number of oocyte retrieved and the number of fertilized eggs was significantly greater in OH group, the fertilization rate was not significantly different. The pregnancy rate was lower in PH group (8.5 %) compared with WH group (27.9 %). In all of 5 patients of PH group, the coloration with indigocarmine was confirmed.

Thus, we conclude that the persistent existence of hydrosalpinx fluid has a negative influence on IVF outcome. It was suggested that the inflow of hydrosalpinx fluid into the uterine cavity might hinder the process of implantation.

Key words: hydrosalpinx, IVF, transvaginal ultrasound, implantation

尿中高感度LH簡易半定量測定キット「シユアーステップ®LH」 によるLHサージ検出の基礎的・臨床的研究

Basic and Clinical Studies on the Detection of LH Surge Using the Highly Sensitive, Simplified and Semiquantitative Urinary 「Sure-Step®LH」 Assay Kit

山形県立河北病院産婦人科

小田 隆 晴

Takahare ODA

三浦 明 香

Sayaka MIURA

小宮 雄 一

Yuuichi KOMIYA

木村 和 彦

Kazuhiko KIMURA

大野 勉

Tutomu OHNO

Department of Obstetrics and Gynecology

Yamagata Prefectural Kahoku Hospital, Yamagata 999-35, Japan

正常月経周期を有する不妊婦人38名、48周期を対象に、最近開発されたサンドウィッチ法を応用した検出感度20 mIU/mlの簡便なLH半定量キット「シユアーステップ®LH」を用いて尿中LHを測定し、その基礎的、臨床的検討を行った。本キットの同時再現性は良好で、かつFSH 200 mIU/ml, TSH 0.1 mIU/ml, hCG 100 mIU/mlでは交叉反応は認められず、高感度尿中LH測定キット「ハイツインクロン®LH」測定によるLH値とも有意な相関($r=0.815$)を認めた。本キットでの排卵日前日の随時尿のLHサージ検出率は97.9%と高率で、陽性時の卵胞径は 18.1 ± 1.8 mm ($n=48$, mean \pm SD), 子宮内膜厚は 10.3 ± 1.6 mm, 頸管粘液スコアは 8.2 ± 1.0 点, 血中LH値は 42.6 ± 4.3 mIU/ml ($n=21$, mean \pm SEM), 血中 E_2 は 312.3 ± 18.6 pg/mlであり、陽性日より48時間以内に全例に排卵を確認した。

以上より自然排卵周期では卵胞径15 mmになった時点で「シユアーステップ®LH」にて外来受診時の随時尿のLHを測定するのみで排卵予知が可能で、今後不妊症の管理に極めて有用であると考えられた。

キーワード：不妊症, 尿中LHサージ, 尿中LH測定キット

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 258 - 264, 1997)

緒 言

不妊治療における排卵日の予知は、性交日の指導、人工授精のタイミング決定などに重要であり、臨床の場合においては、基礎体温の測定、経腔超音波断層法による卵胞径や子宮内膜厚の計測、尿中エストロゲンの微量測定、尿中luteinizing hormone (LH)微量測定などが用いられている。これらの検査は基礎体温を除いてはいずれも卵胞のいわば排卵準備段階である成熟徴候を判定する方法であり、実際の排卵日はLHサージに左右されることからその予知にはLHサージを把握することが理想的である。

近年LHサージの把握を目的としてさまざまな尿中LH測定キットが開発、普及し、その有用度が検討され¹⁻⁹⁾、操作法も1~2ステップに簡易化され、検出感度も20~25 mIU/mlと鋭敏化されてきている。しかし判定法が視覚による判定の客観性に問題があるため偽陽性、偽陰性が多いと報告されている^{8,9)}。

最近開発された尿中LH簡易測定キットである「シユアーステップ®LH」(日研化学)は、その手技操作が簡便でかつワンステップで迅速に尿中LHを半定量でき、検出感度も20 mIU/mlと鋭敏で、コントロールラインとの比較により客観的に判定できるキットである。

今回、我々は正常月経周期をもつ不妊婦人を対象として「シユアーステップ®LH」を使用し、既存の「ハイツインクロン®LH」(栄研化学)や「ゴールドサイン®LH」(森永乳業)とも比較検討し、LHサージ検出に対する基礎的、臨床的検討を行ったので報告する。

対象と方法

対象は当科不妊外来を受診中の正常月経周期を有する婦人38名(21~37歳)で、男性因子のため人工授精(AIH)を目的として通院している婦人である。観察は48周期で行い、排卵誘発周期は除外した。卵胞径および子宮内膜厚の計測は、ソノビスターCS(7.5MHZ/5MHz)(持田製薬)の経陰超音波断層法で連日行い、最大卵胞径が12mmとなった時点より、外来受診時の随時尿のLHを「シユアーステップ®LH」、「ゴールドサイン®LH」、一部では「ハイツインクロン®LH」で検出を行い、同時に尿中微量エストロゲンはハイエストロテック®法(持田製薬)で、血中LH、estra-diol-17β(E₂)はRIAで測定し、頸管粘液スコア⁹⁾も算出した。

最近開発された尿中LH測定キット「シユアーステップ®LH」は、金コロイド標識抗体を用いた免疫化学的サンドウィッチ法を応用したもので、その測定原理は図1に示した。長方形の6.3×3.6cmの反応ディスクの右方には、金コロイド抗LHモノクローナル

抗体の付着したパッドが置かれた小さな円形の尿滴下部ウエルがあり、滴下された尿中のLHは金コロイド標識抗LHモノクローナル抗体と結合し、毛細管現象によってディスク内のストリップ上を左方に移動し、テスト部に固相された抗LHポリクローナル抗体に捕捉されて複合体を形成し、赤紫色のラインを出現させる。残った標識抗体またはLHと結合しなかった陰性の標識抗体はさらに左方に展開し、コントロール部に固相されたヤギ抗マウス抗体に捕捉され、コントロールとなる赤紫色のラインを出現させる。判定はコントロール部とテスト部に出現する赤紫色を比較することで行い、コントロールラインのLH濃度は20mIU/mlと設定されている。また尿の滴下から通常数分(多くの場合1分以内)で判定可能であった。

研究成績

1 特異性(表1)

「シユアーステップ®LH」キットのfollicle stimulating hormone (FSH), thyroid stimulating hormone (TSH), human chorionic gonadotropin (hCG) 交叉反応は表1に示すように、FSH (Scripps Labo) 200 mIU/ml, TSH (Scripps Labo) 0.1 mIU/ml, hCG (Scripps Labo) 100 mIU/mlの濃度までは認められなかった。これらの成績は不妊外来の臨床における尿中LH濃度の測定には問題とならないことが判明した。

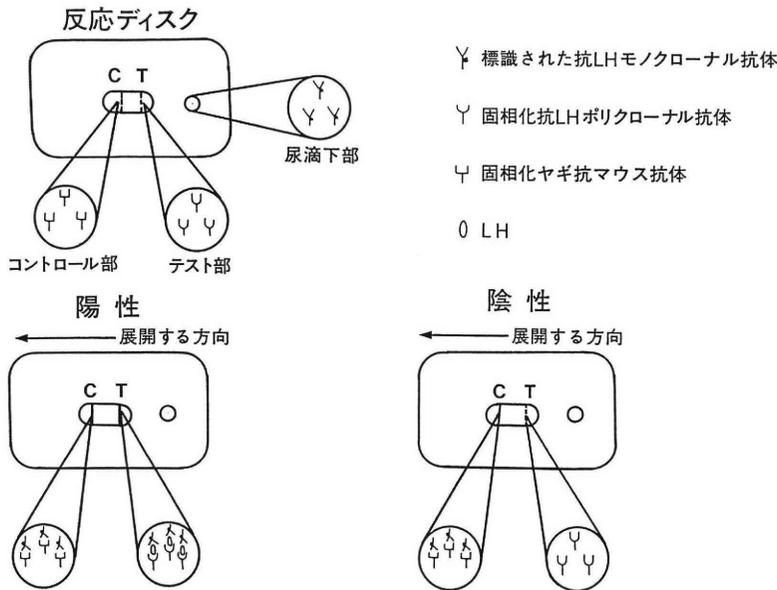


図1 測定原理

表1 シュアーステップLHキットの特異性と感度

[特異性]							
Hormone	Concentration (mIU/ml)	Reference Preparation			Visual Result		
hFSH	50, 100, 200	Scripps Labo.			Negative		
hTSH	0.05, 0.02, 0.1	Scripps Labo.			Negative		
hCG	20, 50, 100	Scripps Labo.			Negative		
[感度]							
LH濃度 (mIU/ml)	0	10	20	30	50	100	200
判定結果	(-)	(±)	(+)	(+)	(+)	(++)	(++)

hLH (WHO 1 st IS)

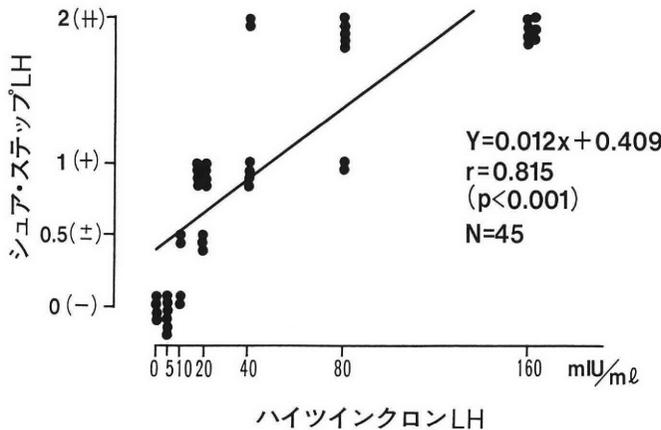


図2 シュアーステップLHとハイツインクロンLHの相関性

2 検出感度と同時再現性(表1)

WHO標準品(1st IRP-LH)であるLH10, 20, 30, 50, 100, 200 mIU/mlの各希釈液を作成し、「シュアーステップ®LH」で測定すると10 mIU/mlの検体ではテスト部にコントロール部より薄い赤紫色の(±)のラインが、20, 30, 50 mIU/mlの検体ではコントロール部と同等度の赤紫色の(+)のラインが、100, 200 mIU/mlの検体ではコントロール部より濃い(++)のラインが現われた。よって本キットの測定感度は20 mIU/mlと考えられた。また「シュアーステップ®LH」の同一ロットのキットを用いて、LH濃度10, 20, 30, 50 mIU/mlのそれぞれを10回ずつ測定すると、10 mIU/mlの検体はすべて陰性に、20, 30, 50 mIU/mlの検体はすべて陽性になり極めて良好な再現性が得られた。

3 「シュアーステップ®LH」と「ハイツインクロン®LH」との相関性(図2)

45検体の尿中LHを、「シュアーステップ®LH」と「ハイツインクロン®LH」(検出感度2.5 mIU/ml)で同時に測定した。「シュアーステップ®LH」半定量の判

定結果(-)を0, (±)を0.5, (+)を1, (++)を2と設定すると、その相関性は図2に示すように、回帰式は $Y = 0.012X + 0.409$ で相関係数は0.815と1%以下の危険率で有意な相関が得られた。「ハイツインクロン®LH」で10 mIU/ml以下の14検体は「シュアーステップ®LH」ではすべて陰性であり、「ハイツインクロン®LH」で20 mIU/mlの11検体のうち、8検体が「シュアーステップ®LH」で(+)陽性で3検体は(±)であった。

4 「シュアーステップ®LH」と「ゴールドサイン®LH」との比較(表2)

198の検体につき、「シュアーステップ®LH」と「ゴ

表2 Sure Step LH と Gold Sign LH との測定結果の比較

		Gold Sign LH		計
		陽性	陰性	
Sure Step LH	陽性	70	2	72
	陰性	7	119	126
	計	77	121	198

一致率 95.5%

表3 Sure-Step LH (SS-LH) と Gold sign LH (GS-LH) の不一致例

症例	超音波排卵日よりのDay	SS-LH	GS-LH	血中LH (mIU/ml)
1	Day-1	(+) 20 mIU/ml	(-) ※1	20
2	Day-2	(+) 20 mIU/ml	(-) ※1	23
3	Day-2	(-)	(+) 20 mIU/ml ※2	7
4	Day-2	(-)	(+) 20 mIU/ml ※2	10
5	Day-3	(-)	(+) 20 mIU/ml ※2	10
6	Day-3	(-) ※1	(+) 20 mIU/ml	19
7	Day-3	(-) ※1	(+) 20 mIU/ml	18
8	Day-4	(-)	(+) 20 mIU/ml ※2	14
9	Day-5	(-)	(+) 20 mIU/ml ※2	8

※1：偽陰性である可能性大

※2：偽陽性である可能性大

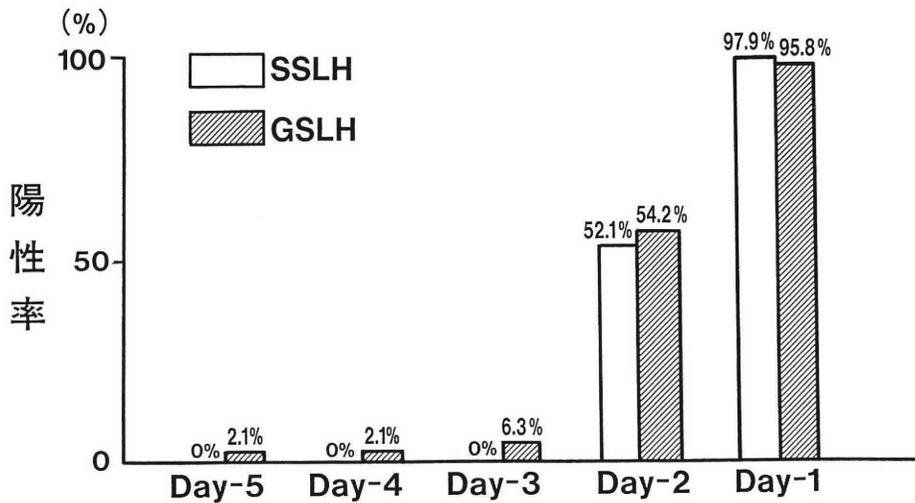


図3 排卵日 (Day 0) 前の Sure Step LH (SS LH), Gold Sign LH (GS LH) の陽性率

ールドサイン®LH」とで同時に測定し、結果を比較検討してみると、表2に示すように189検体(95.5%)で陽性、陰性の一致をみた。表3に示すように9検体で不一致例が認められたが、超音波所見や血中LH値からみると「シユアーステップ®LH」で偽陰性が2検体、「ゴールドサイン®LH」で偽陰性が2検体、偽陽性が5検体あるものと推察された。

5 排卵日までの「シユアーステップ®LH」および「ゴールドサイン®LH」の陽性率(図3)

正常月経周期を有する不妊婦人の48周期の超音波排卵日(主席卵胞消失前日)をDay 0とすると、「シユアーステップ®LH」の陽性率はDay-2で52.1%、Day-1で97.9%であり、「ゴールドサイン®LH」の陽性率はそれぞれ54.2%、95.8%で「シユアーステップ®LH」とほぼ同率であった。またDay-5~3での陽性例は「シユアーステップ®LH」では皆無であ

ったが、「ゴールドサイン®LH」ではDay-5、Day-4でそれぞれ2.1%、Day-3で6.3%に認められた。

6 「シユアーステップ®LH」、「ゴールドサイン®LH」の陽性日よりの24時間、48時間、72時間以内の排卵率(図4)

「シユアーステップ®LH」の陽性日より24時間以内に46.8%、48時間以内に100%が排卵に至った。一方「ゴールドサイン®LH」はそれぞれ32.6%、89.1%で排卵の予知率では「シユアーステップ®LH」のほうが勝っていた。

7 「シユアーステップ®LH」陽性時の排卵モニタリング値と血中ホルモン値(表4)

「シユアーステップ®LH」陽性時の平均の最大卵胞径、子宮内膜厚、頸管粘液スコア、尿中ハイエストロテック陽性率、血中LH、E₂値を表4に示す。平均最大卵胞径は18.1±1.8 mm (n=48, mean±SD)、子

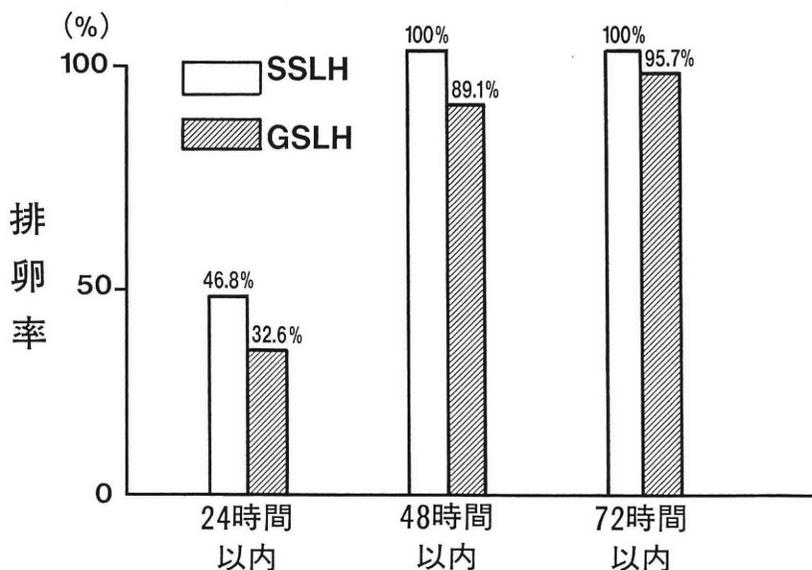


図4 Sure Step LH (SS LH), Gold Sign LH (GS LH) の陽性日より24時間, 48時間, 72時間以内の排卵率

表4 Sure Step LH陽性時の排卵モニタリング値と血中ホルモン値

卵胞径 (mm)	18.1 ± 1.8 ^{※1}	(N = 48)
子宮内膜厚 (mm)	10.3 ± 1.6 ^{※1}	(N = 48)
頸管粘液スコア (点)	8.2 ± 1.0 ^{※1}	(N = 48)
Hi-Estrotec (%) (>30ng/ml)	56.3 % (27/48)	(N = 48)
血中LH (mIU/ml)	42.6 ± 4.3 ^{※2}	(N = 21)
血中E ₂ (pg/ml)	312.3 ± 18.6 ^{※2}	(N = 21)

※1: M ± SD ※2: M ± SEM

宮内膜厚は10.3 ± 1.6 mm, 頸管粘液スコアは8.2 ± 1.0点であり, それらの95% tile 下限は卵胞径15.4 mm, 子宮内膜厚7.9 mm, 頸管粘液スコア6.7点であった. また尿中エストロゲン30 ng/ml以上の陽性率は56.3%と意外に低く, 血中LHは42.6 ± 4.3 mIU/ml (n = 21, mean ± SEM), 血中E₂は312.3 ± 18.6 pg/mlであった.

考 察

不妊症の治療, ことに人工授精のタイミングを握るにあたり, 排卵直前のLHサージを検出する目的として現在まで多くの簡易尿中LH測定法が普及し, その有用性が検討されている¹⁻⁹⁾が, 各キットによってそれぞれ操作性, 感度, 特異性などに若干の差異が認められる. SPIA (Sol particle immunoassay) 法を用いた「LHカラー®」やenzyme immunoassay法による「ゴナル®LH」などは30分程度で測定できるが,

LHの測定感度が40~50 mIU/mlと鈍く1日1回の測定ではその有用性は限定される^{1,2)}. また最近, 市販されている「エルチェックFT®」(株式会社ニプロ)や「ゴールドサイン®LH」は数分で測定可能で操作も1~2ステップと簡便であり, 測定感度も20 mIU/mlと鋭敏で, いずれもカルテに付着でき, 保存できるという利点がある^{3,4)}. しかし, いずれもコントロールがなく客観的指標に乏しいため, 微妙なスポットの時, 判定する人の主観やその時の照明条件などに影響される欠点がある⁵⁾. また「ハイツインクロン®LH」は測定感度2.5 mIU/mlというRIAにも匹敵する高感度のキットであるが, 操作方法が複雑で2時間以上の測定時間を要するため臨床応用には疑問が残る^{6,7)}.

今回, 我々が検討した「シユアーステップ®LH」は, わずか1~2分で結果が得られ, 検出感度も20 mIU/mlと鋭敏であり, 同検体を「ハイツインクロン®LH」で微量測定した結果との相関性も高く認められ, hCGとの交叉性も100 mIU/mlの濃度では認められないため通常の日常診療ではLH測定には影響を及ぼすことはないと思われる. また測定操作も従来のものと比較するときわめて簡単で, 専用スポイトで吸引した尿を尿滴下部ウェルに滴下するだけで済み, 多忙な外来の状況下でも可能である. また同一ディスク内にコントロール部とテスト部が設定され, すべての反応ディスクのコントロールラインの濃度が一定しているため, 色調を比較することにより, 卵胞

期のLHかLHサージかを客観的に判定できるという利点がある^{4,8)}。

臨床例での排卵日予知の検討では、「シユアーステップ®LH」は外来受診時の随時尿での1日1回のみの測定で排卵日前日のLHサージ検出率を97.9%と高めることができ、「ゴールドサイン®LH」の95.8%に勝るとも劣らない測定法であることがうかがわれた。両測定法の不一致例は9例に認められたが、5例は「ゴールドサイン®LH」の偽陽性例で、コントロールのないための判定ミスと考えられた。

現時点においては、排卵日の予知に血中LHサージの把握が最も理想的な方法であることはいうまでもないが、血中のLHサージの始まりは排卵の32~36時間前に、LHピークは10数時間前に起こるという報告が多く、血中LHサージと尿中LHサージとのtime lagは数時間と短いため、血中と尿中のLHピークはほぼ一致すると考えられている^{9,10)}。このことに関してThomasら¹¹⁾は尿中LHサージ後30時間後に、Lopata¹²⁾は26~28時間後に排卵が生ずると報告している。今回の我々の成績からみると、「シユアーステップ®LH」陽性時から24時間以内に46.8%、48時間以内に100%が排卵に至っており彼らの報告と一致する。百枝ら⁷⁾は、「ハイツインクロン®LH」を用いて卵胞期の尿中LH基礎値は5 mIU/ml未満が45%、5 mIU/mlが40%、10 mIU/mlが15%に認められ、1日以内に4倍以上、かつ20 mIU/mlに上昇した場合をサージの上行脚として、その脚の起点をサージの開始点と報告している。しかし、臨床の場においては、尿中LH値が20 mIU/mlを超えた場合はLHサージの上行脚、ピーク、下行脚のいずれかと考えてよく⁹⁾、12時間以内の短期LHサージの症例でない限り、1日1回の随時尿の本法のチェックのみでLHサージを捕捉できるものと思われる。

さらに、今回は自然排卵周期で「シユアーステップ®LH」が陽性になった時点での最大卵胞径、子宮内膜厚、頸管粘液スコアなども算出したが、その95% tile 下限の数値により、卵胞径15 mm、子宮内膜厚7 mm、頸管粘液スコア6点を超えた時点で本法で1日1回の随時尿を測定し、陽性になれば24時間以内にはほぼ半数例、48時間以内に全例の排卵の予知が可能で、今後、不妊治療のスケジュールの決定ことに人工授精(AIH, AID)施行日の決定や性交日指導にきわめて有用であると考えられた。

稿を終えるにあたり、本研究にご協力いただいた

日研化学株式会社に謝意を表します。

なお本論文の要旨は、1994年10月27日第39回日本不妊学会学術講演会で発表した。

文 献

- 1) 田辺清男, 田村 勉, 角ゆかり 他(1988)尿中LH簡易検出試薬「オルガノンLHカラー」の基礎的ならびに臨床的検討. 日不妊会誌 33: 759-768
- 2) 永沼孝子, 高浜一宏, 石川元春 他(1988)酵素免疫法を応用した尿中LH簡易測定キット, ゴナール[LH]の基礎的検討および臨床応用. 産婦の世界 40: 975-984
- 3) 徳川吉弘, 佐治文隆, 谷澤 修(1990)新しい尿中LH簡易測定キット(エルチェック®)の基礎的ならびに臨床的検討. 産婦の世界 42: 451-455
- 4) 児玉英也, 福田 淳, 軽部祐子 他(1995)「シユアーステップLH」での尿中LH測定による排卵予知. 産婦の世界 47: 137-142
- 5) 桜岡 陸, 勝又紀子, 原田義次 他(1993)尿中hLH簡易検出試薬「ゴールドサインLH」の色素計による測定. 臨床検査機器・試薬 16: 535-540
- 6) 広井正彦, 川越慎之助, 斎藤英和 他(1990)尿中LHおよびhCG半定量試薬の臨床への応用. 臨産産 44: 713-718
- 7) 百枝幹雄, 鈴木尚子, 郭 宗明 他(1991)高感度尿中LH測定キットの臨床的有用性の検討. 日受精着床誌 8: 65-71
- 8) 河野康志, 松井尚彦, 奈須家栄 他(1995)尿中LH測定試薬(シユアーステップ®LH)の基礎的・臨床的検討. 産と婦 62: 917-921
- 9) 小田隆晴, 高橋一広, 木原香織 他(1992)尿中微量LH半定量測定によるLHサージ検出の基礎的・臨床的研究. 日不妊会誌 37: 266-271
- 10) World Health Organization Task Force Investigators (1980) Temporal relationships between ovulation and defined changes in the concentration of plasma estradiol-17 β , luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and progesterone. Am J Obstet Gynecol 138: 383-390
- 11) Thomas K and Ferin J (1970) Comparative studies of LH levels in plasma and unconcentrated urine determined by radioimmunoassay and heamoagglutination inhibition. Acta Endocrinol (suppl) (Copenh) 141: 75-79
- 12) Lopata A (1981) In vitro fertilization and embryo transfer in the treatment of infertility. Organorama 18: 3-9

(受付: 1997年2月27日)

(受理: 1997年5月20日)

Basic and clinical studies on the detection of LH surge using the highly sensitive, simplified and semiquantitative urinary 「Sure-Step® LH」 assay kit

Takahare Oda, Sayaka Miura, Yuuichi Komiya,
Kazuhiko Kimura and Tutomu Ohno

Department of Obstetrics and Gynecology
Yamagata Prefectural Kahoku Hospital, Yamagata 999-35, Japan

Urinary LH concentrations during 48 spontaneous ovulatory cycles in 38 infertile women were measured using a simplified and semiquantitative urinary LH assay kit (Sure-Step® LH kit) with a detection sensitivity of 20 mIU/ml to evaluate the basic and clinical investigation. The simultaneous reproducibility of this kit was available and no cross reactions was found at 100 mIU/ml of hCG, 0.1 mIU/ml of TSH, and 200 mIU/ml of FSH. A significant correlation ($r = 0.815$) was demonstrated the levels of urinary LH using 「Hi-Twin-clon LH」 kit (Eiken Kagaku). The positive rate of LH in the urine collected in the morning of a day before ovulation was high (97.9 %). In the day of positive result for LH, the diameter of ovarian follicles was 18.1 ± 1.8 mm ($n = 48$, mean \pm SD), the thickness of the uterine endometrium was 10.3 ± 1.6 mm, the cervical mucous score was 8.2 ± 1.0 , blood LH concentrations were 42.6 ± 4.3 mIU/ml ($n = 21$, mean \pm SEM) and the blood E_2 concentrations were 312.3 ± 18.6 pg/ml, respectively. The disappearance of the ovarian follicles was confirmed in all cases within 48 hours of the day in which positive result was obtained for LH.

From our results during spontaneous ovulatory cycles, ovulation can be detected using this 「Sure-Step® LH」 kit when the diameter of the ovarian follicle is more than 15 mm. Accordingly, it is anticipated that this method will be applied to infertile women in the future.

Key words: infertility, LH surge, urinary LH assay kit

卵細胞質内精子注入法による不妊治療症例の 卵胞期初期FSH値に関する検討

Significance of Early Follicular FSH Levels in Patients Underwent Intracytoplasmic Sperm Injection

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科学教室

田谷 順子 Junko TAYA	石原 理 Osamu ISHIHARA	斎藤 正博 Masahiro SAITOH
荒井 邦子 Kuniko ARAI	沼里 ひとみ Hitomi NUMARI	木下 勝之 Katsuyuki KINOSHITA

Department of Obstetrics and Gynaecology
Saitama Medical Centre, Saitama Medical School, Saitama 350, Japan

埼玉医科大学総合医療センター泌尿器科

内島 豊
Yutaka UCHIJIMA

Department of Urology
Saitama Medical Centre, Saitama Medical School, Saitama 350, Japan

男性因子による不妊症症例72例を対象として、97周期の卵細胞質内精子注入法 (ICSI) による治療を行った。

この結果、93例 (95.9%) で胚移植が可能で、31周期 (33.3%) に妊娠が成立した。これらの症例を卵胞期初期のFSH基礎値により分類し、採卵数、獲得胚数、妊娠率を検討すると、FSHの上昇により、これら臨床成績はいずれも有意の低下を見た。40歳未満では、年齢は臨床成績に影響を与えず、同様にhCG投与時のプロゲステロンの上昇もICSIの臨床成績に影響を与えなかった。

ICSI症例を検討対象とすることにより、受精および初期胚発生期の条件を均一にした症例群における内分泌学的背景を検討することが可能となり、より明快な結論を得られる可能性がある。

キーワード：ICSI, 卵胞期初期FSH値

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 265 - 270, 1997)

緒言

1992年にPalermoらりが初めて報告した卵細胞質内精子注入法 (ICSI) は急速に普及し、現在、顕微授精法の中心を占めるに至った。そして、ICSIにより受精し得られた胚の質は、精液所見や精子の採取法 (射出精子あるいは精巣上体精子) にほとんど依存しないことが報告されている²⁾。また、この方法では、

単一精子を卵子に注入し受精卵を得るため、培養液中には他の精子は存在せず、胚の初期発生過程の培養条件はほぼ均一なものと考えられる。したがって、ICSIにより得られた胚の、分割率、着床率、さらにその予後としての妊娠率の良否は、各症例の採卵までの内分泌的背景の相違と関係がある可能性がある。そこで本論文では、胚の初期発生と妊娠の成立が、症例の卵胞期初期血中FSH値またはhCG切り替時の

プロゲステロン(P₄)値と相関する可能性を検討し、今後の効率的な不妊治療のための内分泌的検査の意義を明らかにすることを試みた。

対象と方法

埼玉医科大学の倫理委員会による承認(1995年7月22日付)後、1996年12月末までに、当科において施行したICSI症例全例、72例97周期を対象とした。対象の年齢は平均34.2±4.8(mean±S.D.)歳(26~44歳)で、40歳の経産婦1例を除き未産婦である。これらの症例のICSIの適応は表1のように、高度乏精子、精子無力症、閉塞性無精子症、conventional IVFにおける原因不明受精障害およびハムスターテスト陰性症例である。いずれも射出精液あるいは精巣上体より運動精子の得られた症例である。

排卵誘発法は、原則として、酢酸ブセレリン(スプレキュア[®]、ヘキストジャパン)のlong protocolによる内因性性腺刺激ホルモンの抑制後、FSH(フェルチノームP[®]、セローノジャパン)およびhMG(ヒュメゴン[®]、三共)を投与し、主席卵胞径が18mmを越えた時点でhCG10,000IUを投与した。

一部のpoor responderにおいては月経開始時からshort protocolによる排卵誘発を行った。hCG投与後約35時間後に超音波下経腔採卵を行い、卵子は10% Synthetic Serum Substitute (SSS: Irvine Scientific)を添加したHuman Tubal Fluid (HTF: Irvine Scientific)中で6~7時間の前培養後、80IU/mL Hyaluronidase (Sigma)処理とpipetting操作で卵丘細胞を除去した。またICSIには第一極体の放出された成熟卵のみを用いた。

一方、採取した精液より、2層Percoll (Pharmacia)法で精子を洗浄回収し、精子数多数の場合はさらにSwim-up法を用いた。顕微操作に必要なInjection Chamberは10mm Dish (Falcon 3003)の蓋の内側にHepes buffered HTF (M-HTF: Irvine Scientific)に10% Polyvinyl Pyrrolidone (PVP: Irvine Scientific)を添加した精子浮遊液用Dropと30% SSS添加卵子操作用Dropを作成し、その上をMineral oil (Sigma)で覆って用いた。

表1 卵細胞質内精子注入法の適応

高度乏精子症	21例
精子無力症	3例
閉塞性無精子症	4例
IVFにおける受精障害または低受精率	11例
ハムスターテスト陰性	33例
計	72例

た。また精子浮遊用のDropには、PVPの最終濃度が8%となるように精子液を添加し、卵子は各Dropごとにひとつずつとした。

精子注入用pipetteはRML社製を、卵保持用PipetteはCook社製の市販品を用いた。位相差顕微鏡(Olympus IMT-2)にはMicromanipulator (Narishige MN-2, MO-202)を装着し、Pipetteをそれぞれのmicroinjector (Narishige IM-5B)に接続した。ICSIは注入用Pipetteにより不動化した精子を尾部から吸引し、卵子を保持用Pipetteで固定後、微量の細胞質吸引操作を加えながら、精子を卵細胞質内に注入した。

精子注入後約15時間で受精(前核)を確認し、45時間後に2から6細胞へ発生した受精卵を2ないし4個、超音波断層法下で子宮内へ移植した。また、採卵日以後、luteal supportとしてプロゲホルモン(持田)50mgを連日14日間筋注投与した。

なおホルモン測定は、LHおよびFSHはACS-180を用いた免疫蛍光法、エストラジオール(E₂)およびP₄についてはRIA固相法により行った。また妊娠判定はET後14日にまず施行し、尿中hCG 50IU/l定性検査で陽性症例に対しては、さらにプロゲホルモン50

表2 採卵受精成績と臨床成績

症例数	72
採卵周期数	97
採卵総数	807
精子注入卵子数	641
損傷卵子数	34
損傷率	5.3% (34/641)
受精卵子数(2PN)	505
受精率	78.8% (505/641)
卵割受精卵数	500
卵割率	99.0% (500/505)
胚移植施行周期数	93
胚移植率	95.9% (93/97)
全胚移植数	311
平均胚移植数	3.3 (2~4)
妊娠周期率	31
妊娠率(ETあたり)	33.3% (31/93)
(妊娠率(症例あたり))	43.1% (31/72)
流産周期数(子宮外妊娠を含む)	8
流産率	25.8% (8/31)
挙児およびon-going妊娠数	23
挙児率(on-goingを含む)	24.7% (23/93)
多胎妊娠周期(全例双胎)	7
多胎妊娠率	22.6% (7/31)

mgを14日間投与した。また、尿中hCG陽性のみの化学的妊娠は妊娠症例に含めず、胎囊の確認後に妊娠と評価した。データの統計的処理には、t検定および χ^2 検定を用いた。

結 果

検討の対象としたICSI施行72症例97周期の採卵受精成績および臨床成績のまとめを表2に示す。胚移植した全周期に4細胞にまで分割した胚を2から4個移植することが可能であった。これら治療周期のうち31症例31周期に妊娠が成立した。また、流産および子宮外妊娠となった8例を除く23例がon-going妊

娠となった。

これらの症例の内分泌的背景として酢酸ブセレリン投与前周期の卵胞期初期(月経開始から5日以内)のFSH基礎値により症例を分類し、各群の採卵受精成績および臨床成績をまとめると表3ようになる。採卵受精成績および臨床成績は、FSH基礎値の上昇により有意に低下し、FSH基礎値が10 mIU/ml以上の症例においては、これまで妊娠例が得られていない。

一方、FSH基礎値の上昇と関連してしばしば指摘される症例の年齢により各症例を分類し、各群の採卵受精成績および臨床成績を同様に検討すると、表4ようになる。39歳までは、年齢の上昇によるICSI

表3 卵胞初期FSH基礎値とICSI採卵受精成績および臨床成績の関係

FSH(mIU/ml)	<6	6~8	8~10	10<	
症例数#	22	23	18	7	
周期数#	27	35	23	9	
平均採卵数	9.7 ± 6.1**	9.6 ± 6.3*	6.2 ± 3.6	3.9 ± 2.5*	**
平均ICSI施行卵数	7.8 ± 4.4**	7.3 ± 4.4*	5.0 ± 2.8	3.3 ± 1.8*	**
受精率(%)	80.6	78.0	81.9	66.7	N.S.
平均獲得胚数	6.3 ± 3.4***	5.7 ± 3.8*	4.1 ± 2.3	2.2 ± 1.9*	***
平均胚移植数	3.5 ± 0.6****	3.2 ± 1.1*	3.1 ± 1.3	2.1 ± 1.4*	****
妊娠率	14	10	6	0	P < 0.02
妊娠率(%)	63.6	43.5	26.1	0	
on-going数	10	7	6	0	N.S.
on-going率	45.5	30.4	26.1	0	

FSH基礎値の不明な2症例3周期は除外してある(mean ± S.D.)

*P < 0.02, **P < 0.01, ***P < 0.002, ****P < 0.001 (t検定)

受精率、妊娠数およびon-going数は χ^2 検定 N.S.: not significant

表4 症例の年齢とICSI採卵受精成績および臨床成績の関係

年齢(歳)	<29	30~34	35~39	40<	
症例数	15	27	20	10	
周期数	18	37	30	12	
平均採卵数	10.3 ± 7.6*	9.3 ± 5.4	6.7 ± 5.2	5.6 ± 2.6*	
平均ICSI施行卵数	7.7 ± 4.8*	7.6 ± 4.2	5.2 ± 3.7	4.7 ± 1.6*	
受精率(%)	84.0	73.7	83.9	82.1	N.S.
平均獲得胚数	6.4 ± 4.4	5.6 ± 3.7	4.4 ± 2.8	3.8 ± 1.3	N.S.
平均胚移植数	3.4 ± 0.9	3.1 ± 1.3	3.1 ± 1.3	3.4 ± 0.9	N.S.
妊娠数	7	14	10	0	N.S.
妊娠率(%)	46.7	51.9	50.0	0	N.S.
on-going数	6	9	8	0	N.S.
on-going率(%)	40.0	33.3	40.0	0	N.S.
FSH基礎値	7.2 ± 1.7	7.9 ± 3.2	7.9 ± 3.2	9.7 ± 7.0	N.S.

(mean ± S.D.)

*P < 0.05, N.S. not significant (t検定)

受精率、妊娠数およびon-going数は χ^2 検定 N.S.: not significant

表5 hCG切替時のプロゲステロン値と臨床成績の関係

プロゲステロン値(ng/ml)	< 1.5		1.5 <		
	—	+	—	+	
妊娠成立の有無					
周期数	50	22	13	6	
妊娠率(%)		30.6		31.6	N.S.
平均採卵数	6.6 ± 4.5****	8.3 ± 6.1#	12.3 ± 6.7****	13.2 ± 7.8#	
平均ICSI施行卵数	5.3 ± 3.6****	6.5 ± 4.5#	9.8 ± 4.5****	10.2 ± 3.8#	
受精率(%)	76.8	81.3	70.9	90.2	N.S.
平均獲得胚数	4.1 ± 2.8***	5.3 ± 3.3**	6.9 ± 3.9***	9.2 ± 3.7**	
平均胚移植数	2.9 ± 1.4*	3.3 ± 0.8#	3.7 ± 0.6*	3.8 ± 0.5#	
採卵時E ₂ (pg/ml)	1418 ± 1120****	1709 ± 1227*	3436 ± 1458****	3009 ± 1849*	

プロゲステロンの採血を行っていない6例は除外してある (mean ± S.D.)

*P < 0.05, **P < 0.02, ***P < 0.002, ****P < 0.001, #N.S., (t検定)

受精率, 妊娠率は χ^2 検定 N.S.: not significant

の成績の低下は明らかでない。しかし、40歳以上の妊娠例はなく、平均採卵数は他の年齢群に比し、有意に少なかった。

hCG投与時のP₄の値による臨床成績を1.5 ng/mlで症例を二分し比較すると、表5のようになるが、両群間で妊娠率に及ぼす影響は認められない、しかし、同時に測定したE₂値、採卵数とその後の獲得胚数などは、P₄上昇症例にもむしろ有意な増加が認められた。

考 察

体外受精胚移植 (IVF-ET) による不妊症治療症例について、その治療成績と症例の内分泌的背景に関する検討がこれまで数多くなされてきた³⁻¹⁰⁾。とくに、卵胞期初期の高FSH血症の存在が、妊娠成立のためには好ましくないとする報告、またはhCG投与時のプロゲステロン (P₄) の上昇が好ましくないとする検討は多く、一方これらの結果と相反する報告もみられる。この不一致の理由として、IVFの適応となった不妊症の原因が卵管因子など明らかなものばかりでなく、男性因子や未解明なものが含まれるため、内分泌的背景を検討する際に、対象とする症例が必ずしも均一なグループとならないことが関係する可能性がある。さらにこれと並んで、IVFによる妊娠成立のためにもっとも重要な要因と考えられ、症例の内分泌的背景に影響される採卵時の卵子の質のみでなく、その後の精液所見や媒精条件、その後の培養条件の不均一性に胚の初期発生と治療成績が大きく左右されることが否定できない。

男性不妊症の治療へのICSIの導入は、不妊症治療の飛躍的進歩のひとつであるが、その意義は単に治療困難であった症例の妊娠を可能とただけではな

く、ヒトにおける受精および初期胚発生条件をほぼ均一化したひとつの症例群を提供したことにあると考えられる。この仮定の基に、まず症例の背景のひとつとなる卵胞期初期FSH値と採卵受精成績および臨床成績の関係を検討した。従来から、基礎FSH値が正常範囲を逸脱したPremature Ovarian Failureに近い病態では成績の不良であることが明らかであるため、今回はほぼ正常とされる10 mIU/ml以下を三層にグループ化し検討した。その結果、表3のように、FSHの上昇にしたがって、受精率に有意な差は認められないが採卵数に明らかな差があるため、獲得胚数と移植胚数が有意に減少することが明らかとなった。したがって、妊娠率およびon-going妊娠率も、FSH値に平行して減少した。このことは、従来正常範囲内と考えられていた、軽度のFSH上昇ですら、採卵数の減少を介してICSIによる治療の妊娠期待値に影響を与えることを示すものと思われる。

FSH基礎値は、基本的には年齢により上昇することが知られているため表4のように年齢により層化したグループで同様に検討すると、平均採卵数は年齢とともに減少するものの、40歳未満では妊娠率、on-going率に差はなく、40歳以上ではじめて有意に悪化する。さらに、40歳以上ではFSHの上昇をとともなう頻度が増加することも加わることから、臨床成績が不良になると思われる。FSH基礎値の調節に影響する因子は、卵巣由来のステロイドホルモンのみでなく、インヒビンや卵巣における受容体レベルでの関与などの可能性がある。現時点で結論を出すことはできないが、年齢の高低にかかわらずFSHの高値の症例の治療成績の芳しくないことは、個体の生物学的年齢よりも卵巣のagingがなにより治療成績に

与える影響の大きいことを示している。またICSIの治療成績の向上のためには、FSH値を参考にした症例の選択が考えられる。

一方、今回の検討では、これまでのいくつかの報告とは異なり、hCG切替時のP₄の上昇は、臨床成績に影響を与えなかった。P₄が1.5 ng/ml以上に上昇した群において、妊娠成立不成立のいずれにおいても採卵数や獲得胚数が優位に多く、これにともなって同時に測定したE₂も有意に高値であることから、IVFやICSIのためのGnRHアナログを併用した過排卵周期においては、P₄の上昇は、多数の発育した卵胞により産生されたP₄の総計と解釈することが可能と思われる。すでにoocyte donation programmeによるデータから、P₄の上昇の卵自体に与える影響は臨床成績から見る限り、大きくないことが明らかとなっている¹¹⁾が、同様に、P₄の上昇があっても、着床を阻害するほど大きな子宮内膜に与える影響はない。いい換えればヒトにおけるimplantation windowの幅は予想外に大きい可能性が示唆された。

上記成績から、臨床成績に明らかに影響を与える採卵前の内分泌的背景として、FSH基礎値が有用である可能性が示唆された。したがって、ICSI施行症例に対しては事前にFSH測定を行い、FSHが10 mIU/ml以上の症例では、その妊娠成功率はあまり期待できない可能性があると思われる。そしてFSH上昇症例における臨床成績の悪化が、単に発育卵胞数の減少によって説明し得るのかどうかは、recombinant FSHの導入によるより高用量FSHの排卵誘発を用いて、より多数の卵を得ることが可能となったときに明らかとなると思われる。また、ICSI症例に限定したこのような検討を行うことにより、従来より均一化された対象を扱うことができるため、これまで困難であった不妊症治療の臨床におけるさまざまなパラメーターと臨床成績の検討がより明解な結論につながる可能性が示唆され、今後の応用が期待される。

文 献

1) Palermo G, Joris H, Devroey P, et al. (1992) Pregnancies after intracytoplasmic injection of single

- spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 340: 17-18
- 2) Van Steirteghem A, Nagy P, Joris H, et al. (1996) The development of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 11 (suppl 1): 59-72
- 3) Scott RT, Toner JP, Muasher SJ (1989) Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 51: 651-654
- 4) Toner JP, Philput CB, Jones GS et al. (1991) Basal follicle stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. *Fertil Steril* 55: 784-791
- 5) Feldberg D, Goldman G, Ashkenazi J, et al. (1989) The impact of high progesterone levels in the follicular phase of in vitro fertilization cycles: a comparative study. *J In Vitro Fert Embryo Transfer* 6: 11-14
- 6) Mio Y, Sekijima A, Iwabe T, et al. (1992) Subtle progesterone rise in serum progesterone during the follicular phase as a predictor of the outcome of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 56: 159-166
- 7) Hoffmann GE, Bentzien F, Bergh PA, et al. (1993) Premature luteinization in controlled ovarian hyperstimulation has no adverse effect on oocyte and embryo quality. *Fertil Steril* 60: 675-679
- 8) Ubaldi F, Smits J, Wisanto A, et al. (1995) Oocyte and embryo quality as well as pregnancy rate in intracytoplasmic sperm injection are not affected by high follicular phase serum progesterone. *Hum Reprod* 10: 3091-3096
- 9) Hoffman GE, Thie J, Khoury J, et al. (1996) Premature luteinization during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and embryo transfer has no impact on pregnancy outcome. *Fertil Steril*. 66: 980-986
- 10) Ishihara O, Taya J, Iino Y, et al. (1993) The significance of luteal support for in vitro fertilization and embryo transfer patients. *Jpn J Fertil Steril* 38: 629-634
- 11) Younis JS, Simon A, Laufa A (1996) Endometrial preparation: Lessons from oocyte donation. *Fertil Steril* 66: 873-884

(受付: 1997年3月27日)

(受理: 1997年5月23日)

**Significance of early follicular FSH levels
in patients underwent intracytoplasmic sperm injection**

Junko Taya, Osamu Ishihara, Masahiro Saitoh
Kuniko Arai, Hitomi Numari and Katsuyuki Kinoshita

Department of Obstetrics and Gynaecology
Saitama Medical Centre, Saitama Medical School, Saitama 350, Japan

Yutaka Uchijima

Department of Urology
Saitama Medical Centre, Saitama Medical School, Saitama 350, Japan

Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) was performed for 97 cycles of 72 couples with infertility caused by various male factors. Of 93 embryo transfer (ET) cycles after ICSI, 31 women became pregnant (33.3% of ET). Endocrinological assessment revealed that there was a significant negative correlation between early follicular FSH levels and the success rate of ICSI as well as the number of oocytes retrieved and that of embryos transferred. Neither patients' age nor progesterone levels at the time of hCG injection affected the success rate of ICSI.

We, therefore, conclude that endocrinological background of the patients seemed to intensely reflect clinical results as the condition of fertilization and early development of the embryos were relatively equal in ICSI cases.

Key words: ICSI, early follicular FSH levels

精子各種運動能の指標と妊孕性との関連

Relationship between Sperm Motion Characteristics and Fertility

横浜市立大学医学部産科婦人科学教室

八ッ橋 良三

Ryozo YATSUHASHI

Department of Obstetrics and Gynecology

Yokohama City University, School of Medicine, Kanagawa 236, Japan

精子各種運動パラメーターとウシ頸管粘液貫通能(ペネトラクテスト), スイムアップ回収精子, ヒューナーテスト, ハムスターテスト, 妊娠との関連を検討した. ペネトラクテストの成績は高速運動精子数と強い相関を認めた. ステップワイズ重回帰分析で精子濃度, 運動速度は正の偏回帰を示し, 比較的低速な運動速度分布度数と負の偏回帰を示した. ハムスターテストと精子濃度は正の相関を, 直進性とは負の相関を示した. ステップワイズ重回帰分析では直進性は負の偏回帰を示し, 高速な運動速度分布度数は正の偏回帰を示した. 妊娠成立群は妊娠非成立群に比し, 運動率と高速運動精子数が有意に高値を示した. 運動速度と直進性の度数分布を変数に加え判別分析をしたところ, 判別の中率67.0%であった. さらにペネトラクテストを変数に追加したところ判別の中率82.8%であり, 直進性の低い階級の重要性を認めた. ウシ頸管粘液貫通能, ハムスターテスト, 妊娠成立群に共通して, 運動速度および高速運動精子数の重要性が示された. また, ハムスターテスト, 妊娠成立群に共通して運動直進性の関与が示された.

キーワード: 精子運動能, ハムスターテスト, ウシ頸管粘液貫通能, 精液静置法, 判別分析

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 271 - 280, 1997)

緒言

不妊症の臨床において従来より, 精子の機能の評価は不可欠で, 妊孕性を考えるとき, 精子の機能の中でも精子運動能は頸管粘液通過, 透明帯通過との関係も含め最も重要な因子のひとつである. 実際に不妊の夫婦についての prospective study や AID の精子の検討¹⁻⁴⁾で精子運動能測定の有用性が報告されてきている. 運動能の評価法についてはさまざまな方法が検討され, 精子の各種運動特性と, 妊孕性との関係が検討されてきた. そして, この客観的評価法として, 精子自動分析装置 (CASA System) が開発され用いられてきている. そこで本研究ではコンピューターを用いた精子自動分析装置を用いて不妊外来患者配偶者の精子運動能を測定し, ヒューナーテスト, ウシ頸管粘液貫通試験 (ペネトラク[®]), 透明帯除去ハムスター卵侵入試験 (ハムスターテスト), スイムアップ法の成績と精子運動能との関連性を検討し, さらに妊娠成立例と妊娠非成立例について精

子運動能を比較し, この2群の判別を試み, 精子運動能測定 of 臨床的意義について検討した.

研究方法

当科不妊外来を受診した患者112例を対象に, 精子自動分析装置 Cell Soft (CRYO Resources Ltd. NY, USA)⁵⁻⁸⁾を用いて, 運動特性の測定をした. 精液は液化後, マクラーカウンターに滴下し, Cell Soft により精子濃度 concentration ($\times 10^6/ml$), 運動率 motility (%), 運動速度 curvilinear velocity ($\mu m/sec$), 精子頭部運動頻度 beat cross frequency (HZ), 頭部振動振幅 amplitude of lateral head movement (μm), 最大頭部振動振幅 (μm), 直進 linearity の運動特性を測定した. このうち運動速度は $10 \mu m/sec$ ごとの階級で度数分布を測定した. なお, straight line velocity は単位時間に精子が動いた軌跡の始点と終点間の直線距離を単位時間で割った値であり, curvilinear velocity は1秒間のフレーム数の各点で精子頭部の位置を求め各点間の距離を総和した距離である. また average path velocity

は精子頭部の軌跡を前後数フレーム間で移動平均する事により平均軌跡を求め、その距離を単位時間で割ったものである。そして直進性はstraight line velocity/curvilinear velocityの関係により求められ、この値は0から1の値を取るがCell Softはこれを0から10に変換しその度数(%)で表示する。これより、運動直進性は直進するものを10、一周して原点に戻ってしまうものは0となる。さらに40 μ m/sec以上で運動する運動精子数と、またハイパーアクチベーションを示した精子のMbizoらの定義⁹⁾を参考にし、運動速度70 μ m/sec以上の高速で運動する精子数についても検討した。

1 従来法と精子自動分析法との比較

マクラーチェンバーを用いて運動率、精子濃度を測定し、Cell Softによる測定値との相関を検定した。つぎに各種運動能について、ウシ頸管粘液貫通能試験、ヒューナーテスト、透明帯除去ハムスター卵侵入試験(ハムスターテスト)との関係を調べ、さらにスイムアップ前後の運動能の変化についても検討した。

2 各種精液検査法と精子運動能との関係について

ウシ頸管粘液貫通能はペネトラック (Seron Diagnostics, MA, USA) を用いて測定した。ペネトラックは発情期ウシ頸管粘液を扁平ガラス毛細管(長さ10 cm, 幅0.4 cm, 厚さ0.15 cm)に充填し、凍結保存したもので、テスト使用時室温で解凍、一端を折り毛細管を開放する。精液は液化後ペネトラック専用容器に0.2 ml注入し、ここにガラス毛細管の開放された一端を浸して立てる。90分間室温で放置したのち、毛細管を取り出し100倍あるいは200倍にて検鏡、開放端より最も移動した精子の移動距離を測定した。なお従来¹⁰⁻¹⁷⁾を参考にし移動距離25 mm以上を良好群、それ以下を不良群とした。スイムアップはHTF培養液¹⁸⁾を用い静置法により1時間培養し、その上清中の精子を運動解析した。スイムアップ後にもスイムアップ後の上清を用いてペネトラックテストを施行した。ヒューナーテストは性交後6時間以内に行い、400倍視野中に6個以上の運動精子を認めたとときヒューナーテスト良好とし、それ以外は不良群とした。

ハムスターテストは凍結ハムスター未受精卵(日本農産工業(株))を使用した。精液は用手法により採取し、液化後、精子を1時間、37 $^{\circ}$ C、でスイムアップし、上清の運動良好精子を回収。遠心洗條(2回、390 g \times 5分)した後、精子濃度を5 \sim 10 \times 10⁶/mlに

調整し、3.5% HSA含有m-BWW液で2時間前培養した後、媒精に使用した。ハムスター卵は、38 $^{\circ}$ Cの温湯中にて急速融解し、深型ホログラス中にて、0.1% hyaluronidase含有m-BWW液で3回洗浄、さらに0.1% trypsin含有m-BWW液中で、透明帯を融解した。paraffin oil中で前記調整済みの精子懸濁液で媒精し、媒精後4時間培養器(5% CO₂, 95% 空気, 37 $^{\circ}$ C)内で培養した。その後卵子の核相をホールマウント法で判定し、400倍相差顕微鏡で、膨化した精子頭部または雄性前核、および付随する尾部の存在により、精子侵入の有無を判定した。従来¹⁹⁻²²⁾を参考にし、侵入率10%で良好群と不良群を分けた。

3 妊娠成立群と妊娠非成立群との精子運動能の比較

精子運動解析を施行後、妊娠の成立した53例を妊娠成立群、検査後1年半以上経過しても妊娠の成立していない59例を妊娠非成立群として両群間の運動解析結果を比較した。なお、高度の精子減少例、卵管閉鎖例、卵巣性無月経症例は除外した。

4 統計処理について

データは精子濃度、精子運動速度、頭部振動頻度、40 μ m/sec以上で運動する精子の数、70 μ m/sec以上で運動する精子数、ハムスターテスト成績を対数変換した、また直進性と運動速度の度数分布は各階級値を平方根変換したのち計算に使用した。検定はMann-WhitneyのU検定により施行した。各種精液検査法と運動能との重回帰は、ステップワイズ重回帰法(変数増減法)で行った。ステップワイズ重回帰法は従属変数(各種精液検査結果)を最も良く予測する最適な独立変数(各種精子運動能)の組を選ぶ解析手法であり、多重共線性を検定して行った。ヒューナーテストとウシ頸管粘液貫通能との比較は2 \times 2表による χ^2 検定で行った。直進性の妊娠、妊娠非成立の2群間での検定は分散分析の手法で行った。さらに妊娠、妊娠非成立の2群を判別する目的で多変量解析の手法である判別分析を施行した。判別分析は妊娠成立、妊娠非成立の2群の等分散性について分散共分散行列の検定を行い、増減法で多重共線性の検定をして行った²³⁾。

結 果

1 従来法と精子自動分析法との比較

精子濃度について、従来の実視下による測定結果とCell Softによる測定結果とは相関係数は $r=0.9522$ ($n=22$, $P<0.01$)で有意の相関を示した。運動率は、 $r=0.6371$ ($n=20$, $P<0.01$)で有意の相関を示した。

2 各種精液検査法と精子運動能との関係について

1) ウシ頸管粘液貫通試験(ペネトラック)と精子運動能

50検体について精子移動距離との相関をみると(n=50), 40 μ m/sec以上で運動する精子の数は $r=0.5251$ ($P<0.01$)の有意な相関を認めた。また70 μ m/sec以上で運動する精子の数と $r=0.4302$ ($p<0.01$), 精子濃度とは $r=0.3741$ ($P<0.01$)の相関を認めた(表1)。各種運動パラメーター, 直進性分布の度数および運動速度分布の度数, 40および, 70 μ m/sec以上で運動する精子数を変数として, ペネトラックテストの成績との間で変数増減法によるステップワイズ重回帰分析を施行した。その結果, 精子濃度($\times 10^6$ /ml, 標準偏回帰係数0.5336, F値13.5), 運動速度(μ m/sec, 標準偏回帰係数0.4550, F値8.9), さらに運動速度度数分布の30 μ m/secの階級の相対頻度(%), 標準偏回帰係数-0.4009, F値8.2)が最良な変数として採用された(重相関係数 $r=0.7390$, 自由度調整済み重相関

係数 $r=0.7026$).

従来の文献¹⁰⁻¹⁷⁾よりペネトラックテストの成績25mmで良好群(n=38), 不良群(n=12)にわけると, 運動率と精子頭部運動頻度がペネトラック良好群で有意($P<0.05$)に高値を示した, 又40 μ m/sec以上で運動する精子数, 70 μ m/sec以上で運動する精子数は有意水準0.05で, 良好群が有意に高値を示した(表2)。スイムアップ前後の精子のペネトラック移動距離はそれぞれ42.3 \pm 17.2 mm (mean \pm SE, n=34), 28.3 \pm 14.6 mm (n=20)とスイムアップ後の上清精子の移動距離の成績が有意に低下した($P<0.01$)。

2) スイムアップ処置と精子運動能

スイムアップにより運動率($P<0.05$), 運動速度, 頭部振動頻度($P<0.01$)は有意に増加し, 40 μ m/sec以上で運動する精子数, 70 μ m/sec以上で運動する精子数は有意に減少した($P<0.01$)(表3)。またスイムアップ前後の, 対応するデータの相関を見ると, 70 μ m/sec以上で運動する精子数は有意水準0.01, 精子濃

表1 精子各種精子運動パラメーターとペネトラックテストの成績との相関(n=50)

各種運動能パラメーター	ペネトラックとの相関係数
精子濃度($\times 10^6$ /ml) ^a	0.3741**
運動率(%)	0.1689
運動速度(μ m/sec) ^a	0.2711
直進性(n=50)	0.1501
頭部振動頻度(Hz) ^a	0.3122*
頭部振動振幅(μ m)	0.1624
最大頭部振動振幅(μ m)	0.1924
40 μ m/sec以上の精子の数($\times 10^6$ /ml) ^a	0.5251**
70 μ m/sec以上の精子の数($\times 10^6$ /ml) ^a	0.4302**

* $p<0.05$ ** $p<0.001$

aは対数変換した変数

表2 ペネトラックテスト成績良好群と不良群の運動成績

各種運動能	ペネトラック良好群(n=38)	ペネトラック不良群(n=12)
精子濃度($\times 10^6$ /ml) ^a	79.9 \pm 13.7	39.1 \pm 8.6
運動率(%)	48.0 \pm 4.8	27.2 \pm 7.9*
運動速度(μ m/sec) ^a	38.1 \pm 2.0	32.2 \pm 3.0
直進性(n=50)	4.9 \pm 0.2	4.8 \pm 0.2
頭部振動頻度(Hz) ^a	14.3 \pm 0.5	12.4 \pm 0.7*
頭部振動振幅(μ m)	2.3 \pm 0.1	1.9 \pm 0.2
最大頭部振動振幅(μ m)	2.7 \pm 0.1	2.4 \pm 0.2
40 μ m/sec以上の精子の数($\times 10^6$ /ml) ^a	27.3 \pm 5.3	8.5 \pm 2.8*
70 μ m/sec以上の精子の数($\times 10^6$ /ml) ^a	11.5 \pm 2.4	1.4 \pm 1.0*

* $p<0.05$ ** $p<0.01$ (Mean \pm S.E.)

aは対数変換してMann-Whitney U検定をした

表3 スイムアップ前後の各種精子運動パラメーターの比較

各種運動能	処理前	処理後
精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$) ^a	74.1 \pm 14.9	10.0 \pm 2.3**
運動率 (%)	43.3 \pm 5.4	60.4 \pm 4.2*
運動速度 ($\mu\text{m}/\text{sec}$) ^a	39.1 \pm 2.1	53.0 \pm 2.5**
直進性 (n = 50)	5.0 \pm 0.2	5.4 \pm 0.4
頭部振動頻度 (Hz) ^a	13.2 \pm 0.4	17.2 \pm 1.0**
頭部振動振幅 (μm)	2.4 \pm 0.1	2.5 \pm 0.2
最大頭部振動振幅 (μm)	2.8 \pm 0.1	2.9 \pm 0.2
40 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上の精子の数 ($\times 10^6/\text{ml}$) ^a	30.2 \pm 6.4	7.3 \pm 1.9**
70 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上の精子の数 ($\times 10^6/\text{ml}$) ^a	7.9 \pm 2.4	2.7 \pm 0.8**

n = 22 ** p < 0.01

Mean \pm S.E.

aは対数変換してMann-Whitney U検定をした

表4 スイムアップ前後の相関係数

各種運動能	相関係数 γ
精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$) ^a	0.4417*
運動率 (%)	0.1051
運動速度 ($\mu\text{m}/\text{sec}$) ^a	0.4844*
直進性 (n = 50)	0.2321
頭部振動頻度 (Hz) ^a	0.309
頭部振動振幅 (μm)	-0.0563
最大頭部振動振幅 (μm)	-0.0896
40 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上の精子の数 ($\times 10^6/\text{ml}$) ^a	0.4851*
70 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上の精子の数 ($\times 10^6/\text{ml}$) ^a	0.6778**

n = 22 * p < 0.05 ** p < 0.01

aは対数変換した変数

度と運動速度, 40 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上で運動する精子数は有意水準0.05の相関を認めた(表4).

3) ヒューナーテストと精子運動能

ヒューナーテスト良好群, 不良群との間で各種運動特性を比較したが有意の差を示す特性はなかった. また, ウシ頸管粘液貫通試験とヒューナーテストの2つの検査の独立性を検討するために両テスト良好, 不良群よりなる χ^2 検定を施行したところ, 独立性は認められなかった($P < 0.05$).

4) 透明帯除去ハムスター卵侵入試験(ハムスターテスト)と精子運動能

精子濃度と $r = 0.3600$ ($P < 0.05$)の正の相関を, また運動直進性と $r = -0.4600$ ($P < 0.05$)の負の相関を認めた(n = 29). 40 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上で運動する精子数, および70 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上で運動する精子の数は $r = 0.3600$ ($P = 0.0771$), $r = 0.1840$ ($P > 0.05$)と有意の相関を認めなかった. ハムスターテスト良好群, 不良群間で各種運動パラメーターのMann-Whitney U検定をした

ところ直進性はハムスター良好群で有意の低値を示した($P < 0.05$)(表5). ステップワイズ重回帰分析(変数増減法)を施行したところ, 精子濃度(標準偏回帰係数0.5684, 採用F値9.1), 運動速度分布90 $\mu\text{m}/\text{sec}$ の階級の度数(標準偏回帰係数0.4581, 採用F値5.8), 直進性度数分布8の階級の度数(標準偏回帰係数-0.7681, 採用F値3.8)が最良な変数として採用された(重相関係数 $r = 0.6151$, 自由度調整済み重相関係数 $r = 0.5511$).

3 妊娠成立群と妊娠非成立群との運動能について

1) 妊娠成立群と妊娠非成立群との運動能の比較

妊娠成立群と妊娠非成立群の各運動特性は, 表6の如くであり, 運動率で有意差を認めた. 直進性は, 0から10までの値を取り, この間を10段階に分け各階級における頻度を棒グラフにすると, 6までの階級では妊娠成立群が頻度が高く, 7から9までの階級では妊娠非成立群の頻度が高値を示した(図1a). しかし直進性が6以下の群の割合と7以上の群の割合で

表5 ハムスターテスト良好群と不良群における各種精子運動パラメーターの比較 (Mean ± S.E.)

各種運動能	ハムスターテスト良好群 (n=9)	ハムスターテスト不良群 (n=21)
精子濃度 (×10 ⁶ /ml) ^a	123.1 ± 28.9	68.9 ± 12.2*
運動率 (%)	55.3 ± 10.2	57.1 ± 5.3
運動速度 (μm/sec) ^a	38.3 ± 3.9	48.1 ± 2.3*
直進性 (n = 50)	5.0 ± 0.2	6.1 ± 0.2**
頭部振動頻度 (Hz) ^a	14.8 ± 0.6	15.8 ± 0.6
頭部振動振幅 (μm)	2.4 ± 0.2	2.4 ± 0.1
最大頭部振動振幅 (μm)	2.8 ± 0.2	2.8 ± 0.1
40μm/sec以上の精子の数 (×10 ⁶ /ml) ^a	47.8 ± 11.1	37.5 ± 11.1
70μm/sec以上の精子の数 (×10 ⁶ /ml) ^a	10.7 ± 4.4	11.3 ± 2.2

* p < 0.05 ** p < 0.01

aは対数変換してMann-Whitney U検定をした

表6 妊娠成立群, 妊娠非成立群間の各種精子運動パラメーターの比較

各種運動能	妊娠群 (n = 53)	非妊娠群 (n = 59)
精子濃度 (×10 ⁶ /ml) ^a	80.6 ± 7.2	70.8 ± 6.6
運動率 (%)	46.1 ± 3.3	34.3 ± 2.7**
運動速度 (μm/sec) ^a	36.3 ± 1.3	33.7 ± 1.2
直進性 (n = 50)	4.7 ± 0.2	4.8 ± 0.2
頭部振動頻度 (Hz) ^a	15.7 ± 1.7	13.2 ± 0.3
頭部振動振幅 (μm)	2.1 ± 0.1	2.0 ± 0.1
最大頭部振動振幅 (μm)	2.5 ± 0.1	2.4 ± 0.1
40μm/sec以上の精子の数 (×10 ⁶ /ml)	27.1 ± 3.0	20.0 ± 2.4*
70μm/sec以上の精子の数 (×10 ⁶ /ml)	6.2 ± 1.1	3.4 ± 0.7*

* p < 0.05 ** p < 0.01

aは対数変換してMann-Whitney U検定をした

(Mean ± S.E.)

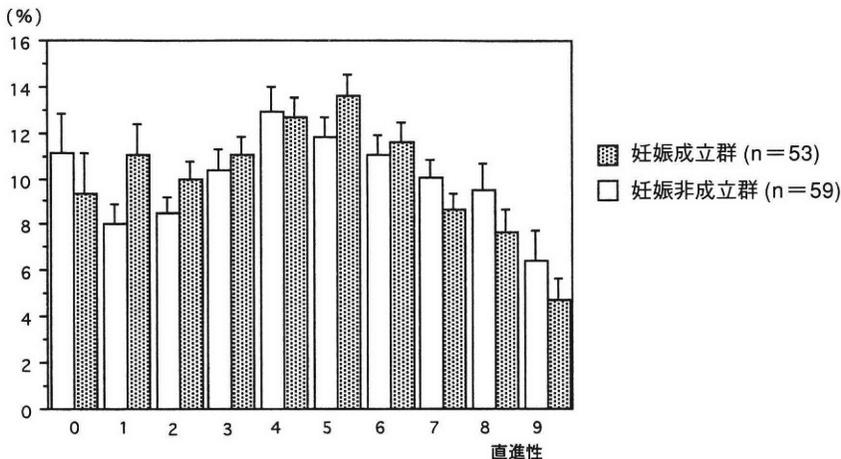


図1a 直進性の度数分布 (Mean ± S.E.)

それぞれ妊娠成立群, 妊娠非成立群間の分散分析をしたが有意差は認めなかった。運動速度の度数分布は, 図1bに示したように, 30, 70, 80μm/secの階級

で有意に妊娠成立群が高値を示し, 40μm/sec以上の階級では常に妊娠成立群が高値を示している。そこで, 運動速度40μm/sec以上の精子の比率に精子濃度

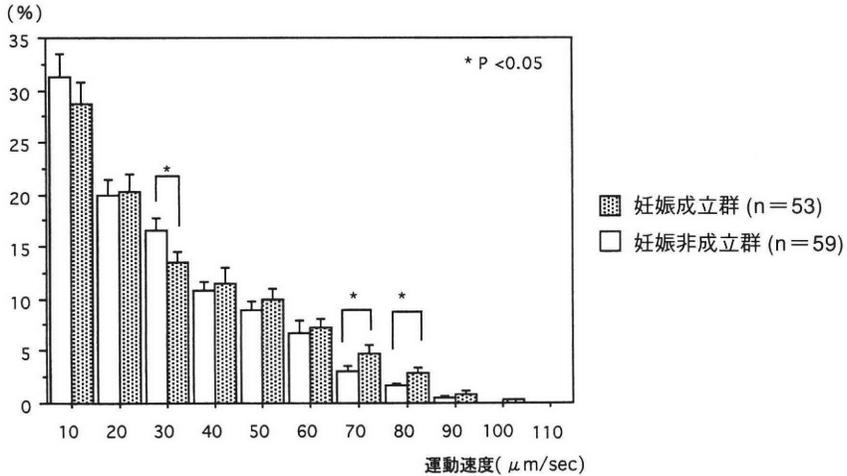


図1b 運動速度の度数分布 (Mean ± S.E.)

表7 判別関数式

判別関数式 1 (n = 112)			判別関数式 2 (n = 30)		
変数名	判別係数	F値	変数名	判別係数	F値
運動率 (%)	0.0217	4.4	運動率 (%)	0.0508	2.3
頭部振動頻度 (Hz) ^a	4.3863	2.8	ペネトラック成績 (cm)	0.1092	5.0
直進性階級 1 度数	0.4493	5.7	直進性階級 2 度数	0.1428	1.6
直進性階級 5 度数	0.5066	4.3	直進性階級 3 度数	0.3098	5.1
直進性階級 6 度数	0.3409	2.3	直進性階級 6 度数	0.4599	8.2
直進性階級 8 度数	-0.2104	1.6	運動速度階級 50 (μm/sec)	-0.3036	4.8
運動速度階級 30	-0.2794	1.9	運動速度階級 60	0.2169	2.4
定数項	-8.3082		運動速度階級 80	-0.2579	1.0
			定数項	-14.9384	
誤判別率	31.54%		誤判別率	16.20%	
判別の中率	66.96%		判別の中率	82.80%	
相関比	0.1899		相関比	0.4725	

aは対数変換した変数

と運動率をかけ、40μm/sec以上で運動する精子数を求め、妊娠成立群と妊娠非成立群で比較したところ、有意水準0.05で有意差を認めた(表6)。また、70μm/sec以上で運動する精子数を2群間で比較したところ、有意差(P<0.05)を認めた(表6)。

2) 妊娠成立群、妊娠非成立群の判別精子濃度、運動率、振動振幅、振動頻度、直進性、運動速度を説明変数とし、妊娠成立、妊娠非成立の2値を目的変数とし、判別分析を施行し、判別の中率60.7%であった。運動速度度数分布と直進性の度数分布を説明変数に加えることにより判別の中率67.0%で2群は判別された(表7判別関数式1、相関比0.1899)。さらに

ウシ頸管粘液貫通成績(ペネトラック成績)を説明変数に含めた判別分析(30例)では判別の中率82.8%であった(表7判別関数式2、相関比0.4725)(表7)。

考 察

今回の研究により、ウシ頸管粘液貫通成績は精子運動速度および比較的高速に運動する精子数と強い正の相関を認め、ステップワイズ回帰分析では精子濃度、精子運動速度と正の偏回帰を示した。ハムスターテスト良好群不良群間で、ハムスターテスト良好群の直進性は有意の低値を示し、ステップワイズ回帰分析でも直進性の強い階級の度数が変数に採用さ

れ負の偏回帰を示した。妊娠成立群は運動率、比較的高速に運動する精子数が妊娠非成立群より有意に高値を示し、判別分析法で直進性および運動速度の度数分布を変数に加えたところ判別の中率67.0%を示した。さらにウシ頸管粘液貫通成績を変数に加えたところ判別の中率82.8%に向上した。いずれの分析においても直進性の低い階級の度数が大きな寄与を示す変数として採用された。以上の結果よりウシ頸管粘液貫通成績、ハムスターテスト、妊娠判別分析を通じ、運動速度および、高速に運動する精子数が重要な因子^{24,25)}として認められ、また直進性の低い階級のものとの関与もハムスターテスト、妊娠判別分析に共通して認められた。現在まで、頸管粘液通過、ハムスター卵通過、自然妊娠の成立の有無を同一条件でCasaSystemを用いて比較した報告はAitkenらの一連の報告^{3,4,22)}を除き認めなかった。また妊娠の判別分析報告はあるが、運動速度および直進性度数分布を含めた報告はVantmannら⁶⁾の報告のみで、またウシ頸管粘液貫通成績を判別分析に含める試みは報告がない。

精子運動と妊娠成立過程とのかかわりをみると²⁶⁻³⁰⁾、まず精子は精巣内で精子形成過程を経て、完成した精子となるが、精巣内で完成した段階では運動能を備えていないとされている。精子はその後精巣上体から輸精管を移動していく過程で運動能を獲得し、射精間際には十分の運動能を獲得するようになる。精子は射精後、頸管粘液を通過し子宮内を卵管に向かって運動する。この間に精子は受精能を獲得する。この結果、鞭毛の膜変化が起り、運動の形態も変化し、ハイパーアクチベーションと呼ばれる運動形態になる。引き続き卵と結合する際、先体反応が起り受精が完成する。ハイパーアクチベーションは現在まだ確立された定義がない状況であるが、一致して直進性の低下、振動振幅の上昇、*cuvilinear velocity*が大きく、*straight line velocity*の減少した精子群を定義に含めている^{9,31-35)}。上記妊娠成立の過程は生化学的因子、生理学的因子も関与するが、今回運動特性(運動能)に注目し、解析をした。

ウシ頸管粘液精子貫通成績は一度に大量の頸管粘液より大量の試験管が作られるため性状が一定になり、精子の運動、形態と頸管粘液との相互作用が客観的に分析しやすくなる。ヒューナーテストとウシ頸管粘液精子貫通成績は高度に相関しているとの報告もあるが^{11,12)}、今回の結果ではヒューナーテスト良好群、不良群間に有意の差を示す運動能は認められなかった。これは精子運動能以外の頸管粘液の性状に個体

差があり、卵巣機能や、子宮奇形、免疫的な問題などの影響を受けることに基因すると考えられる。ウシ頸管粘液通過に関与する変数としては、変数増減法によるステップワイズ重回帰分析により、精子濃度、運動速度が採用された。また、ウシ頸管粘液貫通試験は高速運動する精子数と強い相関が有ることが本研究で認められ、これはAitkenらの報告⁴⁾にある% rapid (average path velocityが $25\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上の精子の割合)と $r=0.8$ 前後の高い相関を示すとした結果と部分的に一致している。直進性は% rapidに次ぐ相関($r=0.4\sim 0.5$)を示すとしている。頸管粘液を通過する精子は高速で運動能的に良好な精子が選別されると思われる^{17,36)}。本研究ではウシ頸管粘液貫通試験成績がスイムアップ後低下した、Stumpf¹³⁾らは、理由は明確でないが、スイムアップ後にウシ頸管粘液貫通試験成績は、fertile群では低下し、infertile群では向上する傾向を示したと報告している。

スイムアップ前後の運動能を比較してみると、その運動能はスイムアップ前に比較して有意に向上することが認められ、今回の結果により、精子濃度、精子運動速度、40および、 $70\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上で運動する精子数とはそれぞれスイムアップ前後で有意な相関があることが認められた。しかし個々の精子について、高速運動精子がさらに高速になるのか、あるいは、低速運動精子がスイムアップ培養中に高速になるのか明確ではない。スイムアップ前後の相関係数の分析によれば、40および、 $70\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上で運動する精子数はスイムアップ前後で有意の相関があることより、高速運動精子がさらに高速になる可能性が推測された。

精子運動能は卵への侵入にも重要であり、透明帯除去ハムスター卵を用いた試験が妊娠能に関係していることが報告されている^{20,21)}。今回の結果によれば、ハムスターテストは直進性と強い負の相関を示し、またステップワイズ重回帰分析(変数増減法)により精子濃度、運動速度 $90\mu\text{m}/\text{sec}$ の階級の度数、運動直進性度数分布8の階級が変数として採用された。直進性の高い階級8は負の偏回帰を示し、またハムスターテスト良好群で直進性は有意に低値を示した。以上の結果から、直進性の低いものがハムスター卵侵入に関与していることが示された。Drobnisら³⁵⁾は、ハムスター精子が直接ハムスター卵+卵丘塊に侵入する様子を観察し、鞭毛運動が、二相性の運動形態を示すことを報告した。ひとつは正弦波様の低振幅、高振動数の運動で、今ひとつは、whip-lash, figure of eightの動きを示し、高振幅、低振動数の運動で、こ

の2つの運動は交互に出現し、卵丘細胞を潜り込む際に有利であるとしている。またIVF成績との比較でSukcharoen³⁷⁾らは、80%パーコールで選別された精子について、正常形態の比率と、振動振幅は $r=0.2\sim 0.3$ の正の単相関をIVF成績と示し、straight line velocityと直進性は $r=-0.25\sim -0.27$ の負の単相関を示すとしている。

妊娠成立群では、精子濃度、運動速度、運動振幅、頭部振動頻度の特性は妊娠成立群で高い傾向を示した。直進性は妊娠成立群で低い傾向を示した。また運動率は $p<0.001$ で有意差を示した。運動速度の度数分布から $40\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上の運動速度の精子数、 $70\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上で運動する精子の数、直進性の度数分布から直進性度数分布階級が6以下の群と7以上の群の精子運動特性それぞれ比較し、その結果 $40\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上と $70\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上で運動する精子の数は妊娠成立群($p<0.05$)で有意に高値を示した。直進性が6以下の群と7以上の群による検定は有意差を示さなかった。多変量解析の手法である判別分析法を施行して、運動速度、および直進性の度数分布を加えず、精子濃度、運動速度、運動率、直進性、振動頻度、振動振幅よりなる説明変数では60.7%の判別の中率だった。運動速度、および直進性度数分布の相対度数を説明変数に加えると判別の中率は67.0%となった。図1にみられるように妊娠成立群と妊娠非成立群の運動速度と直進性はその分布の形が頂点や分布の偏りにおいて異なり、これは平均値である直進性や運動速度では失われた情報であり、この情報を加えたことが判別に寄与したと考えられる。判別係数の分析により、直進性度数分布階級1の変数がF値5.7で最も影響の大きい変数であり以下運動率、直進性階級5、頭部振動頻度、直進性階級6の順で判別に寄与した。この結果より直進性の低い階級の重要性が示された。つぎにウシ頸管粘液貫通能成績(ペネトラクテスト成績)を判別分析に加えることにより、判別の中率は82.8%に達した。ペネトラクテスト成績を加えた場合直進性階級6の変数がF値8.2で最も影響の強い変数であり、以下直進性階級3(F値5.1)、ペネトラクテスト成績(F値5.0)の順に判別に寄与し直進性とペネトラクテスト成績の寄与の大きさが認められた。Schararaら³⁸⁾はウシおよびヒト頸管粘液貫通能とIVFにおける受精率および妊娠率とを解析し、ウシ、ヒトを通じ頸管粘液貫通能の良好な群は受精率と有意の相関を有し、また妊娠率は高い傾向を示したとしている。今回ウシ頸管粘液貫通能成績を判別に加えることにより判別率が向上したことは

ウシ頸管粘液貫通能試験がCASA systemから得られる運動能以外の情報を保有していると考えられる。すでに本研究で認められたように頸管粘液貫通能試験は精子運動能と重相関係数 $r=0.7390$ と強い相関を示すこともあわせてウシ頸管粘液貫通能試験の有用性を示す結果と思われた。精液をCASA systemで分析し自然妊娠との関係を検討するという今回と同様の条件下での過去の報告には、Irvine¹⁾らが59.9%の予測率を報告している。また彼らはAIDに際し、凍結精子のCASA dataを基に86.9%の予測率を報告した。Marshburn²⁾らは凍結精子を解凍、洗滌後使ったAID例で $r^2=0.7$ の妊娠成立への寄与率を報告している。Hinting⁵⁾らはstraight line velocity $22\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上の精子の濃度で判別し90%の判別の中率を得た。過去の報告に直進性および運動速度の度数分布を判別に用いた例はVantmann⁶⁾の報告のみである。彼らは運動速度分布階級 $40\mu\text{m}/\text{sec}$ の精子濃度と直進性度数分布階級3の度数を用いて判別を試み、83.6%の判別の中率を得ている。また過去の報告にウシ頸管粘液貫通能成績を加えて判別分析した報告はなかった。

以上の結果から、妊娠成立過程に関与する運動能として直進性の低いもの、および高速に運動する精子が重要であることが示された。また、ウシ頸管粘液貫通能成績を分析に加えることにより、判別成績が向上することが示された。

本研究は第35回日本不妊学会で報告した。本研究にあたり、ご指導いただいた本学水口弘司教授、植村次雄助教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Irvine DS, Macleod IC, Templeton AA, et al. (1994) A prospective study of the relationship between the computer-assisted assessment of human semen quality and the achievement of pregnancy in vitro. *Hum Reprod* 9: 2324-2334
- 2) Macleod IC, Irvine DS (1995) The predictive value of computer-assisted semen analysis in the context of a donor insemination programme *Hum Reprod* 10: 580-586
- 3) Aitken RJ, Best FSM, Warner P, et al. (1984) A prospective study of the relationship between semen quality and fertility in cases of unexplained infertility. *J. Androl* 5: 297-303
- 4) Aitken RJ, utton M, Warner P, et al. (1985) Relationship between the movement characteristics of human spermatozoa and their ability to penetrate cervical mucus and zona free hamster oocytes. *J. reprod. Fertil* 73: 441-449

- 5) Hinting A, Comhaire F, Schoonjans F (1988) Capacity of objectively assessed sperm motility characteristics in differentiating between semen of fertile and subfertile men. *Fertil Steril* 50: 635-639
- 6) Vantmann D, Banks SM, Koukoulis G, et al. (1989) Assessment of sperm motion characteristics from fertile and infertile men using a fully automated computer-assisted semen analyzer *Fert Steril* 51: 156-161
- 7) Vantmann D, Koukoulis G, Dennison L, et al. (1988) Computer-assisted semen analysis: evaluation of method and assessment of the influence of sperm concentration on linear velocity determination. *Fertil Steril* 49: 510-515
- 8) Army M, Quagliarello J (1987) Semen quality before and after processing by a swim-up method: relationship to outcome of intrauterine insemination. *Fertil Steril* 48: 643-648
- 9) Mbizo MT, Johnston RC, Baker HWG (1993) The effect of the motility stimulants, caffeine, pentoxifylline and 2-deoxyadenosine on hyperactivation of cryopreserved human sperm. *Fertil Steril* 59: 1112-1117
- 10) Schutte B (1987) Penetration ability of human spermatozoa into standardized bovine cervical mucus (Penetrak®) in patients with normal and pathological semen samples. *andrologia* 19: 217-224
- 11) Alexander NJ (1981) Evaluation of male infertility with an in vitro cervical mucus penetration test. *Fertil Steril* 36: 201-208
- 12) Moghissi KS, Segal S, Meinhold D, et al. (1982) In vitro sperm cervical mucus penetration: studies in human and bovine cervical mucus. *Fertil Steril* 37: 823-827
- 13) Stumpf PG, Lloyd T (1985) In vitro Penetration of human sperm into bovine cervical mucus: Effects of sperm washing and exposure to low temperature. *Ob Gyn* 65: 42-45
- 14) Takemoto FS, Rogers BJ, Wiltbank MC, et al. (1985) Comparison of the penetration ability of human spermatozoa into bovine cervical mucus and zona-free Hamster eggs. *J Androl* 6: 162-170
- 15) Urry RS, Middletom RG, Mayo D (1986) A comparison of the penetration of human sperm into bovine and artificial cervical mucus. *Fertil Steril* 45: 135-137
- 16) 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
- 17) Eggert WK, Reimann JA, Rohr G, et al. (1995) Clinical relevance of sperm morphology assessment using strict criteria and relationship with sperm-mucus interaction in vivo and in vitro. *Fertil Steril* 63: 612-624
- 18) Quinn P, Kerin JF, Warner GM, et al. (1985) Improved pregnancy rate in human in vitro fertilization with the use of a medium based on the composition of human tubal fluid. *Fertil Steril* 44: 493-498
- 19) Yanagimachi R, Lopata A, Odom CB, et al. (1979) Retention of biologic characteristics of zona pellucida in highly concentrated salt solution: the use of salt-stored eggs for assessing the fertilizing capacity of spermatozoa. *Fertil Steril* 31: 562-574
- 20) Rogers BJ (1985) The sperm penetration assay: its usefulness reevaluated. *Fertil Steril* 43: 821-840
- 21) Marshburn PB, McIntire D, Carr BR, et al. (1992) Spermatozoal characteristics from fresh and frozen donor semen and their correlation with fertility outcome after intrauterine insemination. *Fertil Steril* 58: 179-186
- 22) Aitken RJ, Best FSM, Richardson DW, et al. (1982) An analysis of sperm function in cases of unexplained infertility: conventional criteria, movement characteristics, and fertilizing capacity. *Fertil Steril* 38: 212-221
- 23) 田中 豊, 脇本 和昌 (1996) 第3章判別分析. 多変量解析法. 第11版, 現代数学社, 京都, PP102-136
- 24) 上田克憲, 熊谷正俊, 大浜紘三 他 (1991) Motility Analyzer HT-M2030による精子運動解析の成績と精子受精能の関連. *日受精着床学会誌*. 8: 252-255
- 25) 熊谷正俊, 上田克憲, 新甲 靖 他 (1992) Motility Analyzer HT-M2030による精子運動解析の成績-正常男性におけるRapidly Motile Cells-. *日受精着床学会誌*. 9: 112-114
- 26) 奥野 誠 (1992) 精子の運動機構. *精子学*. 毛利秀雄監 森沢正昭, 星 元紀編, 初版, 東京大学出版会, 東京, pp80-103
- 27) 森沢正昭, 森沢幸子 (1992) 精子運動の調節. *精子学* 毛利秀雄監 森沢正昭, 星 元紀編, 初版, 東京大学出版, 東京, pp104-120
- 28) 正木淳二 (1992) 精液の生化学. *精子学* 毛利秀雄監 森沢正昭, 星 元紀編, 初版, 東京大学出版, 東京, pp121-137
- 29) 岡部 勝, 柳町隆造 (1992) 精子の受精能獲得. *精子学* 毛利秀雄監 森沢正昭, 星 元紀編, 初版, 東京大学出版, 東京, pp152-167
- 30) 星 元紀 (1992) 先体反応と受精. *精子学* 毛利秀雄監 森沢正昭, 星 元紀編, 初版, 東京大学出版

- 版, 東京, pp168-183
- 31) Suarez SS, Dai X (1992) Hyperactivation enhances mouse sperm capacity for penetrating viscoelastic media. *Biol Reprod* 46: 686-691
 - 32) Stauss CR, Votta TJ, Suarez SS (1995) Sperm motility hyperactivation facilitates penetration of the hamster zona pellucida. *Biol Reprod* 53: 1280-1285
 - 33) Sukcharoen N, Keith J, Stewart D, et al. (1995) Definition of the optimal criteria for identifying hyperactivated human spermatozoa at 25Hz using in-vitro fertilization as a functional end-point. *Human Reprod* 10: 2928-2937
 - 34) Johnston RC, Summerbell D, Kovacs GT, et al. (1994) Relationship between stimulated hyperactivated motility of human spermatozoa and pregnancy rate in donor insemination: a preliminary report *Hum Reprod* 9: 1684-1687
 - 35) Drobnis EZ, Yudin AI, Cherr GN, et al. (1988) Hamster Sperm Penetration of the Zona Pellucida: Kinematic Analysis and Mechanical Implications. *Dev Biol* 130: 311-323
 - 36) Zhu JJ, Barratt CL, Cooke ID (1992) Effect of human cervical mucus on human sperm motion and hyperactivation in vitro. *Hum Reprod* 7: 1402-1406
 - 37) Sukcharoen N, Keith J, Irvine DS, et al. (1996) Prediction of the in-vitro fertilization (IVF) potential of human spermatozoa using sperm function tests: the effects of the delay between testing and IVF. *Human Reprod* 11: 1030-1034
 - 38) Scharara FI, Illions EH, Coddington CC, et al. (1995) Evaluation of the Tru-Trax cervical mucus penetration test in predicting fertilization and pregnancy rates in in-vitro fertilization. *Human Reprod* 10: 1481-1485
- (受付: 1997年4月11日)
(受理: 1997年5月23日)

Relationship between sperm motion characteristics and fertility

Ryozo Yatsuhashi

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

Sperm movement is one of the important factors for the fecundity. Relationships of various sperm motion characteristics obtained by computer assisted motion analysis system (CASA System) to post coital test, bovine cervical mucus penetration test (Penetrak[®]), hamster egg penetration test, and outcome of pregnancy were investigated. The results of Penetrak test were correlated with velocity and "rapid moving sperm count" (count of sperm that moves faster than 40 or 70 μ m/sec). In Penetrak test, stepwise multiple regression analysis has selected the concentration and the velocity as significant factors. Hamster-egg penetration test showed that there were positive correlation with the concentration, and negative correlation with the linearity. Stepwise multiple regression analysis revealed negative relationship with the linearity. Between the fertile and the subfertile group, there were significant differences in the motility and "rapid moving sperm count". Multivariate discriminant analysis predicted 67.0% of successful outcome, while addition of penetrak test increased the prediction rate up to 82.8%. It was concluded that linearity and "rapid moving sperm count" were important factors for pregnancy.

Key words: sperm movement, Hamster egg penetration test, bovine cervical mucus penetration test, swim up procedure discriminant analysis

SIGNIFICANCE OF SERUM CHLAMYDIA TRACHOMATIS ANTIBODY TESTING IN EVALUATING THE TUBAL DAMAGE AND THE PRESENCE OF PELVIC ADHESION

Tetsuo MASAHASHI, Tatsuhiko HOJO, Toshimichi OKAMOTO,
Masayoshi NOGUCHI and Masami NAKANISHI

Department of Obstetrics and Gynecology
Aichi Medical University, Aichi 480-11, Japan

Abstract: An association between the prevalence of serum Chlamydia trachomatis (CT) antibody and the incidence of pelvic adhesion and tubal damage including peritubal adhesion was evaluated in 71 patients who were undergone laparoscopy or laparotomy. Indication of operation included infertility ($n = 32$), ectopic pregnancy ($n = 27$), PID (pelvic inflammatory disease, $n = 6$) and others ($n = 6$). Patient was defined as seropositive when at least one of antichlamydial Ig (immunoglobulin) A or IgG showed positive result.

There was the significant difference between the incidence of pelvic adhesion in seropositive (70.5%, 31 / 44) and seronegative (18.5 %, 5 / 27) patients. In addition, AFS (American Fertility Society) adnexal adhesion score in seropositive patients were significantly higher than that in seronegative patients in both left (8.8 ± 10.9 vs. 0.3 ± 1.1 , mean \pm SD) and right (8.0 ± 11.2 vs. 0.2 ± 0.6) tubes. Incidence of tubal abnormality in seropositive infertile patients (81.8 %) was significantly higher than that in seronegative patients (40.0 %).

It is concluded that the presence of CT antibody indicates a high incidence of pelvic adhesion or tubal abnormality and also indicates the need for early laparoscopy to evaluate tubal condition in infertile patients.

Key words: antichlamydial antibody, pelvic inflammatory disease, infertility, ectopic pregnancy
(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 281 - 285, 1997)

Introduction

Chlamydia trachomatis (CT) is an organism which is most frequently related to pelvic inflammatory disease (PID)^{1,2,3}. The problem is that a large proportion of CT infections is asymptomatic and often referred to as "silent PID"^{4,5}. Evidence for silent PID is the presence of tubal disease which includes infertility in women with no history of acute PID. It has been reported that 84% of documented tubal infertility patients never had symptoms of an upper genital tract infection⁶. In addition, sequelae of silent PID includes ectopic pregnancy resulted from tubal damage⁷.

Detection of CT infection with cervical and urethral CT culture is often difficult⁸. Although the value of CT antibody testing in detecting current CT infection is still controversial⁹, an association between positive CT antibody and tubal infertility has been reported¹⁰.

The common method to diagnose tuboperitoneal pathology is laparoscopy and, for screening purpose, hysterosalpingography (HSG). Recently CT antibody testing is also reported as useful tool for detecting tubal abnormality^{11,12}.

Our objective was to assess the association between the prevalence of positive CT antibody and the incidence of pelvic adhesion and tubal abnor-

mality including peritubal adhesion, and to clarify the clinical utility of CT antibody.

Materials and Methods

Seventy one patients with age of 28.9 ± 5.3 (mean \pm SD) years, who were undergone laparoscopy or laparotomy, were participated in this study. Indications of laparoscopy or laparotomy were infertility ($n = 32$), ectopic pregnancy ($n = 27$), PID ($n = 6$) and others ($n = 6$). Except for PID patients, all had no history of acute PID.

Blood was drawn at their operation and assayed for Ig (immunoglobuline) A and IgG antibodies to the principal CT membrane structural components, with a commercial enzyme-linked immunoassay (Sero IPALISA Chlamydia IgA, IgG., Savyon Diagnostic, BeerSheva, Israel). Positive and negative controls were also assayed in parallel to the test samples. Antibody detection utilized horseradish peroxidase-conjugated antibody to human IgA or IgG. The final optical density (OD) of each well was determined at 450 nm. Cut off value (COV) was calculated as follow:

$$\text{COV} = K \times (\text{Pc} - \text{Nc}) + \text{Nc}$$

Pc: OD of positive control

Nc: OD of negative control

K: (0.198 for IgA, 0.154 for IgG)

Measurement result was indicated by Cut off index (COI) which was calculated as follow:

$$\text{COI} = \text{OD} / \text{COV}$$

The values of COI were defined as positive when $\text{COI} > 1.10$. When at least one of IgA or IgG antibody showed positive result, the patient was considered CT seropositive.

Pelvic adhesions were classified using the system of Teisala, et al.¹³⁾:

Grade I None

Grade II Mild — Only thin, narrow, and easily broken peritubal or periovarian adhesions.

Grade III Moderate — Adhesions, limited to the tubes or ovaries, thick and vascularized, or thin adhesion widespread.

Grade IV Severe — Thick adhesion, widespread. In addition, adnexal adhesions were also evaluat-

ed using American Fertility Society (AFS) classification of adnexal adhesions¹⁴⁾ except for the cases that the accurate evaluation could not done because of previous salpingectomy or ruptured tubal pregnancy.

Tubal abnormality in infertile patients was determined by laparoscopy and/or HSG. The findings at laparoscopy included adhesions involving the tube, obstruction of one or both tubes at chromopertubation, or hydrosalpinx. Adhesions limited to the ovary were not included in tubal abnormality. The findings seen on HSG were obstruction to contrast medium or abnormal spreading of contrast medium in the peritoneal cavity. When laparoscopic and HSG findings did not agree, laparoscopic findings were chosen. A statistical analysis was made using the χ^2 test and Wilcoxon-Mann-Whitney test.

Results

Of the total of 71 patients, 44 (62.0 %) were CT antibody positive. Among these 44 CT seropositive patients, IgA was positive in 33 patients and IgG was positive in 39, and 28 revealed both IgA and IgG positive results. The prevalence of CT antibody was 51.9 % (14 / 27) in ectopic pregnancy patients and 68.8 % (22 / 32) in infertile patients. When the prevalence of IgA and IgG antibodies were determined separately, there was no significant difference between IgA and IgG; 40.6 % (13 / 32) vs. 65.6 % (21 / 32) in infertile patients and 44.8 % (14 / 32) vs. 31.3 % (10 / 32) in ectopic pregnancy patients.

Table 1 shows the incidence of pelvic adhesions at laparoscopy or laparotomy. In the seropositive patients, pelvic adhesions were classified into severe in 14 patients, moderate in 7, mild in 10, so that 70.5 % (31 / 44) of CT seropositive patients had pelvic adhesions. On the other hand, only 5 of 27 (18.5 %) with negative CT antibody had pelvic adhesion. There was the significant difference between the incidence of pelvic adhesion in the patients with positive and negative CT antibody. Even when the patients with previous pelvic surgery such as salpingectomy were excluded, the difference between seropositive and seronegative patients remained. When positivity of IgA and IgG antibody was in-

Table 1 Chlamydia trachomatis antibody testing and pelvic adhesion

Pelvic adhesion	CT seropositive ^{a)}	CT seronegative ^{b)}
I	13 (11)	22
II	10 (6)	4
III	7 (5)	1
IV	14 (6)	0
Toatal	44 (28)	27

a) () ; number of the patients without history of pelvic surgery
 b) no patient had history of pelvic surgery

Table 2 Chlamydia trachomatis antibody testing and tubal abnormality in infertile patients

Antibody	Tubal abnormality ^{a)}	
	Present	Absent
Positive	18 (10)	4 (2)
Negative	4 (4)	6 (6)
Total	22	10

a) () ; number of the patients without history of pelvic surgery

Table 3 Seropositivity of IgA and IgG antibody and tubal abnormality in infertile patients

Seropositivity		Tubal abnormality ^{a)}	
IgA	IgG	Present	Absent
(+)	(+)	12 (7)	0
(+)	(-)	1 (1)	0
(-)	(+)	5 (2)	4 (2)
(-)	(-)	4 (4)	6 (6)

a) () ; number of the patients without history of pelvic surgery

investigated separately, incidence of pelvic adhesion was 68.7 % (23 / 33) in IgA positive patients and 74.4 % (29 / 39) in IgG positive patients, and there was no significant difference between these rates.

Tubal abnormality was found in 22 of 32 infertile patients. In these 22 infertile patients with tubal abnormality, 18 (81.8 %) were CT seropositive. On the other hand, CT antibody was positive in only 4 of 10 (40.0 %) infertile patients without tubal abnormality (Table 2). The incidence of tubal abnormality was significantly higher in CT seropositive infertile patients (81.8 %, 18 / 22) than that in CT seronegative patients (40.0 %, 4 / 10). The investigation on the seropositivity of IgA and IgG was shown in Table 3. Although there were 4 patients without tubal abnormality in 21 IgG positive patients, all of 13 IgA positive patients had tubal abnormality.

Relationship between CT antibody results and pe-

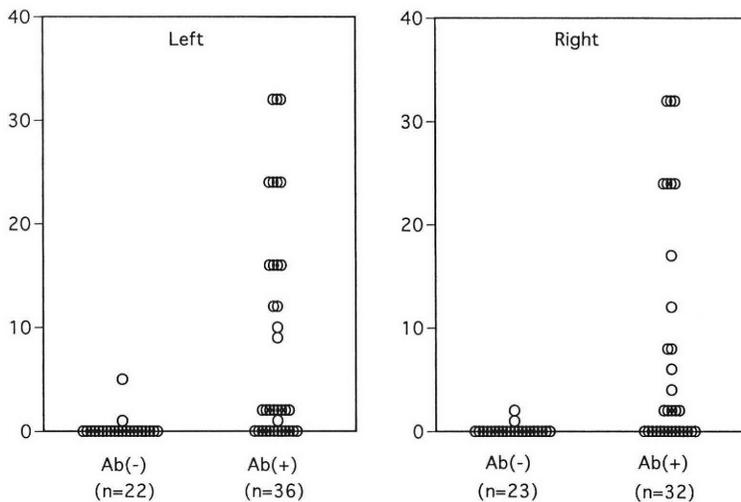


Fig. 1 Relationship between Chlamydia trachomatis antibody and adnexal adhesion score (AFS)

riadnexal adhesion evaluated using AFS scoring system was shown in Fig 1. AFS scores in seropositive and seronegative patients were 8.8 ± 10.9 and 0.3 ± 1.1 in left tube, 8.0 ± 11.2 and 0.2 ± 0.6 in right tube respectively. Mean score of seropositive patients was significantly higher than that of seronegative patients in both left and right tubes.

Discussion

CT infections of genital tract are often asymptomatic or subclinical, go unrecognized as PID, and commonly called silent PID^{4,5,15}. Diagnosis of tuboperitoneal damage which resulted from silent PID is sometimes difficult in currently healthy women. Cates et al.⁴ reported the seropositivity for anti CT antibodies in 39 % to 73 % of tubal infertility patients and 32 % to 71 % of ectopic pregnancy patients, compared with 4 % to 31 % of controls with intrauterine pregnancies. Our results conformed well to these findings and indicated significant role of CT infection in tubal damage.

Our study also indicated that the significant high value of AFS adnexal adhesion score and the significant high incidence of tubal abnormality in the patients with positive CT antibody compared with the patients with negative antibody, and that the possible predictive value of CT antibody for tubal damage. It has been reported that CT antibody testing has the clinical usefulness for predicting the severity of tubal damage¹⁵. Although we found a weak correlation between COI value and AFS adhesion score (data not shown), it was difficult to conclude the presence of significant correlation because of small number of subjects.

To evaluate the relationship between CT antibody and tubal damage, IgG antibody was commonly determined^{2,6,12,16}. Although high prevalence of IgG antibody was observed in infertile patients with tubal damage, the presence of IgG antibody can not indicate current infection. IgM antibody is considered a marker of recent or current infection. Suchet, et al.⁹, however, observed that the presence of IgA and/or IgG antibodies accompanied with the absence of IgM antibodies in the current CT infection. Their finding indicated the difficulty for detecting current CT infection by antibody testing. In our study, tubal ab-

normality was not demonstrated in all of IgA positive patients. This finding indicated a possible clinical significance of IgA, possibly indicating a rather recent infection, compared with IgG. However, the prevalence of IgA and IgG in the patients with tubal abnormality revealed no statistical difference. In addition, the incidence of tubal abnormality and pelvic adhesion revealed no difference between IgA and IgG seropositive patients, which indicated equal clinical value of IgA and IgG antibody for predicting tubal abnormality and pelvic adhesion. Czerwenka et al. reported almost identical seropositivity for IgA and IgG in laparoscopically diagnosed PID patients¹⁷.

In conclusion, the presence of CT antibody, although it does not contribute to the diagnosis of current infection, indicates a high incidence of pelvic adhesion or tubal abnormality which resulted from PID and also indicates the need for early laparoscopy to evaluate tubal condition in infertile patients.

References

- 1) Ripa KT, Svensson L, Treharne JD, et al. (1980) Chlamydia trachomatis infection in patients with laparoscopically verified acute salpingitis. Result of isolation and antibody determinations. *Am J Obstet Gynecol* 138: 960-964
- 2) Gump DW, Gibson M, Ashikaga T (1983) Evidence of prior pelvic inflammatory disease and its relationship to Chlamydia trachomatis antibody and intrauterine contraceptive device use in infertile women. *Am J Obstet Gynecol* 146: 153-159
- 3) Faro S (1991) Chlamydia trachomatis: Female pelvic infection. *Am J Obstet Gynecol* 164: 1767-1770
- 4) Cates W, Wasserheit JN (1991) Genital chlamydial infections: Epidemiology and reproductive sequelae. *Am J Obstet Gynecol* 164: 1771-1781
- 5) Ault KA, Faro S (1993) Pelvic inflammatory disease. *Post graduate Med* 93: 85-91
- 6) Cates W, Joesoef MR, Goldman MB (1983) A typical pelvic inflammatory disease: Can we identify clinical predictors?. *Am J Obstet Gynecol* 169: 341-346
- 7) Walters MD, Eddy CA, Gibbs RS, et al. (1988) Antibody to Chlamydia trachomatis and risk for tubal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 159: 942-946

- 8) Henry-Suchet J, Catalan F, Foffredo V, et al. (1980) Microbiology of specimens obtained by laparoscopy from controls and from patients with pelvic inflammatory disease or infertility with tubal obstruction: Chlamydia trachomatis and ureaplasma urealyticum. *Am J Obstet Gynecol* 138: 1022-1025
- 9) Henry-Suchet J, Revol C, Elbhor MA, et al. (1994) Post-therapeutic evolution of serum chlamydial antibody titers in women with acute salpingitis and tubal infertility. *Fertil Steril* 62: 296-304
- 10) Conway D, Glazener CMA, Caul EO, et al. (1984) Chlamydial serology in fertile and infertile women. *Lancet* 1: 191-193
- 11) Dabekausen YAJM, Evers JLH, Land JA, et al. (1994) Chlamydia trachomatis antibody testing is more accurate than hysterosalpingography in predicting tubal factor infertility. *Fertil Steril* 61: 833-837
- 12) Meikle SF, Calonge BN, Zhang X, et al. (1994) Chlamydia trachomatis antibody titers and hysterosalpingography in predicting tubal disease in infertility patients. *Fertil Steril* 62: 305-312
- 13) Teisala K, Heinonen PK, Aine R, et al. (1987) Second laparoscopy after treatment of acute pelvic inflammatory disease. *Obstet Gynecol* 69: 343-346
- 14) The American Fertility Society (1988) The American Fertility Society classifications of adnexal adhesions, distal tubal occlusion, tubal occlusion secondary to tubal ligation, tubal pregnancies, Müllerian anomalies and intrauterine adhesions. *Fertil Steril* 49: 944-955
- 15) Patton DL, Moore DE, Spadoni LR, et al. (1989) A comparison of the fallopian tube's response to overt and silent salpingitis. *Obstet Gynecol* 73: 622-630
- 16) Minassian SS, Wu CH (1992) Chlamydia antibody by enzyme-linked immunosorbent assay and associated severity of tubal factor infertility. *Fertil Steril* 58: 1245-1247
- 17) Czerwenka K, Heuss F, Hosmann J, et al. (1994) Salpingitis caused by chlamydia trachomatis and its significance for infertility. *Acta Obstet Gynecol Scand* 73: 711-715

(受付: 1997年4月21日)

(受理: 1997年5月23日)

血中抗クラミジア抗体と骨盤内癒着および卵管障害の相関

愛知医科大学産婦人科学教室

正橋鉄夫, 保條説彦, 岡本俊充

野口昌良, 中西正美

腹腔鏡または開腹手術により腹腔内を検索しえた71例(不妊症32例, 子宮外妊娠27例, PID6例, その他6例)を対象として, 血中抗クラミジアIgAおよびIgG抗体を測定し, 測定結果と骨盤内および卵管周囲癒着との関係について検討した. さらに不妊症例32例において腹腔鏡または子宮卵管造影法により評価した卵管障害とクラミジア抗体との関係についても検討した.

IgAまたはIgG抗体のうち少なくともいずれか一方が陽性であった症例を抗体陽性例とすると, 骨盤内癒着が存在した症例の頻度は, 抗体陽性例で70.5% (31/44), 抗体陰性例では18.5% (5/27)であり, 両者の間に有意な差を認めた. AFS付属器癒着スコアを抗体陽性例と陰性例で比較したところ左卵管で 8.8 ± 10.9 および 0.3 ± 1.1 , 右卵管で 8.0 ± 11.2 および 0.2 ± 0.6 (mean \pm SD)と左右とも抗体陽性例で有意に高値であった. 不妊症例における卵管障害の頻度は, 抗体陽性例で86.4%, 陰性例で44.4%と抗体陽性例で有意に高かった.

以上の結果は, 骨盤内癒着および卵管障害を予測する上で抗クラミジア抗体測定が有用であることを示唆しており, 特に不妊症例において抗クラミジア抗体が陽性の場合, 腹腔鏡により卵管の状態を評価することが望ましいと考えられた.

キーワード: 抗クラミジア抗体, PID(骨盤内炎症性疾患), 不妊症, 子宮外妊娠

閉塞性無精子症に対する手術療法の成績

Results of Surgical Treatment for Obstructive Azoospermia

富山医科薬科大学泌尿器科学教室

岩崎 雅志
Masashi IWASAKI

太田 昌一郎
Shoichiro OHTA

布施 秀樹
Hideki FUSE

Department of Urology

Facu-Itly of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University

済生会富山病院

風間 泰蔵
Taizo KAZAMA

Saiseikai Toyama Hospital

永遠幸マタニテイクリニック

高塚 亮三
Ryozou TAKATSUKA

道倉 康仁
Yasuhito MICHU-KURA

加藤 修
Osamu KATO

Towako Maternity Clinic

1979年10月より1996年9月までに富山医科薬科大学附属病院泌尿器科において閉塞性無精子症と診断された52例に対して各種手術を行い以下の結果を得た。

原因疾患としては先天性精管欠損症14例，両側鼠径ヘルニア術後12例，両側精巣上体炎8例，両側精管切断術後8例，精管末端拡張症2例，不明8例であった。顕微鏡下精管精管吻合術は8例において施行したが，術後すべての症例で精子の出現がみられ現在観察中の1例を除いた7例中4例(57.1%)で妊娠に至った。精管精巣上体吻合術を施行した6例では，術後2例(33.3%)で精子の出現がみられたが妊娠に至ったものはみられなかった。人工精液造設術は7例に対して施行したが，穿刺液中に精子の出現を認めたものは4例であり，人工授精を施行したがいずれも妊娠には至らなかった。Microsurgical epididymal sperm aspirationは17例に施行したが，3例(17.6%)において妊娠がみられた。精管末端拡張症の2例に対して，経尿道的射精管口切開術を施行し，2例中1例(50%)において術後精子の出現をみたが妊娠には至らなかった。

キーワード：閉塞性無精子症，顕微鏡下精管精管吻合術，顕微鏡下精管精巣上体吻合術，Microsurgical epididymal sperm aspiration

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 286 - 291, 1997)

緒言

閉塞性無精子症は男性不妊症の5～7%を占め¹⁾，最近では精管精管吻合術および精管精巣上体吻合術における顕微鏡手術の導入，また，急速に進歩をとげたAssisted Reproductive Technology (ART)の応用などに

より治療成績の向上がみられている^{2,3)}。今回，当科における閉塞性無精子症に対する手術療法の成績について報告する。

対象および方法

1979年10月より1996年9月までに富山医科薬科大

学附属病院泌尿器科を不妊を主訴に受診した患者1360名のうち無精子症は243名(17.5%)であった。そのなかで閉塞性無精子症と診断された52名(3.8%)を対象とした。その原因疾患、閉塞期間、精巣組織所見などについて検討を加えるとともに各種治療法の成績について検討した。

当科の治療方針としては閉塞部位の明らかな症例には顕微鏡下精管精管吻合術(一層縫合法)⁴⁾ないし精管精巣上体吻合術などの精路再建術を第一選択として施行する。後者については、肉眼的に精巣上体管と精管との永久的瘻孔形成を期待する fistula technique⁵⁾、ないし顕微鏡下の精巣上体管と精管との end-to-side 法⁶⁾を施行、射精管口閉塞症例には経尿道的射精管口切開術を行う⁷⁾。一方、それらの失敗例および先天性精管欠損症など欠損部位が長く再建術が不可能な症例には従来、人工精液嚙造設術を行い、回収精子を Artificial insemination with husband's semen (AIH) に供したが⁸⁾、最近 Microsurgical epididymal sperm aspiration (MESA) を施行している¹⁰⁾。MESA により採取した精子を体外受精に供したが、その方法としては Gamete Intra Fallopian Transfer (GIFT)、Zygote Intra Fallopian Transfer (ZIFT)、In Vitro Fertilization-Embryo Transfer (IVF-ET) の他、採取精子数の少ないときは顕微授精として Partial zona dissection (PZD)、Subzonal insemination (SUZI)、Intra-cytoplasmic sperm injection (ICSI) を施行しているが、最近

の症例はほとんど ICSI を行っている。

結 果

閉塞の原因は先天性精管欠損症14例、両側鼠径ヘルニア術後12例と両者で全体の半数を占めた。その他、両側精巣上体炎8例、両側精管切断術後8例、精管末端拡張症2例および原因不明8例であった。

治療としては顕微鏡下精管精管吻合術8例、精管精巣上体吻合術6例(そのうち4例は fistula technique、2例は顕微鏡下 end-to-side 法)、人工精液嚙造設術7例を施行、また、17例に対して MESA を行い、採取精子を体外受精に供した。精管末端拡張症に対して経尿道的射精管口切開術を2例に施行。また、患者が治療を希望しないなどの理由にて治療を施行しなかった症例が17例あった。

治療成績は、精管精管吻合術では8例すべて精子の出現を認め、そのうち3か月以上観察できた7例中4例(57.1%)で妊娠を認めた。閉塞原因、閉塞期間および Johnsen score count と治療成績との間には一定の関係はなかった(表1)。精管精巣上体吻合術の成績は fistula technique を行った3例では術後精子の出現はみられなかった。また、1例では片側 fistula technique を対側に顕微鏡下精管精管吻合術を行い術後精子の出現をみたが妊娠には至らなかった。顕微鏡下 end-to-side 法を行った2例では1例において術後1か月で精子の出現をみ、術後7か月で精子数:12×

表1 顕微鏡下精管精管吻合術施行症例

症例	原因	閉塞期間 (年)	Johnsen score count			精子数; /ml (精子運動率; %)		妊娠
			右	左	前	1か月	3か月	
1	両側精管切断後	2	8.8	9.4	0	36×10 ⁶ (0%)	2×10 ⁶ (0%)	-
2	両側精管切断後	30	-	-	0	52×10 ⁶ (12%)	-	-
3	両側精管切断後	2	8.8	8.5	0	36×10 ⁶ (36%)	-	+
4	両側精管切断後	9	9.4	9.0	0	93×10 ⁶ (6%)	63×10 ⁶ (56%)	+
5	両側精管切断後	8	8.9	8.3	0	7×10 ⁶ (0%)	-	-
6	両側精管切断後	5	9.7	9.6	0	-	1×10 ⁶ (0%)	+
7	両側鼠径ヘルニア術後	24	9.2	9.4	0	26×10 ⁶ (4%)	128×10 ⁶ (4%)	+
8	両側鼠径ヘルニア術後	22	7.8	8.2	0	3×10 ⁶ (0%)	経過観察中	

表2 顕微鏡下精管精巢上体吻合術施行症例

症例	原因	閉塞期間 (年)	術式	Johnsen score count			精子数; /ml (精子運動率; %)		妊娠
				右	左	前	1か月	3か月	
1	両側精巢上体炎	6	fistula technique (右)	8.8	8.0	0	0	0	—
2	両側精巢上体炎	8	fistula technique (両側)	8.0	8.2	0	0	0	—
3	両側精巢上体炎	7	fistula technique (両側)	7.6	8.2	0	0	0	—
4	両側精管切断術後	4	fistula technique (右) 顕微鏡下精管精管(左) 吻合術	—	—	0	50 × 10 ⁵ (19%)	0	—
5	両側精巢上体炎	不明	顕微鏡下(右) end-to-side	7.8	8.1	0	0	0	—
6	両側精巢上体炎	不明	顕微鏡下(右) end-to-side	7.5	7.9	0	24 × 10 ⁴ (0%)	7 × 10 ⁶ (7%)	—

表3 人工精液瘤造設術施行症例

症例	原因	閉塞期間 (年)	Johnsen score count		精子数; /ml (精子運動率; %)			妊娠
			右	左	1か月	2か月	6か月	
1	両側鼠径ヘルニア術後	24	7.9	7.3	15 × 10 ⁴ (25%)	0	—	—
2	両側鼠径ヘルニア術後	36	—	—	0	0	—	—
3	両側鼠径ヘルニア術後	35	7.8	8.5	極少数 (0%)	0	—	—
4	両側鼠径ヘルニア術後	30	7.2	7.9	0	0	0	—
5	両側精管欠損	27	7.4	7.2	0	—	—	—
6	両側精管欠損	28	—	—	0	5 /全視野 (0%)	—	—
7	両側精管欠損	35	8.2	8.4	50 × 10 ⁶ / (右) (20%) 5 × 10 ⁶ (左) (20%)	0 19 × 10 ⁶ (10%)	0	—

10⁶/ml, 精子運動率: 9%となったが現在のところ妊娠には至っていない。なお、この症例の左右のJohnsen score countは7.5および7.9と比較的低かった(表2)。人工精液瘤造設術は術後7例中4例において穿刺液中に精子の出現をみたが、術後6か月の時点でいずれも精子の回収ができなくなった。なお、精子を回収した4例に対してAIHを施行したが妊娠には至らなかった(表3)。MESAを施行した17例中運動性精子の回収できたものは16例あり1例は精子回収ができなかった。回収できた16例の体外受精の方法はGIFT: 1例, ZIFT: 3例, PZD: 3例, SUZI: 2例, ICSI: 7例であった。原疾患と妊娠との関係は先天性精管欠損症は4例中1例(ICSI), 鼠径ヘルニア術後の3例は

2例(SUZI: 1例, ICSI: 1例)に妊娠を認めたが、精巢上体炎の6例および原因不明4例はいずれも妊娠しなかった。全症例17例中妊娠の得られたものは3例(17.6%)であった。射精管口の狭窄あるいは閉塞との診断にて経尿道的射精管口切開術を施行した2例のうち1例において精子の出現をみたが、6か月の時点で再度無精子症となり妊娠には至らなかった(表4)。

考 察

精路通過障害に起因する閉塞性無精子症は手術により妊孕性の回復が可能であり、最近では画像診断の発達および各施設による本疾患に対する関心度の上昇により本疾患は増加傾向にある。

表4 経尿道的射精管口切開術施行症例

症例	原因	閉塞期間 (年)	Johnsen score count			精子数; /ml (精子運動率; %)			妊娠
			右	左	前	1 か月	2 か月	6 か月	
1	射精管末端拡張症	33	9.3	8.8	0	5×10^6	12×10^5	0	—
2	射精管末端拡張症	32	—	—	0	0	0	0	—

精管精管吻合術においてCosら¹⁰⁾によると肉眼的手術と顕微鏡下手術を比較すると精子出現率には差を認めないが、妊娠率は顕微鏡下手術の方が優れていたとの報告がある。顕微鏡下精管精管吻合術については一層縫合と二層縫合の術式があり、手術手技の簡略化、手術時間の短縮化、術後成績においても差がみられず一層縫合で十分との報告^{11,12)}と二層をwater tightに吻合したほうが成績が良好¹³⁾との意見がある。当科においては全例一層縫合を施行したが粘膜どおしをきっちりあわせるようにすれば内径に大きな差があるもの以外は、一層縫合で良いと考えている。閉塞期間10年以上経過した症例では吻合術の成績が悪いとの報告¹⁴⁾があるが、当科の成績では症例数も少ないこともあり明らかな差はみられなかった。Johnsen score countと妊娠との関係では相関を認めないとの報告が多く、自験例でも大部分の例でscore countが8.2以上で良好であり関連を認めなかった。

精管精巣上体吻合術については当科において肉眼的に行うfistula techniqueを施行した3例では精子の出現はみられず、また、片側fistula technique、もう一方を精管精管吻合術を施行した1例では精子の出現をみたが妊娠はみられずその術後成績は不良であった。fistula techniqueは一般的にその成績は不良とされており、最近では顕微鏡下手術がもっぱら施行される。本法にはSilberら¹⁵⁾によるspecific tubule法、end-to-side法などがありおのおのその手術成績は良好との報告¹³⁾があるが、前者の方法は精巣上体断面から精巣へ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が欠点として挙げられる。一方end-to-side法は前者に比べ手技的に比較的容易とされ¹⁶⁾、当科でも顕微鏡下end-to-side法を2例で行い1例にて妊娠には至っていないが術後早期より精子の出現をみている。精管精巣上体吻合術の場合は精子出現まで3か月以上要する例もあり、最低6か月までは経過観察が必要であり、精子出現後も精子濃度の改善に要する時間も精管精管吻合術より長い傾向があったとの報告¹³⁾もあり、今後本症例もさらに経過観察が必要と思われる。

精管末端拡張症に対して経尿道的射精管口切開術

を2例に施行したが、1例にて精子の出現をみたが妊娠には至らなかった。本症に対して通常は経尿道的切除ないし切開が行われているが、当科では切開部位を正確に判断するため射精管口にガイドワイヤーを通して精管よりインジコカルミンを注入しながらcold knifeにて縦切開を行っている。Meachamら¹⁷⁾は24例に対して本法を施行し精液所見改善が約50%、妊娠が約27%に認められたと報告しているが、我々も今後、症例を重ねて検討したい。

人工精液嚢造設術は7例において施行したが4例にて精子の出現をみてAIHを行ったが十分な精子が回収できず、いずれも妊娠には至らなかった。本邦でも妊娠例の報告は4例しかなく¹⁸⁾精子採取の可能な期間が短くAIHが施行できる回数に限界があることも¹⁹⁾、妊娠率が低いことの一因と考えられ、精子の凍結保存および体外受精の応用などの工夫が必要と考える。人工精液嚢にかわるものとして最近ではMESAを行っているが17例において施行しそのうち16例にて運動性精子を回収でき、3例(17.6%)において妊娠をみた。本成績は諸家の報告^{16,20)}と比べて遜色はなく、体外受精法として主にICSIを用いるようになってからは、さらに高い妊娠率を得ている(未発表データ)。最近我々は妊娠率の向上とともに患者の肉体的、精神的および経済的負担の軽減を目指し、精子ないし胚の凍結保存も試みている。一方、精巣輸尿管の閉塞例や複数回の精巣上体精子吸引により精巣上体よりの精子回収ができなくなった症例などに対して精巣内精子回収法(Testicular Sperm Extraction)が行われるようになったが、Silberら²¹⁾によると本法によるICSIの成績とMESA-ICSIのそれとを比較すると受精率、分割率および妊娠継続率には両者に差はみられないと述べている。

近年の婦人科側を中心としたARTの進歩は目をみはるものがあり、ともすれば男性側の治療が軽んじられる傾向がないともいえないが、夫婦の愛情に包まれた性行為による自然妊娠が理想であるので、閉塞性無精子症の治療の基本方針は精路再建術により自然妊娠を期待するのを第一目標として、その失敗例およびその施行の不可能な症例に対しては各種のARTを施行し妊娠率の向上に努めるのが望ましいと

考える。その際、女性側の年齢と体外受精での受精率、妊娠率が関係していることなどから時期を逸しないように婦人科側とも密に連携をもって最も適切な方法で不妊カップルの挙児の希望をかなえることが大切であろう。

文 献

- 1) Dubin L, Amelar RD (1971) Consecutive cases of male infertility. *Fertil Steril* 22: 469-474
- 2) 藤澤章二, 瀧原博史, 酒徳治三郎 他 (1986) 精路再建術の検討. *ホと臨床* 34: 186-192
- 3) Belker AM (1984) Microsurgical repair of obstructive causes of male infertility. *Semin Urol* 2: 91-98
- 4) Fuse H, Kimura H and Katayama T (1995) Modified one-layer microsurgical vaso-vasostomy in vasectomized patients. *Int Urol Nephrol* 27: 451-456
- 5) 吉田謙一郎, 中目康彦, 金親史尚 他 (1984) Organic obstructive azoospermia 11 症例に対する副精管吻合術: その臨床的検討. *日不妊会誌* 29: 310-314
- 6) Thomas AJ Jr (1987) Vaso-epididymostomy. *Urol Clin North Am* 14: 527-538
- 7) 寺田為義, 坂井健彦, 奥村昌央 他 (1989) 精管末端部異常拡張症の2例. *泌尿紀要* 35: 153-157
- 8) 寺田為義, 里見定信, 梅田慶一 他 (1985) 閉塞性無精子症に対する Allo-plastic spermatocele の使用経験. *泌尿紀要* 31: 2307-2311
- 9) 風間泰蔵, 高峰利充, 奥村昌央 他 (1995) 精巣上体精子の不妊治療への応用. *産科と婦人科* 62: 903-908
- 10) Cos LR, Volvo JR, Davis RS, et al. (1983) Vaso-vasostomy: current state of the art. *Urol* 22: 567-575
- 11) 武島 仁, 石川博通, 岡野克紀 他 (1986) Microsurgery による精管-精管吻合術. *臨泌* 40: 981-98
- 12) 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顕微鏡下一層縫合術による精管精管吻合術. *日不妊会誌* 33: 661-667
- 13) 松田公志, 六車光英, 小松洋輔 他 (1993) 精路閉塞症に対する精管精管吻合術および精巣上体精管吻合術. *日泌尿会誌* 84: 1665-1674
- 14) Silber SJ (1977) Microscopic vasectomy reversal. *Fertil Steril* 28: 1191-1202
- 15) Silber SJ (1997) Perfect anastomical reconstruction of vas deferens with a new microscopic surgical technique. *Fertil Steril* 28: 72-77
- 16) 秋山博伸, 永井 敦, 市川孝治 他 (1996) 閉塞性無精子症の臨床的検討. *日泌尿会誌* 41: 229-233
- 17) Meacham RB, Hellerstein DK, Lipshultz LI (1993) Evaluation and treatment of ejaculatory duct obstruction in the infertile male. *Fertil Steril* 59: 393-397
- 18) 吉田英樹 (1991) 男子不妊症に対する外科的治療. *臨泌* 45: 7-13
- 19) Moore HDM, Hartman TD, Pryor JP (1983) Development of the oocyte-penetrating capacity of spermatozoa in the human epididymis. *Int J Androl* 6: 310-318
- 20) 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
- 21) Silber SJ, Van Steirteghen AC, Liu J (1995) High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biop-sy. *Hum Reprod* 10: 148-152

(受付: 1997年4月22日)

(受理: 1997年5月28日)

Results of surgical treatments for obstructive Azoospermia

Masashi Iwasaki, Shoichiro Ohta and Hideki Fuse

Department of Urology
Faculty of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University

Taizo Kazama
Saiseikai Toyama Hospital

Ryozou Takatsuka, Yasuhito Michi-kura and Osamu Kato
Towako Maternity Clinic

We clinically evaluated 52 patients with obstructive azoospermia. Causes of the obstruction were congenital defect of the vas deferens in 14 patients, bilateral inguinal hernioplasty in 12, bilateral epididymitis in 8, vasectomies in 8, obstruction of ejaculatory duct in 2 and unknown in 8.

Operations were performed in 40 patients, including vasovasostomy in 8, vasoepididymostomy in 6, artificial spermatocele in 7, microsurgical epididymal sperm aspiration (MESA) in 17 and TUR of vermontanum in 2.

After vasovasostomy, sperm appeared in all patients and pregnancy was achieved in 4 patients (57.1%). On the other hand, after vasoepididymostomy, sperm appeared in 2 patients (33.3%), however, no pregnancy was achieved. In 7 patients who were performed artificial spermatocele, sperm appeared in 4. But pregnancy was not achieved in them. MESA was performed 17 patients, and in 3 (17.6%) of them pregnancy was achieved. In TUR of vermontanum, sperm appeared in 50% (1 case), however, pregnancy was not achieved.

Key words: obstructive azoospermia, microsurgical vasovasostomy, microsurgical vasoepididymostomy, MESA

機能性不妊カップルの予後に関する検討

Prognosis of Unexplained Infertility: A Clinical Study in 36 Cases

札幌医科大学泌尿器科学講座

木村 慎
Makoto KIMURA
立木 仁
Hitoshi TACHIKI

三熊 直人
Naohiko MIKUMA
高木 誠次
Seiji TAKAGI
塚本 泰司
Taiji TSUKAMOTO

伊藤 直樹
Naoki ITOH
笹尾 拓巳
Takumi SASAO

Department of Urology

Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060, Japan

夫婦ともに明らかな不妊の原因を認めない、機能性不妊症例の自然妊娠に関する予後を検討した。14～63か月(平均34.9か月)の観察期間に、機能性不妊36例中21例(58.3%)で自然妊娠が成立した。挙児を予定した時期からの累積妊娠率は3年で18.2%、6年で41.4%、9年で59.6%であった。不妊期間が7年以上で妊娠したのは2例のみで、9年以上不妊の継続する症例を5例認めた。妊娠例、非妊娠例の間で夫および妻の年齢、精子濃度、精子運動率、性交頻度に有意差は認めなかった。さらに運動精子濃度を3群に分類し累積妊娠率を比較したが有意差は認めず、一般的精子所見のみから自然妊娠の有無は予想できなかった。精子の質的検査の必要性が示唆された。

キーワード：機能性不妊、累積妊娠率

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 292 - 296, 1997)

緒言

夫婦ともに明らかな不妊の原因を認めない機能性不妊症例は、不妊原因の3～60%を占める¹⁻⁶⁾。こうした症例の妊娠率は3～57.4%であり¹⁻⁶⁾、Artificial Reproductive Technology (以下ART)が必要な症例が多数含まれる。しかし、機能性不妊症例において、どの位の期間まで自然妊娠を期待でき、いつARTに踏み切るかは今のところ基準はなく、あくまでインフォームドコンセントに基づく夫婦の希望で行われている。

以上のことから、どの位の期間でどの程度自然妊娠が期待できるかという検討が必要と思われる。そこで機能性不妊における自然妊娠の有無をretrospectiveに調査した。また現在行われている精液検査法により機能性不妊の予後を予測することが可能か否かについても検討した。

対象および方法

1991年4月より1994年12月までの間に不妊を主訴として札幌医科大学付属病院泌尿器科を受診し、下記条件を満たした118カップルを調査対象とした。

- 1) 原発性不妊で、不妊期間は1年以上。
- 2) 用手法で採取した精液検査所見：精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上、運動率50%以上、奇形率50%未満。

以上の症例に対し、質問紙の送付または電話インタビューにより、妊娠成立の有無および妻側の検査結果に関し調査を行った。

118例中回答の得られたのは73例(61.9%)であった。このうち25例で妻側が不妊をきたしうる異常を有していた。妻側の検査内容は施設により差異を認めるものの、一般的検査による子宮、卵管因子および卵巣因子に関して検査が施行されており、その内訳は卵管通過障害9例、黄体機能不全7例、子宮内

膜症3例, 子宮筋腫1例, 多嚢胞性卵巣1例, 双角子宮1例, 卵管通過障害と多嚢胞性卵巣の合併が1例, 頸管粘液過少が1例, 内容不明が1例であった。これら25例を除く48例を機能性不妊症例と診断した。この48例中12例にはARTが施行されており, 内訳はArtificial insemination with husband's semen (以下AIH)7例, In vitro fertilization-embryo transfer (以下IVF-ET)2例, Gameteintra-fallopian transfer (以下GIFT)2例, 内容不明1例であった。ARTに関しては, 大部分の症例で夫の検査時妻も検査段階であったため, 当科から積極的にARTを勧めた症例はなく, 治療については結果的に妻側の産婦人科主治医に委ねることとなった。妊娠成立に関しては自然妊娠のみを検討対象とし, 結果的にARTを施行していない36例を自然妊娠の予後検討対象とした。これらの症

例全体の精子濃度は $51 \times 10^6/\text{ml} \sim 360 \times 10^6/\text{ml}$ で, 平均精子濃度は $147.3 \times 10^6/\text{ml}$ であった。また統計解析にはMann-Whitney Utest, Logrank testを用い, $p < 0.05$ を有意差ありとした。

結 果

ARTを施行していない機能性不妊症例の, 初診までの不妊期間は12~132か月(平均65.9か月), 当院受診後の観察期間は14~63か月(平均34.9か月)であった。

観察期間中に全36例中21例(58.3%)で自然妊娠が成立し, 20例(55.6%)で挙児を得た。受診までの不妊期間と観察期間を合わせて総不妊期間とし, LambらによるLife-table法⁷⁾を用いて累積妊娠率を算出すると, 満3年経過時点では18.2%, 6年で41.1%, 9

表1 原発性機能性不妊カップルの累積妊娠率(Life-table法)

不妊期間 (年)	期間内 非妊娠例数	期間内 妊娠例数	期間内 妊娠率	期間内 非妊娠率	累積 非妊娠率	累積 妊娠率
1~2	30	3	0.091	0.909	0.909	0.091
2~3	27	3	0.100	0.900	0.818	0.182
3~4	25	2	0.074	0.926	0.757	0.243
4~5	20	2	0.085	0.915	0.693	0.307
5~6	16	3	0.154	0.846	0.586	0.414
6~7	12	3	0.194	0.806	0.472	0.528
7~8	7	0	0.000	1.000	0.472	0.528
8~9	6	1	0.143	0.857	0.404	0.596
9~	5	1	0.167	0.833	0.337	0.663

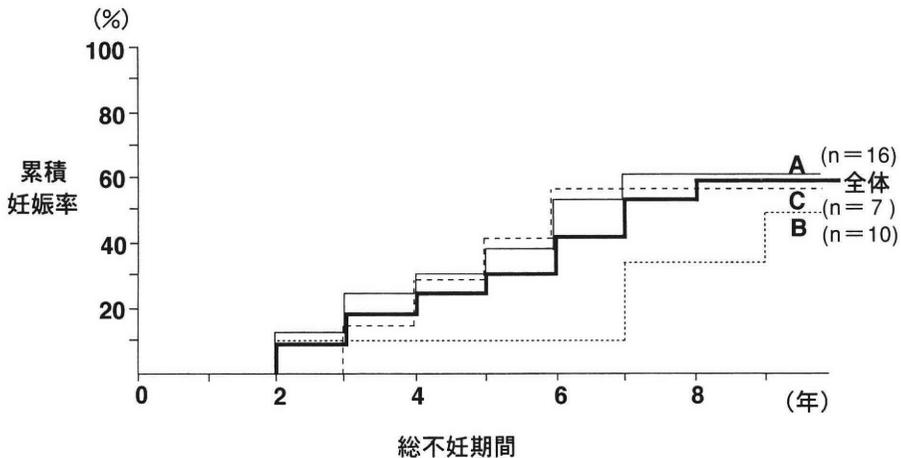


図1 運動精子濃度と累積妊娠率

- A: $10 \times 10^6/\text{ml} \leq$ 運動精子濃度 $< 100 \times 10^6/\text{ml}$
- B: $100 \times 10^6/\text{ml} \leq$ 運動精子濃度 $< 150 \times 10^6/\text{ml}$
- C: $150 \times 10^6/\text{ml} >$ 運動精子濃度

年で59.6%であった。9年以上不妊の持続する症例は5例(13.9%)であった(表1)。

つぎに、精液検査所見から自然妊娠の予後が予測可能かどうかを検討するため、運動精子濃度を3群に分類し、それぞれ妊娠率を比較した(図1)。運動精子濃度をA: $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以上 $100 \times 10^6/\text{ml}$ 未満 ($n = 16$)、B: $100 \times 10^6/\text{ml}$ 以上 $150 \times 10^6/\text{ml}$ 未満 ($n = 10$)、C: $150 \times 10^6/\text{ml}$ 以上 ($n = 7$)とすると、総不妊期間9年経過時点の累積妊娠率はそれぞれ61.3%、50.5%、57.1%であったが3群間に有意差は認めなかった。

夫および妻の年齢、精子濃度、精子運動率、精子奇形率、性交頻度について比較したが妊娠群、非妊娠群間に差は認めなかった(表2)。

ARTを施行した機能性不妊症例は12例で、年齢は26~42(平均30.0)歳、ARTを行うまでの不妊期間は12~120(平均63.1)か月であった。AIHを行った7例(平均不妊期間61.9か月)中2例で妊娠、IVFは2例(不妊期間いずれも72か月)とも妊娠を認めず、GIFT

は2例(不妊期間36, 84か月)いずれも妊娠が成立した(表3)。

妻の検査で何らかの異常が認められた25例中14例が妊娠したが、このうち9例は自然妊娠であった。ARTによる妊娠はIVF-ETが2例、AIHが3例であった(表4)。

考 察

今回の検討の目的のひとつは機能性不妊のカップルに対しどのような治療方針を立てるべきなのか、ということにある。問題点としては、1)どの程度の不妊期間をもってARTにふみきるか、2)現行の精液検査は精子の質的異常を検出できるのか否かということである。

機能性不妊の原因は現在のところ明らかではなく、また潜在している原因究明の手段も確立されていない。今回の検討により、少なくとも一般的な精液検査では機能的な不妊の検査として不十分であり、より

表2 年齢、精液所見、性交頻度—妊娠例、非妊娠例での比較

	妊娠例 (n = 21)	非妊娠例 (n = 15)	
平均観察期間 (月)	12.4 ± 12.0	32.6 ± 17.1	(p = 0.007)
夫の平均年齢 (歳)*	31.2 ± 3.8	30.7 ± 4.1	(N.S)
妻の平均年齢 (歳)*	27.8 ± 2.4	27.6 ± 3.1	(N.S)
平均精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	138.2 ± 59.6	160.1 ± 83.6	(N.S)
平均精子運動率 (%)	75.1 ± 12.2	75.3 ± 13.1	(N.S)
平均奇形率 (%)	8.0 ± 1.9	13.7 ± 3.4	(N.S)
性交頻度			
> 1 /Week	38.1 %	40.0 %	
1 /Week	28.6 %	33.3 %	
< 1 /Week	33.3 %	26.7 %	

(Mean ± S.D.) * 挙児を予定した時点の年齢

表3 ARTを施行した機能性不妊症例の予後

症例	年齢 (歳)	ARTまでの不妊期間 (月)	ARTの内容	妊娠の有無
1.	31	12	AIH	-
2.	28	36	AIH	-
3.	28	36	AIH	-
4.	26	58	AIH	-
5.	30	72	AIH	+
6.	36	99	AIH	+
7.	28	120	AIH	-
8.	26	72	IVF	-
9.	27	72	IVF	-
10.	29	36	GIFT	+
11.	30	84	GIFT	+
12.	42	60	不明	-

表4 妻側の検査で異常を認めた症例の予後

	ATRなし	AIH	IVF	計
卵管通過障害	3 / 5	0 / 1	2 / 3	5 / 9
黄体機能不全	5 / 6	0 / 1	—	5 / 7
子宮内膜症	0 / 2	0 / 1	—	0 / 3
子宮筋腫	—	1 / 1	—	1 / 1
多嚢胞性卵巣	1 / 1	—	—	1 / 1
多嚢胞性卵巣+卵管通過障害	—	0 / 1	—	0 / 1
双角子宮	—	1 / 1	—	1 / 1
頸管粘液過少	0 / 1	—	—	0 / 1
不明	—	1 / 1	—	1 / 1
計	9 / 15	3 / 7	2 / 3	14 / 25

*分子/分母=妊娠症例数/該当症例数

表5 機能性不妊の累積自然妊娠率—過去の報告例(すべてLife-table法による)

報告者(報告年)	症例数	総妊娠率(%)	累積妊娠率(%)
Lenton et al (1977) ²⁾	88	43.0	36.2(7年経過時)
Templeton et al (1982) ⁵⁾	91	46.0	66.0(9年経過時)
Reusseau et al (1983) ⁶⁾	47	57.4	64.9(3年経過時)
自験例(1996)	36	58.3	59.6(9年経過時)

詳細な検査が必要と思われる。

男性側の原因として考えられるのは精子の運動能、受精能といった質的異常である。近年さまざまな精子機能検査が行われており、潜在する機能性不妊の原因が解き明かされつつある。精子運動能の検査法としては、精子自動分析装置やウシ頸管粘液中の精子移動度により評価するPenetrakが可能な検索手段である。精子受精能の評価法としては、先体反応を起こした精子の頭部に存在するCD46に対するモノクローナル抗体MH61を用いたアクロビーズテストが行われている。大橋ら⁸⁾は、同法のIVFの結果に対するsensitivityは99%であったと報告している。Sperm penetration assay, Hypoosmic swelling testなどの精子受精能検査が行われ、IVF成績との相関性が示されているが、これらでどの程度精子の質的異常の存在を明らかにできるかさらなる解明が望まれる。

現在のところ、精子の受精能に関し、機能性不妊症例でのIVF成績が報告されているが、Mackennaら⁹⁾は、一般的精液検査とともに正常であった機能性不妊症例群と卵管通過障害を有する症例群でIVFの成績を比較したところ、機能性不妊症例は有意に成功率が低かったと報告しており、また同様な結果を示す報告も見受けられる¹⁰⁾。我々の症例でも、不妊期間がいずれも6年の2例でIVFが施行されたが受精には至っておらず、これらの症例に精子の受精能異常

が存在する可能性が高いものと思われる。

精子の運動能異常に関しては、機能性不妊における意義は不明である。Mackennaら⁹⁾は、検査上正常であった女性に対してIntra uterine inseminationによるAIDを行ったところ、妊娠率は28.4%であったと報告している。一方、Kirbyら¹¹⁾のデータでは、機能性不妊症例のIUI1サイクルでの妊娠率は4.1%となっている。Mackennaらは、機能性不妊の原因として精子の運動能異常の存在は確かではないであろうと述べている¹²⁾。しかしながら今回検討したAIH施行症例(7例)の中に比較的の不妊期間の長かった(72か月および99か月)成功例があり、精子の運動能異常が存在していた可能性は否定できなかった。

今回の検討結果からARTを施行すべき時期を厳密に決定することは困難であるが、不妊期間7年までに52.8%が妊娠し、また7年を過ぎて妊娠を認めた例が2例のみであることから、不妊期間7年以上の症例はARTが適当と思われる。機能性不妊の予後^{25,6)}は、表2に示したように、我々の結果と大差なく、約40%のカップルで自然妊娠が得られていない。機能性不妊症例にいつARTを行うべきか、ということに関して明確に述べている報告はみあたらないが、Templetonら⁵⁾は不妊期間が9年以上の機能性不妊カップルは自然妊娠を期待できないであろうと述べている。

今後機能性不妊症例に対しては可能な限り精子の

質的検査も行い、異常を認めた場合はARTを考慮する、また異常がなければ最長7年まで経過観察するのが可能と思われる。しかし、妻の年齢が高い症例では、早期にARTを施行すべきであろう。

文 献

- 1) Southam Anna L(1960) What to do with the "Normal" infertile couple. *Fertil Steril* 11: 543-549
- 2) Lenton EA, Weston GA, Cooke ID(1977) Long-term follow-up of the apparently normal couple with a complaint of infertility. *Fertil Steril* 28: 913-919
- 3) Tietze C (1968) Fertility after discontinuation of oral contraception. *Int J Fertil* 21: 555
- 4) Collins JA, Rowe TC (1989) Age of the female partner is a prognostic factor in prolonged unexplained infertility: a multicenter study. *Fertil Steril* 52: 15-20
- 5) Templeton AA, Penney GC (1982) The incidence, characteristics, and prognosis of patients whose infertility is unexplained. *Fertil Steril* 37: 175-181
- 6) Rousseau S, Lord J, Lepage Y, Campenhout JV (1983) The expectancy of pregnancy for "normal" infertile couples. *Fertil Steril* 40: 768-772
- 7) Lamb EJ, Cruz AL (1972) Data collection and analysis in an infertility practice. *Fertil Steril* 23: 310-320
- 8) 大橋一友, 佐治文隆, 谷澤 修 他(1993)新しい精子機能検査としてのアクロビーズテスト. *産婦の世界* 45: 859-862
- 9) Mackenna A, Zegers-Hochschild F, Fernandez EO, et al. (1992) Fertilization rate in couples with unexplained infertility. *Hum Reprod* 7: 223
- 10) Fahy UM, Cahill DJ, Wardle PG, et al. (1995) In vitro fertilization in completely natural cycles. *Hum Reprod* 10: 572
- 11) Kirby CA, Flaherty SP, Godfrey BM, et al. (1991) A prospective trial of intra-uterine insemination of motile spermatozoa versus timed intercourse. *Fertil Steril* 56: 102-107
- 12) Mackenna A (1995) Contribution of the male factor to unexplained infertility: a review. *Int J Androl* 18, suppl. 1: 58-61

(受付: 1997年5月9日)

(受理: 1997年7月24日)

Prognosis of unexplained infertility: A clinical study in 36 cases

Makoto Kimura, Naohito Mikuma, Naoki Itoh, Hitoshi Tachiki,
Seiji Takagi, Takumi Sasao and Taiji Tsukamoto

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

We retrospectively investigated the prognosis of primary infertility couples who did not show any abnormality by conventional diagnostic techniques. Thirty-six couples were followed for a period of 14 to 63 months (mean 34.9 months) after the initial evaluation and twenty one (58.8 %) of them achieved pregnancy spontaneously. Cumulative conception rates were 18.2, 41.4 and 59.6 % after 3, 6, 9 years of their reproductive attempts, respectively. Only two couples achieved pregnancy after 7 years. Five couples remained infertile after 9 years. Age, sperm density, sperm motility, coital frequency did not affect pregnancy rate. These results suggest that conventional sperm analysis cannot predict the probability of spontaneous pregnancy. Thus sperm quality test may be necessary in such couples.

Key words: unexplained infertility, cumulative pregnancy rate

不妊症患者の運動精子における障害感受性の検討

Evaluation of Fragility of Motile Sperm from Infertile Patients

大阪大学医学部泌尿器科学教室

山中 幹基 Masaki YAMANAKA	坪庭 直樹 Naoki TSUBONIWA	古賀 実 Minoru KOGA
西村 憲二 Kenji NISHIMURA	辻村 晃 Akira TSUJIMURA	北村 雅哉 Masaya KITAMURA
高原 史郎 Shirou TAKAHARA	松宮 清美 Kiyomi Matsumiya	奥山 明彦 Akihiko OKUYAMA

Department of Urology

Osaka University Medical School, Osaka 565, Japan

男性不妊症患者の不妊の原因は精子濃度ばかりでなく、運動精子における障害の易感受性が考えられる。そこで我々は不妊症患者、健常男性のそれぞれの運動精子をSwim up法によって調整し、抗精子抗体による免疫学的負荷をかけて運動性の変化を比較、検討した。

対象は当科不妊外来を受診した軽度の乏精子症患者(精子濃度 $20 \sim 50 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率50%以上)5名、妊孕能が確認されている健常男性5名の精液である。Swim up法を用い、同数の運動精子を調整し、これを検体とした。負荷は抗精子抗体(+)あるいは(-)の血清を加え、経時的に運動性(運動率、運動速度、直進性)の変化を精液自動分析装置(CASA: CellSoft™ 4000)を用いて測定した。

不妊症患者群、健常男性群の血清を加える前の運動率はそれぞれ84.8%、93.0%で、抗精子抗体(-)血清を加えた2時間後ではそれぞれ73.5%、86.5%であり、抗精子抗体(+)血清の場合はそれぞれ41.8%、63.7%であった。抗精子抗体(+)血清において不妊症患者群の運動率は健常男性群のそれに比較して有意な低下がみられた。運動速度、直進性においては両者間に有意な差はなかった。

不妊症患者の運動精子は健常男性のものと比較して、運動性がより障害を受けやすいことが示唆され、男性不妊症における妊孕性の障害には、この要因が関与する可能性があるものと考えられた。

キーワード：男性不妊症、精液検査、CASA、抗精子抗体

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 297 - 302, 1997)

緒 言

乏精子症患者の不妊の原因は運動精子濃度が低いとされている。しかし運動精子自体の質についてはどうであろうか。コンピューターにて解析した運動精子の運動速度と受精能力が相関するりとされているデータもあり、乏精子症患者の精子運動性が健常者に比べて劣っている可能性も考えられる。また射出後の精子が受精に至るまでにさまざまな障壁があることより、健常者に見劣りしない運動性であっても同じ負荷に対して、より大きな障害を受けるこ

とも考えられる。

そこで我々は、乏精子症患者、健常男性それぞれの運動精子に抗精子抗体(anti sperm antibody: ASA)による免疫学的負荷をかけて、運動性の経時的変化を精液自動分析装置(computer-assisted sperm analyzer: CASA)を用いて測定し、その運動の各種パラメーターを両者間で比較、検討した。

対 象

大阪大学および大阪中央病院不妊外来を受診した男性不妊症患者5例、妊孕能が確認された健常男性5

例より用手法にて採取された精液を承諾を得て対象とした。WHOによると、乏精子症は精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下と定義されている²⁾。しかしこの濃度以下における精子の運動性は負荷を加える以前から極端に劣っており、障害感受性を比較するに十分な運動精子を確保することが困難である。そこで今回の検討では精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上、 $50 \times 10^6/\text{ml}$ 未満、運動率 50% 以上の患者精液を対象とした。患者群の精子濃度は $24 \sim 48 \times 10^6/\text{ml}$ 、平均 $41.9 \pm 10.4 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率は 55 ~ 74%、平均 $64.3 \pm 7.2\%$ であり、対照群の精子濃度は $96 \sim 183 \times 10^6/\text{ml}$ 、平均 $148 \pm 36.7 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率は 63 ~ 82%、平均 $73.5 \pm 8.1\%$ であった。

なお、提供者は全員抗精子抗体陰性であった。抗精子抗体は SRL 社において蛍光抗体間接法により精子頭部先端部の凝集抗体を IgG, IgA, IgM の各クラスにおいて検出した。これは精子浮遊液を希釈した患者血清と反応させ、精子上の抗体を蛍光標識したヤギ抗ヒトイムノグロブリン血清とフローサイトメーターを用いて検出するものである³⁾。

方法

運動精子の調整は星らの layering method⁴⁾ に準じて行った。射出直後の精液を試験管に移して 30 分間室温にて十分に液化した後、磯島が改変した BWW (Bigger, Whitten, Whittengham)-BSA 培養液⁵⁾ 1.5 ml をゆっくりと重層させて 37℃ にて 90 分間静置後、上層の 1.0 ml を回収した。これにより不妊症男性群、健常男性群とも運動率の高い検体が得られた(表 1)。この Swim up した精子を含んだ BWW-BSA 液 120 μl に

対し、抗精子抗体陽性男性の血清を 60 μl 、対照には抗精子抗体陰性男性血清を 60 μl 加えた。

37℃、5% CO₂ で血清注入直後、注入 1 時間後、注入 2 時間後に 40 μl を顕微鏡ステージ自動温度制御システム(東海ヒット社製サーモプレート)にのせ保温した Makler counting chamber にのせて精子の運動性を CASA (computer assisted sperm analyzer CellSoft™ 4000) で測定し、不妊症男性群、健常男性群の間で比較、検討した。検定には Mann-Whitney U-test を用いた。

結果

CASA においては 1981 年 Levine らが精子自動分析装置として報告⁶⁾して以来、精子運動能の解析が発展してきたが、その仕組みは位相差顕微鏡の使用により精子の頭部が光り、その光の軌跡を精子運動像としてとらえるとともに、各種パラメーターを自動的に解析するものである。CellSoft™ 4000 は処理速度の向上により検体の経時的変化の測定に有用である⁷⁾。

今回の検討には運動率、運動速度、直進性を用いた。運動率は任意に選んだ精子数のうち実際に運動している精子数の割合であり、運動速度は精子の実際に動いている軌跡の距離を運動時間で除したものである。直進性は CellSoft™ の定義では 2 点間の直進方向の速度を各瞬間の部分速度の和で除したものに 10 を乗じたものである⁸⁾(図 1)。各パラメーターの測定においては、実際に動いている精子数が 200 個以上に達するまで計測フレーム数を重ねていった⁹⁾。

抗精子抗体を含まない血清(ASA(-) serum)を加え

表 1 精液所見

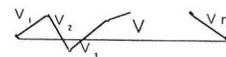
	濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	運動率 (%)
不妊症男性 (n = 5)	41.9 \pm 10.4	64.3 \pm 7.2
健常男性 (n = 5)	148.0 \pm 36.7	73.5 \pm 8.1
↓ Swim up		
不妊症男性 (n = 5)	23.9 \pm 14.9	84.8 \pm 9.2
健常男性 (n = 5)	85.2 \pm 39.1	93.0 \pm 5.2

(Mean \pm S.D.)

位相差顕微鏡の使用により精子の頭部が光、その光の軌跡を精子運動像としてとらえ、コンピューターが各種パラメーターを自動的に解析する。

- ・ 運動率 (%Motility)
- ・ 運動速度 (Velocity)
- ・ 直進性 (Linearity)

$$\text{直進性} = \frac{V}{V_1 + V_2 + \dots + V_n} \times 100$$



10 : 直進 0 : 円運動

(鈴木 1994 年⁹⁾より改変引用)

図 1 CASA: Computer assisted sper, analyzer

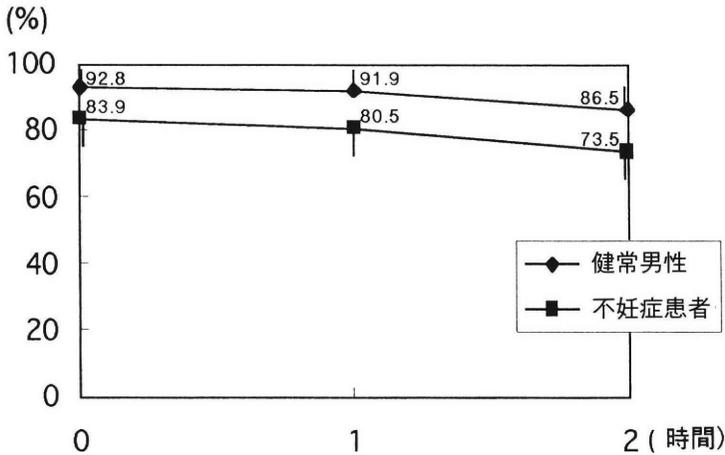


図2 精子運動率 (ASA (-) serum)

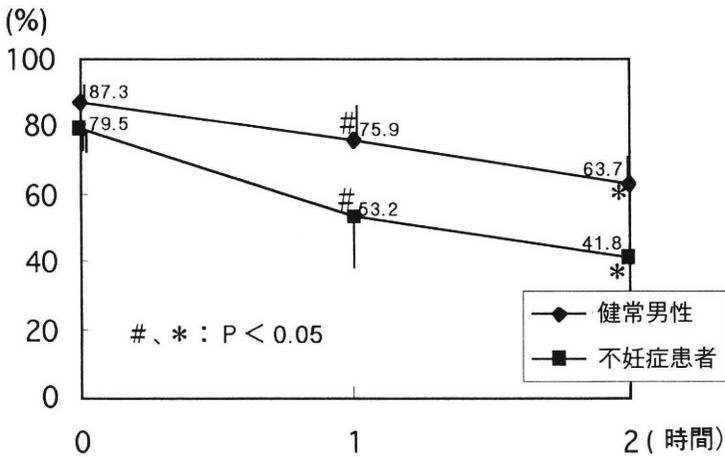


図3 精子運動率 (ASA (+) serum)

た場合の精子運動率を示す(図2)。健常者群、不妊症患者群とも経時的な低下の度合いはゆるやかで両群間に有意差はなかった。一方、抗精子抗体を含む血清(ASA (+) serum)を加えた場合(図3)、不妊症患者群の運動率は血清注入直後、1時間後、2時間後はそれぞれ79.5 ± 9.3%、53.2 ± 10.2%、41.8 ± 10.4% (いずれも平均 ± 標準偏差)で同時間後における健常者群の87.3 ± 4.1%、75.9 ± 6.9%、63.6 ± 8.9%と比べて1時間後、2時間後の運動率の値ならびに低下の度合いに有意な低下がみられた。

精子運動速度はASA (-) serumを加えた場合(図4)、ASA (+) serumを加えた場合(図5)とも健常者群、不妊症患者群いずれもゆるやかな経時的低下を示しているが両者間に有意な差はなかった。

精子運動直進性についてもASA (-) serumを加えた

場合(図6)、ASA (+) serumを加えた場合(図7)とも健常者群と不妊症患者群との間に有意な差はなかった。なおこれら運動速度運動直進性は平均値での比較であるが、最高値においても明らかな差はなかった。

考 察

乏精子症患者における妊娠性の低下は単に運動精子数の低下によるものだけでないことは我々が臨床経験することで、運動精子を濃縮しただけでは問題の解決にはつながらない。Hinneyら¹⁰⁾は271例の体外受精症例に用いられた精液を調べ、妊娠例と非妊娠例とを比較し、swim up後、精子サンプルのパラメーターは両群で有意差を認めなかったにもかかわらず、もとの精液のパラメーターは妊娠群の方が良好であったと述べた。不妊症患者ではswim upで正常の運動精子の数、

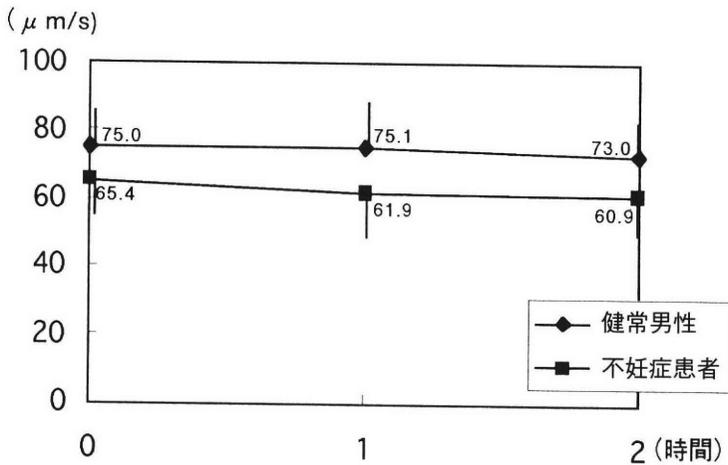


図4 精子運動速度 (ASA (-) serum)

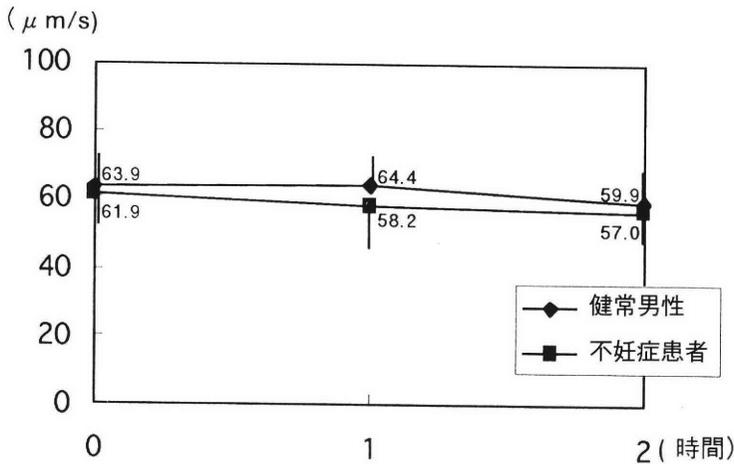


図5 精子運動速度 (ASA (+) serum)

濃度を得ても、妊孕能は低い、つまり不妊症患者の運動精子の質的機能低下が推察される。

ではこのような患者精子には何が起きているのであろうか。Sinhaら¹¹⁾は不妊症患者の精子細胞膜は不安定であるとし、その構成成分に違いを見い出している。また浸透圧の変化に対しても、不妊群の精子は弱いといわれている¹²⁾。今回我々はより臨床的な検討として抗精子抗体を含む血清を不妊症患者の精子に加え、その運動の変化をCASAによって解析した。不妊症患者精子では抗精子抗体を含む血清の添加で運動率の低下が健常者群に比べ有意に認められた。一方、精子運動速度、直進性については平均値、最高値とも2群間に有意差はなかった。不妊患者精子における障害に対する不安定性は多数の精子に一樣にあるのではなく、安定な精子については健

常群と変わりが無いことが示唆された。つまりこの“安定な精子”は不妊患者群でもより低い割合で存在するわけであるが、その抽出はswim up法でもできず、今後の課題と思われる。

精子の卵細胞質内注入法においてはその妊娠率あるいは受精率に精子のパラメーターはあまり影響がないといわれている¹³⁾が、人工授精、あるいは通常体外受精においては使われる精子の受精能の評価が大きな問題となり、治療法の選択に苦慮することや患者に不要の負担を長期にわたって負わせてしまうことも少なくない。この精子の受精能を評価すべく、コンピューター解析を含め多くのパラメーターが検討されてきた^{14~16)}が、ある程度の運動精子が存在する場合には正確な評価は難しい。今回の我々の結果では、精子に対し抗精子抗体というある種の負

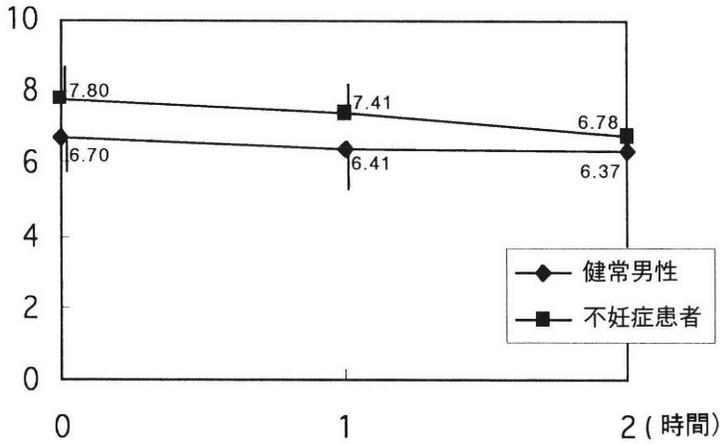


図6 精子運動直進性 (ASA (-) serum)

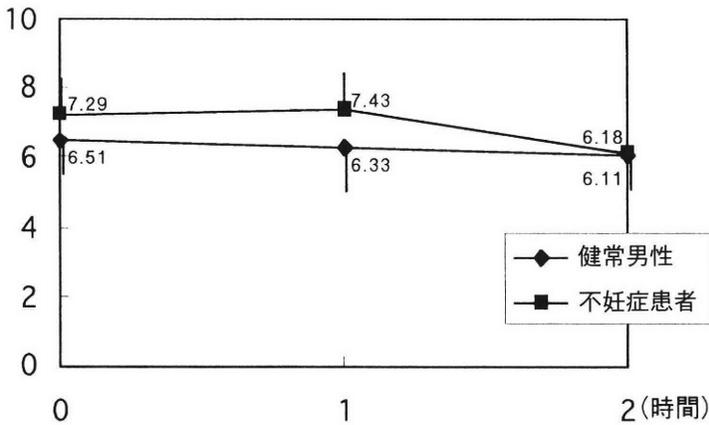


図7 精子運動直進性 (ASA (+) serum)

荷を加えることにより、従来評価が困難であった軽度乏精子症精子の質的な違いを明らかにすることができた。これが直接妊孕能の違いにつながるか否かは今後の検討課題であるが、少なくとも今回の結果で示された不妊患者精子の障害に対する安定性の低下は女性生殖器内での精子の短時間での死滅、あるいは運動性の低下が起こる可能性を示している。

正常精液中には補体系はわずかで、活性化されない¹⁷⁾。通常の精液検査はこのような負荷のない状況で行われるわけであるが、女性の頸管粘液内には大量の補体が含まれており¹⁸⁾、抗精子抗体が精子に付着し、精子運動が妨げられるのみならず、補体を含むcascade反応により、精子細胞膜が障害される可能性も高い。したがって抗精子抗体を含んだ血清を加えることはより生体内での反応に近い状況を再現できるものと思われ、精子の受精能の検定に新たな側面をみせるものとして期待される。

本論文の要旨は第85回日本泌尿器科学会総会(横浜, 1997)において発表した。

稿を終えるにあたり本研究にご協力をいただいた大阪中央病院、竹山政美先生、近藤宣幸先生、中村吉宏先生、CellSoft™ 4000を貸与された(株)ニューロサイエンス社に深謝いたします。

文 献

- 1) Holt WV, Moore HD, Hillier SG (1985) Computer-assisted measurement of sperm swimming speed in human semen: correlation of results with in vitro fertilization assays. Fertil Steril 44: 112-119
- 2) WHO (1987) WHO laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-cervical Mucus Interaction, Cambridge University Press, Cambridge, New York, New Rochelle, Melbourne, Sydney, 27

- 3) Hass GG Jr, Cunningham ME (1984) Identification of antibody-laden sperm by cytofluorometry. *Fertile Sterile* 42: 606-613
- 4) 星 和彦, 長池文康, 桃野耕太郎 他 (1983) われわれの行っている精液静置法 "layering method" による精液中からの良好精子の分離. *日不妊誌* 1: 101-105
- 5) 磯島晋三 (1996) 臨床生殖免疫 磯島晋三 編 第1版 メジカルビュー社 東京P47
- 6) Levin RM, Greenberg SH, Wein AJ (1981) Clinical use of the turbidimetric analysis of sperm motility: comparison with visual techniques. *Fertil Steril* 35: 332-336
- 7) 四倉正巳, 遠山裕一, 岩淵正之 他 (1997) 精子運動自動分析装置を用いた男性不妊症患者精子運動性の分析. *日不妊誌* 42: 67-73
- 8) 鈴木正昭 (1994) 精液検査. *Medical Technology* 22: 357-361
- 9) Davis RO, Kats DF (1993) Operational Standards for CASA Instruments. *J Androl* 14: 385-394
- 10) Hinney B, Wilke G, Michelmann HW (1993) Prognostic value of an automated sperm analysis in IVF or insemination therapy. *Andrologia* 25: 195-202
- 11) Sinha S, Kumar GP, Laloraya M (1994) Abnormal physical architecture of the lipophilic domains of human sperm membrane in oligospermia: A logical cause for low fertility profiles. *Biochem Biophys Res Comm* 198: 266-273
- 12) Ramirez JP, Carreras A, Mendoza C (1992) Sperm plasma membrane integrity in fertile and infertile men. *Andrologia* 24: 141-144
- 13) Gil-Salom M, Minguez Y, Rubio C, et al. (1996) Intra-cytoplasmic sperm injection: A treatment for extreme oligospermia. *J Urol* 156: 1001-1004
- 14) Thanki KH, Gagliardi CL, Schmidt CL (1992) Poor in vitro fertilization outcome with semen yielding low sperm density "swim-ups" is not because of altered sperm motion parameters. *Fertil Steril* 58: 770-775
- 15) Check JH, Bollendorf A, Lee MA, et al. (1990) Correlation of computerized semen analysis with successful fertilization of oocytes in vitro fertilization program. *Arch Androl* 24: 229-234
- 16) Sharara FI, Illions EH, Coddington CC, et al. (1995) Evaluation of the Tru-Trax cervimucus penetration test in predicting fertilization and pregnancy rates in in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 10: 1481-1485
- 17) D'Cruz OJ, Haas GG Jr (1990) Lack of complement activation in the seminal plasma of men with antisperm antibodies associated in vivo on their sperm. *Am J Reprod Immunol* 24: 51-57
- 18) Price RJ, Boettcher B (1979) The presence of complement in human cervical mucus and its possible relevance to infertility in women with complement-dependent sperm-immobilizing antibodies. *Fertil Steril* 32: 61-66

(受付: 1997年5月16日)

(受理: 1997年7月24日)

Evaluation of fragility of motile sperm from infertile patients

Masaki Yamanaka, Naoki Tsuboniwa, Minoru Koga, Kenji Nishimura,
Akira Tsujimura, Masaya Kitamura, Shirou Takahara, Kiyomi Matsumiya
and Akihiko Okuyama

Department of Urology
Osaka University Medical School, Osaka 565, Japan

To prove fragility of motile sperm of infertile patients, we compared the decrease of sperm motility by adding serum containing anti-sperm antibody (ASA). Semen samples from five infertile patients having sperm concentration of $20 \sim 50 \times 10^6/\text{ml}$ and motility of more than 50 % were analyzed using a computer assisted semen analyzer (CASA).

Motile sperm were prepared for the study by swim-up technique and their fragility was assessed by adding serum with or without ASA. The motility rate of sperm from infertile patients decreased from 84.8 % to 41.8 % by adding ASA (+) serum, while those from normal volunteers dropped from 93.0 % to 63.7 %. These two groups had significant difference in motility but not in linearity and velocity. No difference was observed by adding ASA (-) serum between two groups.

These results showed increased fragility of sperm of infertile patients.

Key words: male infertility, semen analysis, CASA, anti sperm antibody

GnRH agonist投与下でのLH subpopulationの検討

Effects of GnRH Agonist on Luteinizing Hormone (LH) Subpopulations

横浜市立大学医学部産婦人科学教室(主任:水口弘司教授)

柳 澤 隆

Takashi YANAGISAWA

Department of Obstetrics and Gynecology

Yokohama City University School of Medicine, Yokohama 236, Japan

(Director: Prof. Hiroshi Minaguchi)

GnRH agonist (GnRHa) による脱感作への post receptor level での関与を解明する目的でGnRHa投与下でのLH subpopulationを検討し、以下の結果を得た。

1) GnRHa投与症例でpolyclonal抗体を用いた血中LH測定値(polyLH)およびmonoclonal抗体を用いたimmunoradiometric assayによるLH測定値(monoLH)をみると、GnRHa投与前ではmonoLHはpolyLHと $r=0.95$ で高い相関を示したが、monoLH/polyLHはGnRHa投与前0.30から投与24週後には0.04と低下した。

2) GnRHa 24週間投与前後の血清についてpolyLH, monoLH, biological LH (bioLH), およびsubunitを測定した。GnRHa投与によりmonoLHは4.94 mIU/mlから0.65 mIU/ml, bioLHは0.55 mIU/mlから0.12 mIU/mlと有意に低下を示したが、LH α subunitは3.70 ng/mlから6.24 ng/mlと有意に増加した。

3) GnRHa 16週間投与後の血清をgel chromatographyにて分画し、各分画についてpolyLH, monoLH, bioLHおよび α subunitを測定した結果、polyLH, monoLH, bioLHのいずれの活性をも示す分画(分配係数 $K_{av}=0.11$)に続いてpolyLHおよび α subunitの活性を示す分画($K_{av}=0.27$)がみられた。

このことはGnRHaの過剰刺激に対し、下垂体細胞内post receptor levelにおいてはbioLHの合成、分泌機能が対応できず、 α subunitが増加することが示唆された。

キーワード: GnRH agonist, LH subpopulation, immunoradiometric assay, biological LH, LH α subunit

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 303 - 309, 1997)

緒 言

GnRHaは子宮内膜症、子宮筋腫、思春期早発症、前立腺癌、乳癌の治療などに広く用いられているが、GnRHaの視床下部-下垂体-性腺系に対する脱感作の機構についてはまだ充分解明されているとはいえない。GnRHaの持続的大量投与によりGnRH receptorのdown regulationがみられる。しかしGnRH receptor levelのみで脱感作機構がすべて説明しうるかどうか明らかではない。そこで、LHのheterogeneityを調べ、LH α subunit (α subunit), monoclonal抗体を用いたimmunoradiometric assayによる血中LH測定値(monoLH), polyclonal抗体を用いた血中LH測定値(polyLH), biological LH (bioLH)について測定、検討した。

対象および方法

対象と方法については子宮内膜症症例でGnRHa (buserelin acetate 900 μ g/day)を月経周期5日目より経鼻投与した症例を対象とした。39症例については投与前および投与24週間後の血中LH値をモノクロナール抗体を用いたimmunoradiometric assay (IRMA) (スパッカーS, LHキット, 第1ラジオアイソトープ) (monoLH)と、ポリクロナール抗体を用いた従来のradioimmuno assay (LHキット「第一」, 第1ラジオアイソトープ) (polyLH)にて測定、あわせて血中estradiol値(E_2)を測定した。

19症例については0~24週までの各週毎に採血し、血中のpolyLHおよびmonoLHを比較した。

9症例については24週間GnRHa投与前および投与

後についてpolyLHおよびmonoLHを測定し、あわせてLH biological activity (bioLH)をVan Dammeらの方法^{2,3)}に準じてラットLydig cellを用いて調べた。また、LH α subunitについてもNIHより提供を受けたLH α subunitの抗体(hLHa 22 VO 2)および標準品(hLHa 22 VO 1)を用い、NIHのprotocolにしたがってクロラミンT法にてhLH α subunitをヨード化し、抗体は12000倍に希釈して、2抗体法で測定した。intra-assay variationは8%, inter-assay variationは12%, 測定感度は0.2 ng/mlであった。

3症例については患者同意のもとにGnRHa16週投与と血清2 mlを、PBSを用いてblue dextran, ¹²⁵I-LH, ¹²⁵Iとともにsephadex G 100 gel chromatography (1.2×90 cm)で、flow rate 4 ml/h, 操作圧90 cm, 室温4℃にて分画を行った。各分画は3 mlとし、濃縮、脱塩後monoLH, polyLH, bioLH, α subunitを測定した。対照としては、正常月経周期婦人卵胞期の血清を用いて同様の分画を行い、GnRHa投与症例との比較検討を行った。

なお、検定にはpair's t-testを用いた。

結 果

1) GnRHa 4 週間投与前後のpoly LHとmonoLHについて

GnRHa投与症例でpolyLH及びmonoLHを測定した結果、polyLHはmonoLHより高値を示し、GnRHa投与前ではmonoLH (Y)はpolyLH (X)と相関係数 $r =$

0.9597 ($n = 39$, $p < 0.001$)で高い有意な相関を示し、回帰直線は $Y = -2.973 + 0.241X$ であった(図1)。

2) GnRHa24週間投与におけるpolyLH, monoLH, monoLH/polyLH, E_2 の変動について

polyLHは投与前 20.1 ± 2.6 mIU/ml (mean \pm SE: $n = 19$)で、その後大きな変動を示さず、平均13 mIU/mlから31 mIU/mlを推移した。一方、monoLHは投与前 8.4 ± 1.9 mIU/mlから2週間後には 3.3 ± 2.2 mIU/mlと低下し、以後も0.5 mIU/mlから1.7 mIU/mlと低値を維持した。投与終了6週後で 7.5 ± 5.5 mIU/mlとほぼ投与前値に回復した。GnRHa投与症例の各週ごとのmonoLH/polyLHの変動は、投与前 0.30 ± 0.2 から投与2週間後には 0.15 ± 0.1 と有意に($p < 0.01$)低下し、以後も0.04から0.1と低値を維持し、図2の如くであった。monoLH/polyLHはGnRHa投与前 0.30 ± 0.05 (mean \pm SE: $n = 19$)で2週間後には 0.15 ± 0.02 と有意に($p < 0.01$)低下、その後低値を維持し、最低比は24週で 0.04 ± 0.01 であった。投与終了6週後で 0.25 ± 0.21 とほぼ投与前値に回復した。 E_2 値は投与前 94.1 ± 17.3 pg/mlから4週間後には 21.4 ± 5.5 pg/mlと有意に($p < 0.05$)低下し、その後10.2 pg/mlから9.2 pg/mlと低値を維持した。

3) GnRHa24週間投与前後におけるpolyLH, monoLH, bioLH, LH α subunitについて

GnRHa24週間投与前後のpolyLH, monoLH, bioLH, α subunitについて調べてみると、polyLHでは投与前 13.7 ± 2.1 mIU/ml (mean \pm SE, $n = 9$)から 13.1 ± 1.6

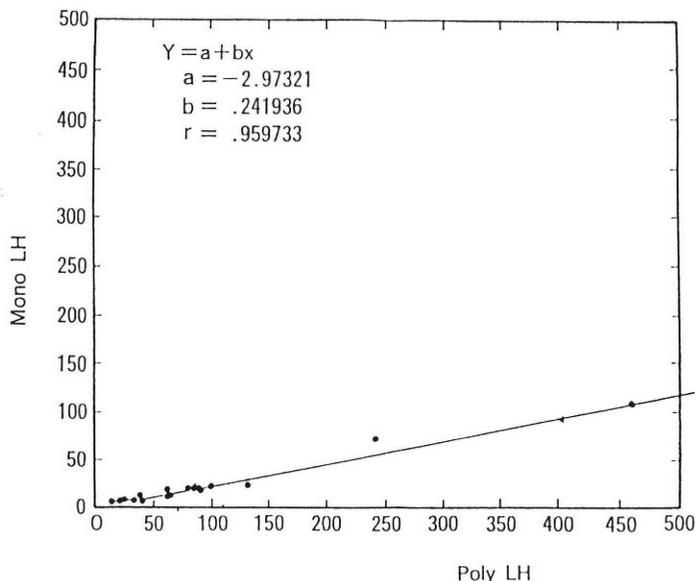


図1 GnRHa投与前のpolyLH, monoLHの相関

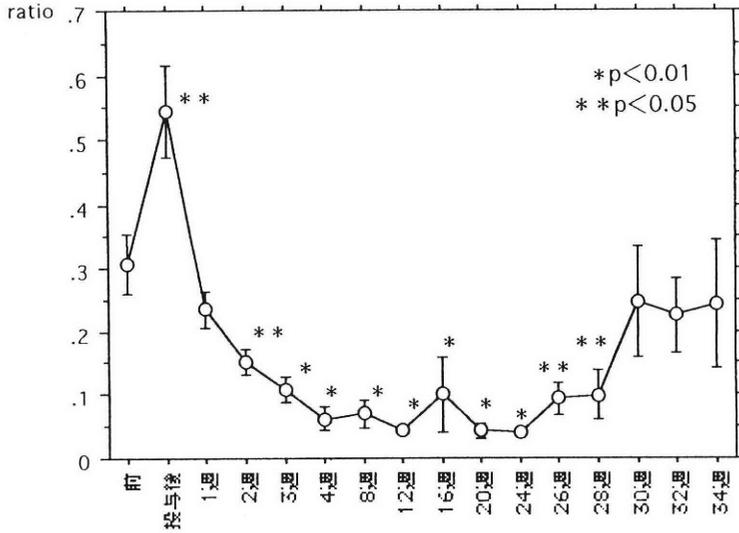
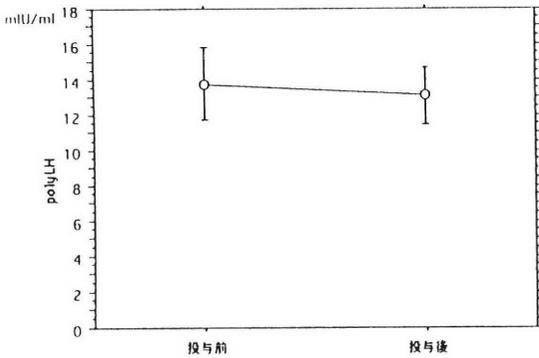
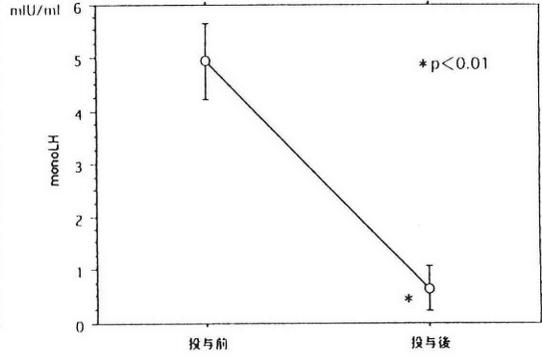


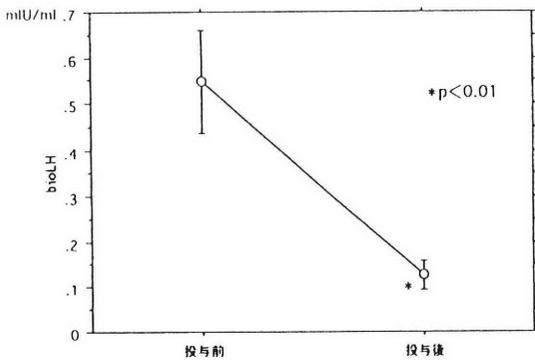
図2 GnRHa 24週投与におけるmonoLH/polyLHの変動(mean ± SE, n = 19)



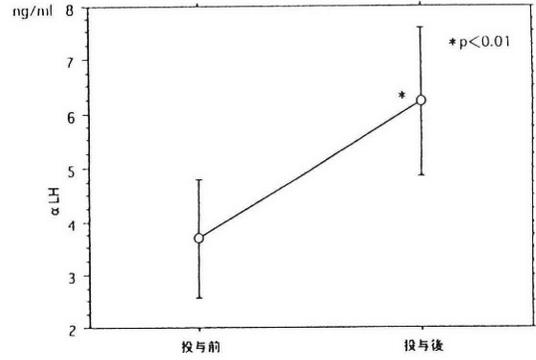
PolyLH GnRHa投与前後の比較(mean ± SE, n=9)



monoLH GnRHa24週投与前後の比較(mean ± SE, n=9)



bioLH GnRHa24週投与前後の比較(mean ± SE, n=9)



αLH GnRHa24週投与前後の比較(mean ± SE, n=9)

図3 GnRHa 24週投与前後におけるpolyLH, monoLH, bioLH, LH α-subunitの比較

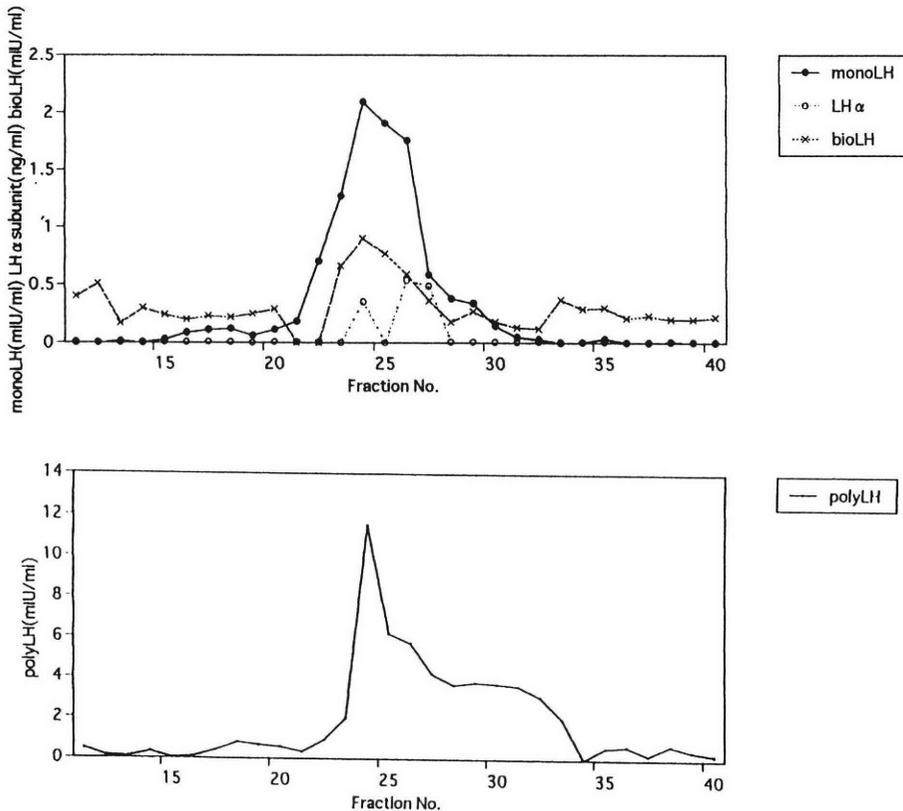


図4 対照血清における gel chromatography 分画の polyLH, monoLH, bioLH, LH α -subunit の比較

mIU/ml と有意な変動を示さないのに対して, monoLH では投与前 4.94 ± 0.7 mIU/ml から 0.65 ± 0.4 mIU/ml と有意に ($p < 0.01$) 減少し, GnRHa 投与により polyLH と monoLH の間に解離が生じた. GnRHa 投与前と比較して GnRHa 24 週間投与後の血清では, bioLH においても 0.55 ± 0.11 mIU/ml から 0.12 ± 0.03 mIU/ml と有意に ($p < 0.01$) 低下を示したが, α subunit は 3.70 ± 1.11 ng/ml から 6.24 ± 1.37 ng/ml と有意に ($p < 0.01$) 増加した (図3).

4) GnRHa 投与前後における gel chromatography 分画

の polyLH, monoLH, bioLH, α subunit について 16 週 GnRHa 投与の血清および対照としての正常月経周期婦人卵胞期血清を gel chromatography にて分画し, 各分画について polyLH, monoLH, bioLH, α subunit を測定した. gel chromatography は各血清について 3 回ずつ施行したが, ほぼ同様の結果が得られたので代表する結果を図4, 5に示す.

対照血清の gel chromatography では, polyLH の最も高値の分画は monoLH 最も高い分画と一致し, この分画は bioLH でも高値を示した. この他にも polyLH

の活性を示す低分子量の分画がいくつか認められた (図4). これに対して, 16 週間 GnRHa 投与後の血清では polyLH, monoLH のいずれも高値の分画 (分配係数 $K_{av} = 0.11$) に続いて polyLH のみを示す分画 ($K_{av} = 0.27$) がみられ, これは α subunit 活性を示す分画とほぼ一致した (図5). bioLH 高値の分画は polyLH, monoLH のいずれも高値を示す分画 ($K_{av} = 0.11$) のみ一致した.

考 察

GnRHa による下垂体脱感作前後で, ヒト血清中の polyLH, monoLH, bioLH, α subunit の変化を同時に比較検討した論文はまだ報告されていない. そこで, 本研究では post receptor level での GnRHa の作用を知るため, GnRHa 投与下での polyLH, monoLH, bioLH, subunit について測定, LH の heterogeneity を検討し, polyLH 値と monoLH 値との間に解離を生ずること, bioLH と monoLH はそれぞれ抑制されるが polyLH は抑制されないこと, polyLH として認識されるフリーの α subunit および LH fragment の増加することを明らかに

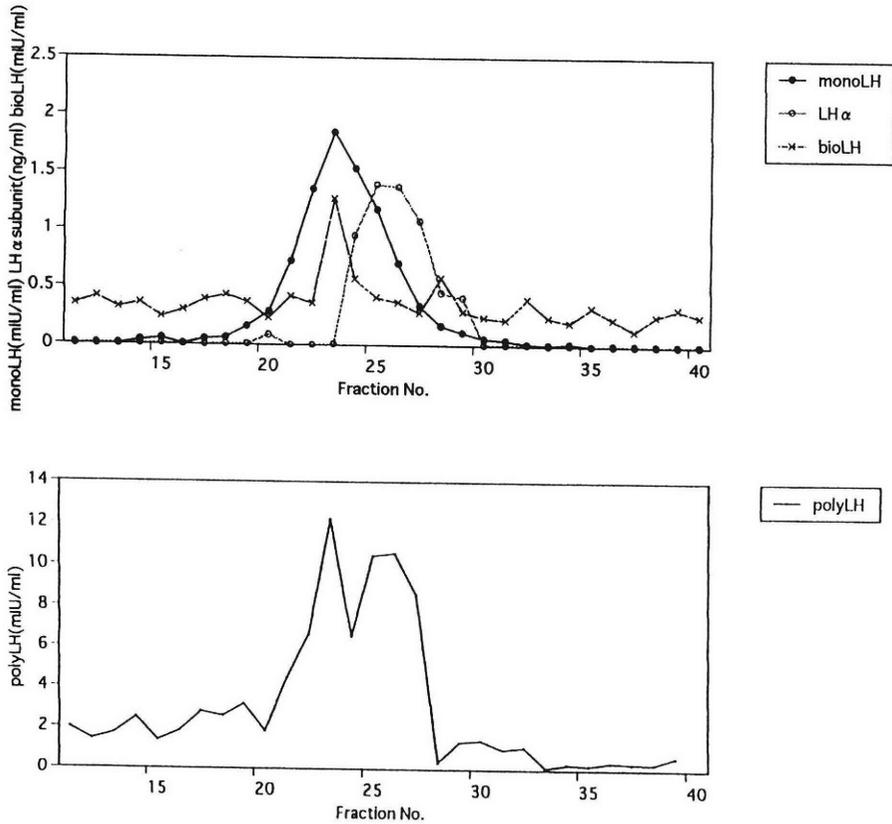


図5 GnRH投与血清における gel chromatography 分画の polyLH, monoLH, bioLH, LH α -subunit の比較

かにした。

従来LHはpolyclonal抗体を用いた測定法で測定されimmunological LH (immunoLH) と呼ばれてきた⁴⁾が、これは本研究のpolyLHと同一のものである。正常男性や閉経後婦人では正常婦人に比較してbioLHはimmunological LH (immunoLH) より高い³⁾と報告されている。本研究ではGnRH α 24週投与前後のpolyLH (immunoLH), bioLHの比較を行ったところ、polyLHでは投与前後に有意な変動を認めなかったのに対し、bioLHでは0.55 mIU/mlから0.12 mIU/mlへと有意な減少を示す、という結果を得た。GnRH α 投与下におけるimmunoLHおよびbioLHの変動についての比較検討は現在までにいくつかの報告が行われている。Evansらはヒトにおいて500 μ g/day 14日間のGnRH α 皮下投与によってimmunoLHは投与前より高値を維持したのに対しbioLHは減少しB/I (bioLH/immunoLH) ratioも減少した、と報告している⁴⁾。Meldrumらはヒトにおいて100 μ g/day 28日間のGnRH α 皮下投与によってimmunoLHは増加したがbioLHは10.8 mIU/mlから4.4 mIU/mlへと減少したと報告し⁵⁾、大塚らはヒトにお

いて900 μ g/day 16週間のGnRH α 経鼻投与によってimmunoLHは有意な変動はないがbioLHは1233 ng/mlから255 ng/mlと有意に減少したと報告している⁶⁾。これらはいずれも今回の成績と類似した成績である。

正常男性においてはLHRH (100 μ g i.v.) 投与後LH, LH α subunit, LH β subunitの増加が認められるが、LHに先行してまず α subunitが下垂体から放出されること、 α subunitはgonadotropinやTSHと同じくLHRH, TRHによって分泌されるが、gonadotropinやTSHとは独立して分泌されること⁷⁾が報告されており、また、pituitary adenoma 60症例のうちの5症例で血中 α subunitが高値を示すものが認められている。この基礎値は閉経後婦人や原発性甲状腺機能低下症例の値よりも高く、TRHやLHRHへの反応性低下がみられ、下垂体腫瘍からは α subunitが自律的に分泌されていることが示唆される⁸⁾。しかし、この α subunitの分泌調節機構の詳細についてはまだ不明な点が多い。

そこで本研究で α subunitについて測定したところ、24週間のGnRH α 900 μ g/day連続経鼻投与によって、LH α subunitは平均3.7 ng/mlから6.2 ng/mlと有意に増

加した。Meldrumらはヒトにおいて100 μ g/day28日間のGnRHa皮下投与により α subunitは増加することを本研究結果と同様に認めており、この中には変形した糖鎖の α subunitが含まれている、と述べている⁵⁾。ラットにおいて、GnRHa投与により、下垂体LH β subunit mRNAは減少するが⁹⁾、LH α subunit mRNAは増加することが認められており¹⁰⁾、この成績は、本研究の α subunitの成績を裏付けている。

本研究においてpolyLHとmonoLHについてみると、無処置の正常婦人ではmonoLHとpolyLHは $r=0.9597$ と非常に高い相関を示した。ところが、GnRHa連続投与下ではpolyLHによる測定値では13.8 mIU/mlから13.1 mIU/mlと変動を示さなかったが、monoLHによる測定値では3.1 mIU/mlから1.1 mIU/mlと有意に減少し、polyLHによる測定値とmonoLHによる測定値との間に解離が認められた。E₂値は38.0 pg/mlから18.4 pg/mlと減少したがこれはmonoLHの変動と連動していた。GnRHa 24週連続投与下ではbioLHは0.6 mIU/mlから0.1 mIU/mlと減少したが、これはmonoLHが4.9 mIU/mlから0.7 mIU/mlと減少したのと同様の変化であった。GnRHa投与下でpolyLHとmonoLHを比較しその関係を調べた報告は今日までBishop¹¹⁾の報告を見るのみである。この報告ではpolyLHとmonoLHの解離を認めたにすぎない。

そこでGnRHa投与下におけるpolyLHとmonoLHの関係の詳細を調べるためpolyLH、monoLH、bioLH、 α subunitについてgel chromatographyを施行した。対照血清によるgel chromatographyではpolyLHが高値を示すいくつかの分画が見られたが、始めにpolyLHが高値を示した分画がmonoLHが高値の分画と一致し、さらにこの分画はbioLHにおいても高値を示した。 α subunitが高値を示す分画はpolyLH、monoLHが高値を示す分画とも一致した。一方GnRHa投与血清においてもpolyLHが高値を示す分画がいくつかみられた。始めにpolyLHが高値を示した分画とmonoLHが高値を示す分画が一致したが、続いてpolyLHが高値を示した分画と α subunitが高値を示す分画が一致することを認めた。すなわち、GnRHa投与下ではpolyLHとして認識される α subunitがより多く存在する。

monoLHはLHのactive siteを認識するのでGnRHa投与により生ずる生物活性の減少したLH fragmentを、polyLHでは認識するがmonoLHでは認識しないと考えられる。このことは、monoclonal LH抗体がLH α subunitと交叉しない(第1ラジオアイソトープ研究所社内資料)ことから裏付けられる。

本研究においてはGnRHa連続投与下において

polyLHに比較しmonoLHが有意に低下するという結果が得られた。GnRHa投与下では α -subunitが増加し、さらにこの α subunitはpolyLHとして認識されるためにmonoLHとpolyLHとの間に解離が生ずる。 α subunitの増加とともに、LH fragmentとしての免疫学的な分子の増加し、polyLHが増加すると考えられる。

稿を終えるに際し、ご指導、ご校閲を賜りました恩師水口弘司教授に深謝します。また、直接ご指導いただきました植村次雄助教授に厚く御礼申し上げます。

本論分の要旨の一部は9th International Congress of Endocrinology (1992)にて発表した。

文 献

- 1) Uemura T, Yanagisawa T, Shirasu K, et al. (1992) Mechanisms involved in the pituitary desensitization induced by gonadotropin-releasing hormone agonist. *Am J Obstet Gynecol* 167: 283-291
- 2) Van Damme MP, Robertson DM and Diczfalusy E (1974) An improved in vitro bioassay method for measuring luteinizing hormone(LH) activity using mouse leydig cell preparations. *Acta Endocrinol* 77: 655-671
- 3) Dufau ML, Pock R, Neubauer A, et al. (1975) In vitro bioassay of LH in human serum: the rat interstitial cell testosterone (RICT) assay. *J Clin Endocrinol Metab* 42: 958-969
- 4) Evans RM, Doelle GC, Lindner J, et al. (1984) A luteinizing hormone-releasing hormone agonist decreases biological activity and modifies chromatographic behavior of luteinizing hormone in man. *J. Clin. Invest.* 73: 262-266
- 5) Meldrum DR, Tsao Z, Monroe SE, et al. (1984) Stimulation of LH fragments with reduced bioactivity following GnRH agonist administration in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 58: 755-757
- 6) 大塚志郎, 清水郁也, 甲村弘子 他(1988) 子宮内膜症に対するBuserelin治療中の血中LH値の免疫活性と生物活性の比較. *産婦進歩* 40: 591-592
- 7) Hagen C and McNeilly AS (1974) Changes in Circulating Levels of LH, FSH, LH β - and α -subunit after gonadotropin-releasing hormone, and of TSH, LH β - and α -subunit after thyrotropin-releasing hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41: 466-470
- 8) Kourides IA, Weintraub BD, Rosen SW, et al. (1975) Secretion of alfa subunit of glycoprotein hormones by pituitary adenomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43: 97-106

- 9) Uemura T, Shirasu K, Sakakibara H, et al. (1990) Regulation of LH β subunit mRNA in immature female rats during GnRH agonist treatment. *Endocrinol. Japon.* 37: 695-702
- 10) Kim NH, Swerdloff RS and Bhasin S (1988) Regulation of α and rat luteinizing hormone- β messenger ribonucleic acids during gonadotropin-releasing hormone agonist treatment in vivo in the male rat *Endocrinology* 123: 2111-2116
- 11) Bischof P and Herrmann W (1988) Absence of immunoreactive luteinizing hormone following gonadotropin releasing hormone agonist therapy in women with endometriosis. *Gynecol. Obstet. Invest.* 25: 130-134
- (受付: 1997年6月25日)
(受理: 1997年8月4日)

Effects of GnRH agonist on Luteinizing hormone (LH) subpopulations

Takashi Yanagisawa

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

In order to investigate LH subpopulations induced by GnRH agonist (GnRHa) treatment in women, serum levels of LH were measured by RIA with polyclonal LH antibody (polyLH) and immunoradiometric assay with monoclonal antibody (monoLH) before and after GnRHa treatment.

Biological LH (bioLH) was assessed by mouse interstitial cells in vitro bioassay. LH α subunit was also determined. Furthermore, polyLH, monoLH, and bioLH were measured in the fractions separated by sephadex G-100 chromatography.

PolyLH significantly correlated with monoLH before GnRHa treatment ($r = 0.95$), but a discrepancy of polyLH and monoLH was observed during GnRHa treatment, and the ratio of monoLH to polyLH significantly decreased from 0.30 ± 0.18 to 0.04 ± 0.07 at 24 th week of the treatment. In the fractions separated by the chromatography, a single peak of polyLH and monoLH was observed at the same fraction. In contrast, during GnRHa treatment, polyLH showed more than two peaks, while single peaks of monoLH and bioLH were observed. A major peak of polyLH was consistent with a monoLH and a bioLH peak ($K_{av} = 0.11$). However, the another peak of polyLH was found in the fraction which exhibited immunoreactivity of LH subunit ($K_{av} = 0.27$).

In conclusion, the discrepancy of polyLH and monoLH, which is mainly due to increases in LH α subunit and fragments, was recognized during GnRHa treatment.

Key words: LH subpopulation, GnRH agonist, immunoradiometric assay, biological LH, LH α subunit

EFFECTS OF ENDOGENOUS TNF- α INDUCTION ON LUTEOLYSIS IN PSEUDOPREGNANT RABBITS

Tuyoshi ENDO, Koichi NARIAI*, Kiichi KANAYAMA,
and Azuma TSUKISE

Department of Veterinary Medicine
College of Bioresource Sciences, Nihon University, Kanagawa 252, Japan

Abstract: Tumor necrosis factor- α (TNF- α) derived from luteal macrophage has been studied in connection with luteolysis. We have already reported that exogenous TNF- α injection into the ovarian parenchyma had effects of luteal regression, previously. In the present study, to evaluate effects of TNF- α that is considered to be produced at regressive luteal phase, we examined luteal functions after endogenous TNF- α induction at functional luteal phase in pseudopregnant rabbits. Pseudopregnancy was induced by injecting human chorionic gonadotropin (hCG). TNF- α was induced by viable *Mycobacterium bovis* (BCG) and lipopolysaccharide (LPS) injection at functional luteal phase (day 7 of pseudopregnancy) (TNF induction group). In the control group, only normal saline, solvent of BCG and LPS, was injected instead of BCG and LPS. In the TNF-induced group, serum TNF- α concentrations markedly increased two hours after LPS injection. On the other hand, TNF- α could not be detected in the control group. Serum progesterone concentration decreased, and the corpora lutea morphologically regressed three days after LPS injection in comparison with the control group. Our in vivo study shows that TNF- α may be concerned in physiological luteolysis in rabbits.

Key words: Endogenous TNF- α , corpus luteum, luteolysis, rabbits

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 310 - 314, 1997)

Introduction

The corpus luteum (CL) is a transient endocrine organ developed from the follicles after ovulation. The CL produce progesterone (P) to prepare and to maintain pregnancy. In rabbits, the average life span of the CL is 31 days when pregnancy is effected¹⁾. In case of pseudopregnancy (PSP), the CL regresses about 15 days after ovulation²⁾. The CL rapidly forms coincident with rapid angiogenesis immediately after ovulation and rapidly regress coincident with rapid angiolysis at luteolysis stage. It is reported that change of the latter is caused by not only hormonal regulation but also cytokines such as inter-

feron- γ (IFN- γ), interleukin-1 β (IL-1 β)³⁾ and tumor necrosis factor- α (TNF- α)⁴⁾. That TNF- α is reported to decrease P production in the luteal cells and cause angiolysis of the luteal blood vessels⁵⁾. All of these reports were studied using exogenous TNF- α administration. On the other hand, Bagavandoss^{6,7)} showed a possibility of TNF- α production of luteal macrophage in the regressive CL in in vivo study. However, there is no report that describes effects of endogenous TNF- α on luteolysis.

In the present study, to determine effects of TNF- α on physiological luteolysis, we tried to induce endogenous TNF- α using endotoxin stimulation in pseudopregnant rabbits.

*Present address: Laboratory Animal Facilities, Research Center for Medical Sciences, The Jikei University School of Medicine, Tokyo 105, Japan

Materials and Methods

Experimental animals

Sexually mature Japanese White rabbits weighing between 2.8 and 3.2 kg were used. Rabbits were purchased from a commercial breeder and were housed individually in wire netting cages. The animal room was air-conditioned ($24 \pm 2^\circ\text{C}$, $55 \pm 5\%$ relative humidity, 15 air changes per hour) and illuminated for 14 h (05:00 ~ 19:00) with 300 lux using a day-light fluorescent lamp. Rabbits were given commercial pellets and tap water *ad libitum*. Each animal was isolated in a separate cage for at least 31 days prior to the experiment.

Pseudopregnancy induction

Pseudopregnancy was induced in the rabbits by mating with vasoligated mature males and by injecting 75 iu of hCG into the ear vein. The day of this treatment was designated as day 0 of pseudopregnancy (D0).

TNF- α induction and TNF- α assay

Rabbit TNF- α was produced by the procedure of Carswell et al.⁸⁾ 3×10^8 organisms of viable *Mycobacterium bovis* (BCG, Japan Institute for BCG) was injected into the ear vein at 7 days before pseudopregnancy induction. Fourteen days later (D7), 100 μg of lipopolysaccharide (LPS) from *Salmonella typhimurium* (Sigma Chemical Co., U.S.A) was injected into the ear vein. In its controls, normal saline was injected in place of BCG and LPS injection.

Blood samples for TNF- α assay were collected 2h after LPS (or saline) injection in three rabbits of TNF- α induction group and control group. Serum TNF- α concentration was assayed as the method described using a determination of cytotoxicity for L-929 cell line by Ruff⁹⁾. That is, L-929 cells were plated in 96-well microplate at $2 \times 10^5/100 \mu\text{l/well}$ with Eagle's MEM (Nissui Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan) to establish a dense monolayer. Dilutions of each serum or standard TNF sample (Sigma Chemical Co., U.S.A) and actinomycin D (Sigma Chemical Co., U.S.A) at a final concentration of 1 mg/well were added, and the plates were incubated at 37°C in a humidified 5% CO_2 atmosphere for 24 h. Plates were stained with 0.2% crys-

tal violet (in 2% ethanol solution), washed with water, and dried. An absorbance measuring was performed using multiplate plate reader (Biorad Co., U.S.A) at 490 nm.

Progesterone assays

Blood samples were collected from the ear vein for assay of serum levels of progesterone at D0 (just before pseudopregnancy induction), D3, D7 (before LPS injection and a macroscopy) and D10 (three days after TNF- α induction) in each examined rabbit. Sera obtained from these animals were stored in a deep freezer (-50°C) until assayed. Progesterone was assayed with an enzyme immunoassay (EIA) kit (PREG-TEST, Teikoku Hormone Mfg. Co., Ltd., Tokyo, Japan). With this kit, the range of assayed progesterone was found to be between 0.2 and 9 ng/ml.

Observation of the ovary

To examine the corpora lutea, macroscopies of the ovaries were also performed under laparotomy before LPS injection (D7) and three days after LPS injection (D10).

Statistical analysis

The data on the serum progesterone concentration were statistically analyzed by analysis of variance followed by Student's t-test or Cochran-Cox test. Difference of $p < 0.05$ were considered to be significantly different.

Results

Serum TNF- α concentrations in the both groups are shown in Fig. 1. High concentration of serum TNF- α was determined 2 h after LPS injection in TNF- α induction group. On the other hand, in the control group, TNF- α was not detected.

Influences of TNF- α induction on serum progesterone concentration during pseudopregnancy are shown in Table 1. The concentrations of the serum progesterone markedly increased until D7 not only in the TNF- α induction group but also in the control group. In the control group, the peak of the progesterone concentration was observed on D7. The serum progesterone concentration as functional luteal phase maintained by D10 in the control group. In the TNF- α induction group, however, the serum progesterone concentration markedly decreased after

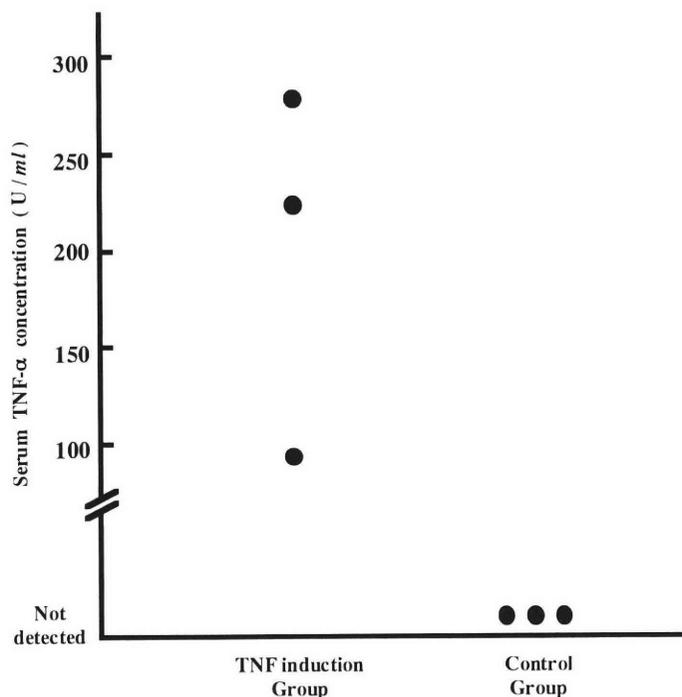


Fig. 1 Serum TNF- α concentrations 2h after LSP injection.

Table 1 Effects of TNF- α induction on serum progesterone concentration (P) in pseudopregnant rabbits

Group	No. of animal examined	Day of pseudopregnancy			
		D 0	D 3	D 7 ^a	D10
TNF-induced	4	0.40 \pm 0.12	6.66 \pm 9.26	0.28 \pm 0.15	1.50 \pm 0.38 ^b
Control	4	0.40 \pm 0.06	6.20 \pm 0.51	9.10 \pm 0.15	8.20 \pm 0.50

Values are mean \pm S.E. (ng/ml)

^a Blood sampling for P assay was performed before LPS (TNF-induced group) or saline (control group) injection.

^b P is significantly low ($p < 0.05$) from the control group.

LPS injection.

Results of macroscopies of the corpora lutea (CLs) before LPS injection and three days after LPS injection are shown in Fig. 2 and 3. As the macroscopy of the ovary before LPS injection at D7, the functional CLs were observed in the both groups (Fig. 2A and 3A). At D10, the functional CLs were maintained in the control (Fig. 2B). On the other hand, in the TNF- α induction group, the CLs had already regressed morphologically, three days after LPS injection (Fig. 3B).

Discussion

That the cytokines such as TNF- α play a role in

luteolysis with the other endocrine system, has been known⁴⁻⁷). A capacity for the TNF- α production from macrophages in the CLs is enhanced at regressive luteal phase^{6,7}). TNF- α makes luteal cells synthesize PGF_{2 α} to regress luteal cells⁴). PGF_{2 α} is known as a major luteolytic factor. On the other hand, expression of Class I major histocompatibility complex (Class I MHC) is also enhanced by TNF- α in the CL⁴). Enhanced expression of Class I MHC may serve as target immune responses by cytotoxic T-cell¹⁰). TNF- α also injures luteal endothelial cells, and luteal blood circulation decreases⁵). Thus, TNF- α can modify immunological and endocrinological regulations of the luteal tissue during luteolysis.

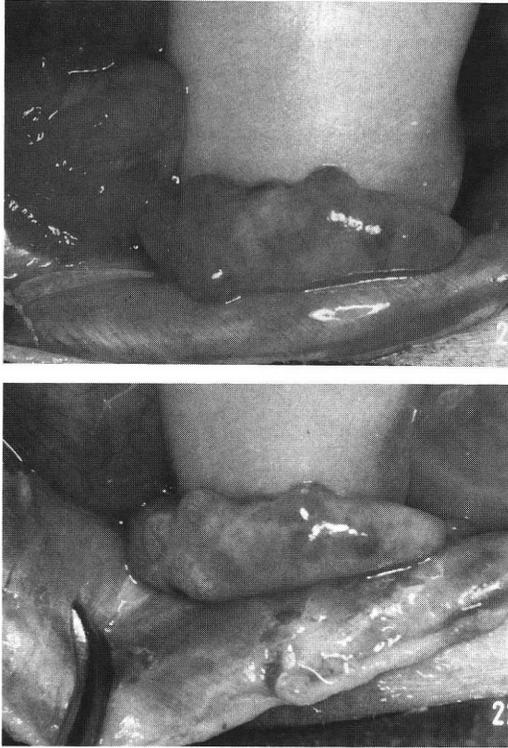


Fig. 2 The ovaries before saline injection on D7 as functional luteal phase (A) and three days after saline injection (B) in the control group. The functional CLs were remaining after saline injection.

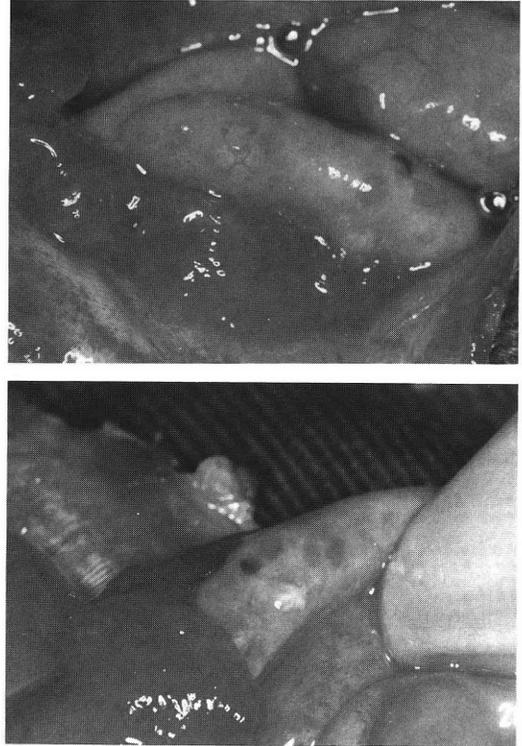


Fig. 3 The ovaries before LPS injection on D7 as functional luteal phase (A) and three days after LPS injection (B) in the TNF induction group. The functional CLs were regressing after LPS injection.

In the present study, to activate macrophage function and to induce TNF- α , we administered BCG before luteal phase and LPS to rabbits at active period of luteal phase. TNF- α was markedly induced after LPS injection. Consequently, the CLs regressed clearly and serum progesterone concentration also decreased. It could be considered that the luteolysis after TNF- α induction was caused by the enhanced immune system and by cyclic disorder of the luteal blood vessels. Thus, the present *in vivo* study supports that the immune system is physiologically involved in luteolysis as an endocrinological event.

References

- 1) Horrel E, Major P. W, Kilpatrick R .et al. (1972) Progestational steroids during pseudopregnancy in the rabbits. *J Endocrinol* 55: 89-96
- 2) Pickard JN and Rosahn PD (1930) A preliminary

study of some of the factors influencing the duration of pregnancy and litter size in the rabbit. *Proc. 4th Worlds Pout Congr*: 901-909

- 3) Fairchild DL and Pate JL (1989) Interferon- γ induction of major histocompatibility complex antigens on cultured bovine luteal cells. *Biol Reprod* 40: 453-457
- 4) Fairchild Benyo D and Pate JL (1992) Tumor necrosis factor- α alters bovine luteal cell synthetic capacity and viability. *Endocrinology* 130: 854-860
- 5) Nariai K, Kanayama K, Endo T, et al. (1995) Effects of TNF- α injection into the ovarian parenchyma on luteal blood vessels in rabbits. *Endocrine J* 42: 761-766
- 6) Bagavandoss P, Kunkel SL, Wiggins RC, et al. (1988) Tumor necrosis factor- α (TNF- α) production and localization of macrophages and T lymphocytes in the rabbit corpus luteum. *Endocrinology* 122: 1185-1187

- 7) Bagavandoss P, Wiggins RC, Kunkel SL, et al. (1992) Tumor necrosis factor production and accumulation of inflammatory cells in the corpus luteum of pseudopregnancy and pregnancy in rabbits. *Biol Reprod* 42: 367-376
- 8) Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, et al. (1975) An endotoxin induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Nat Acad Sci USA* 72: 3666-3670
- 9) Ruff M and Gifford GE (1980) Purification and physiochemical characterization of rabbit tumor necrosis factor. *J Immunol* 125: 1671-1677
- 10) Frischknecht H, Binz H and Wigzell H (1978) induction of specific transplantation immune reactions using anti-idiotypic antibodies. *J Exp Med* 147: 500-514

(受付: 1997年7月4日)

(受理: 1997年8月8日)

偽妊娠家兎の黄体退行におよぼす内因性TNF- α の影響

日本大学生物資源科学部獣医学科

遠藤 克, 成相孝一*, 金山喜一, 月瀬 東

近年、腫瘍壊死因子 (TNF- α) が黄体の退行にかかわることが知られるようになった。著者らもすでに機能黄体期における偽妊娠家兎の卵巣実質へ外因性TNF- α を投与すると黄体は退行的変化を示すことを報告している。本研究では、機能黄体期の偽妊娠家兎に内因性TNF- α を誘導した場合、黄体が退行的変化を示すか否かについて検討した。

偽妊娠は、hCGの静脈内投与により誘起した (day 0)。この偽妊娠を誘起した家兎をTNF誘導群と対照群の2群に分け、TNF誘導群については、内因性TNF- α を誘導するため、hCG投与の7日前にBCGを、その14日後 (day 7) にLPSをそれぞれ静脈内に投与した。一方、対照群についてはBCGおよびLPSの代わりにそれぞれの溶媒のみを静脈内に投与した。黄体機能の評価としてLPSの投与直前および投与3日後 (day 10) に開腹手術下で黄体を肉眼的に観察し、かつday 0, 3, 7および10における血中プロジェステロン濃度 (P) をEIA法により測定した。また、TNF- α の血中濃度は、LPS投与2時間後に得た血清からマウス線維芽細胞を用いたバイオアッセイにより測定した。

その結果、TNF誘導群ではLPS投与2時間後に血中TNF- α 濃度は顕著に増加した。また、day 10の卵巣の肉眼所見では黄体は退行像を示し、このときのPは対照群に比べ有意な低値を示した。

以上のことより、家兎の生理的な状態での黄体退行には内因性のTNF- α がかかわっている可能性が強く示唆された。

キーワード: 内因性TNF- α , 黄体, 黄体退行, 家兎

*現所属: 東京慈恵会医科大学実験動物施設

TERGURIDE ADMINISTRATION DURING PREGNANCY IN A PATIENT WITH PITUITARY MACROPROLACTINOMA IN NORMAL PERINATAL OUTCOME

Keizo SAKAI, Kohji YOSHIDA, Kazuaki YOSHIMURA,
Meikan SEKI and Masamichi KASHIMURA

Department of Obstetrics and Gynecology
University of Occupational and Environmental Health, School of Medicine Kitakyushu, 807 Japan

Abstract: There have been many reports in patients with pituitary prolactinoma who took bromocriptine during pregnancy. It is proved that bromocriptine has no significant teratogenesis and adverse reaction to fetus and gravid women. However, there is no report on terguride use during human pregnancy. We report that initially 23-year-old woman with pituitary macroprolactinoma took terguride during pregnancy, and delivered of a healthy infant in normal perinatal course. Bromocriptine could not be administered to her during pregnancy because of its side effects. The baby had generalized pigmented urticaria 2 months after delivery, however, the cause and effect relationship between terguride use in pregnancy and the exanthema of the baby was denied by the dermatologist of UOEH.

Key words: pituitary macroprolactinoma, pregnancy, bromocriptine, terguride

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 315 - 319, 1997)

Introduction

The management of patients who have pituitary tumors and who wish to become pregnant is controversial¹⁾. In general, the hypophyses are getting large during normal pregnancy²⁾. In such circumstances, bromocriptine was usually administered to patients to inhibit tumor growth. According to many reports³⁾ ~⁵⁾, the teratogenesis and adverse reactions to the fetus of bromocriptine during pregnancy were revealed to be minimal. However utilization of terguride, which is Dopamine 2 receptor agonist⁶⁾, during pregnancy was not reported to date. This is the first report of terguride administration during pregnancy resulting in normal perinatal outcome.

Case Report

A 23-year-old woman was first seen in the Department of Gynecology in 1992 complaining of menstrual irregularity with galactorrhea and hot flushes for 5 months. Menarche had occurred at the age of 12 and was followed by a regular menstrual

cycle. The amount of menstrual flow had decreased for a year, however she complained of no visual disturbance.

On initial examination, a doctor in charge overlooked her galactorrhea and prescribed 10 mg of Allylestrenol for 5 days. The patient had withdrawal bleeding after its administration. Six months later in 1993 she came to our hospital again for 2-month-delay of menses. The gestagen withdrawal bleeding did not occurred again. Because of bilateral galactorrhea, serum samples were analyzed for prolactin (PRL), luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH), and estradiol-17 β (E₂) by radioimmunoassay.

These values were 8.3 for LH (normal value: 5 ~ 20 units/l. in the follicular phase), 6.3 for FSH (normal: 4 ~ 15), 1,460 for PRL (normal: 4.6 ~ 24.5 ng/ml) and 28.0 for E₂ (normal: 30 ~ 300 pg/ml), respectively. Serum levels of LH, and FSH were found within normal, but an increased level of PRL and decreased level of E₂ were found.

A lateral spot film of the skull demonstrated a nor-

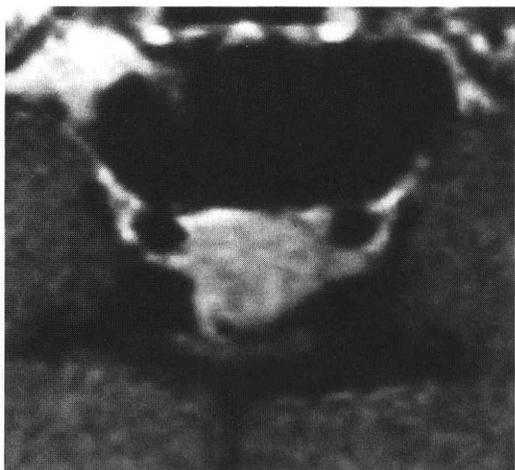


Fig. 1 A small pituitary tumor (1.5 cm in diameter) with extrasellar extension. MRI film (September 10, 1993)

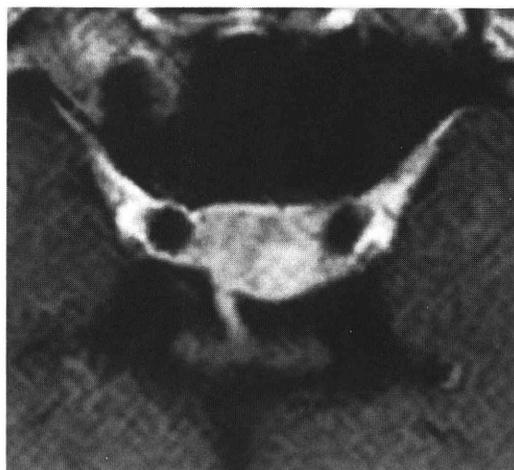
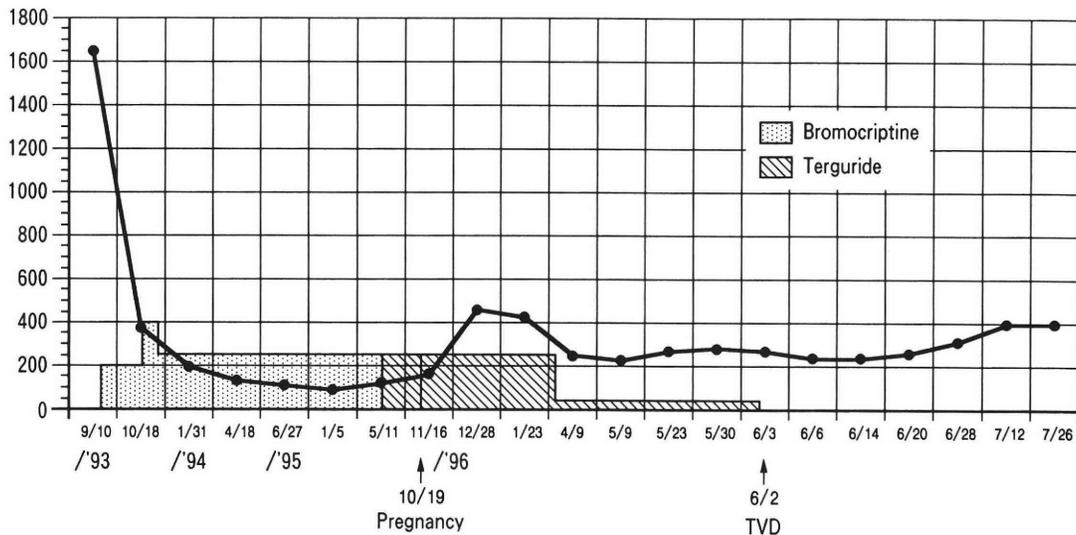


Fig. 2 The decreased pituitary tumor after Dopamine agonist administration during pregnancy (Jan. 26, 1996)

mal pituitary fossa. However, Magnetic Resonance Imaging films of sella turcica showed a small tumor with the size of 1.5 cm in diameter with extrasellar extension (Fig. 1).

The patient complained of eyesight fall when her second coming, but it was caused by her myopia progress. An ophthalmologic examination revealed her normal visual field. The patient entered the Uni-

versity Hospital at the Department of Neurosurgery to undergo close examinations for the pituitary tumor. Loading tests of TRH, LHRH, Insulin, and bromocriptine were performed. Responses to TRH · LHRH were normal without PRL, and responses of GH, ACTH, and cortisol for insulin were all in normal range. PRL levels after bromocriptine administration remarkably decreased (Fig. 3). There was no



U.O.E.H.

Fig. 3 Prolactin change before, during, and after pregnancy in a patient with pituitary macroprolactinoma using Dopamine agonists (bromocriptine and terguride)

sella turcica ballooning and no neurological signs and symptoms. Therefore, the patient took 2.5 mg/day of bromocriptine continuously after discharge from the Department of Neurosurgery. No surgical resection of the hypophyseal tumor was planned.

PRL levels were controlled between 100 and 130 ng/ml and the extra-sellar extended pituitary tumor became smaller under 1cm in diameter (Fig. 2). Regular-monthly menstruations were restored with ovulation.

After eight months in 1995 (5 months before pregnancy), bromocriptine was changed into terguride (1 mg/day) because of adverse reactions of nausea, vomiting, and constipation. She became pregnant in September in 1995 during terguride administration. On October 19 in 1995, terguride was temporarily changed into bromocriptine (3.75 mg/day) again, because there was no report of terguride intake during pregnancy. A neurosurgeon urged us to prescribe dopamine agonist to the patient even in pregnancy to prevent intratumor hemorrhage in Sella turcica. But, after 2 weeks, bromocriptine was re-exchanged to terguride (0.5 mg/day) due to severe adverse reactions. The patient took 0.5 mg of terguride every-day in the former half of pregnancy and 0.125 mg in the latter half of pregnancy (Fig. 3). The patient consented the terguride administration after being informed of the risk of the drug use in pregnancy. Symptoms of headaches, nausea, vertigo, and eye-

sight fall were started from her 27 weeks of gestation with terguride administration.

The size of prolactinoma became greater from 2 mm to 8 mm during pregnancy (Fig. 4). However, the visual fields were normal and the other symptoms did not become worse (Fig. 3).

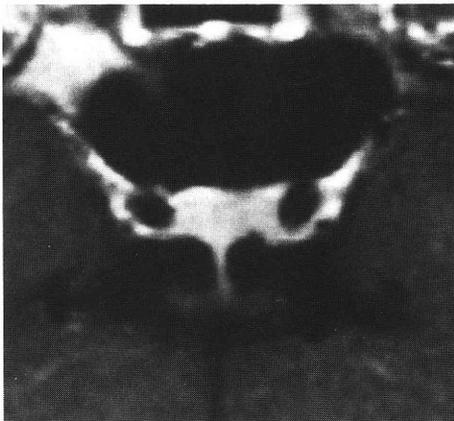
On June 2, in 1996, the patient delivered a male infant transvaginally one day after a spontaneous rupture of membrane in 38 weeks of gestation. The baby, weighed 3,072 g with APGAR score of 9, was completely normal. After the delivery, she discontinued terguride to avoid the suppression of milk secretion. So, the galactorrhea was very enough to feed her baby. Four days after delivery, serum PRL level was 240 ng/ml which was almost same level as those during the latter half of pregnancy (Fig. 3).

At the latest coming in the outpatient department of neurosurgery on July 10, 1997, the patient had no significant complaint. The PRL value was 140 ng/ml with breast feeding without any Dopamine-agonist. The size of the prolactinoma was stable. The baby was growing up well, however, he had generalized pigmented urticaria 2 months after delivery. The urticaria is continued until September 25, 1997 without itching.

Discussion

Dopamine agonist drugs play a well-established role in the treatment of hyperprolactinemia. Bromocriptine, the prototypic agonist of these ergot

2 mm



8 mm

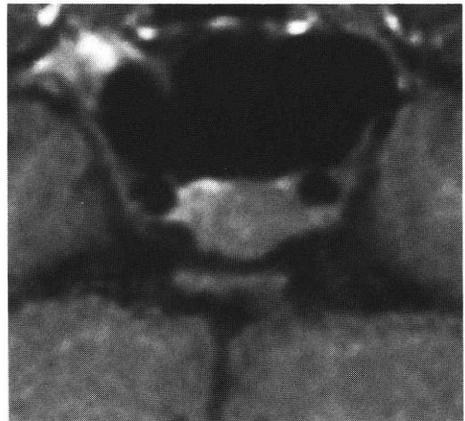


Fig. 4 The growth of the shirinked prolactinoma during pregnancy from 2 mm (June 27, 1994) to 8 mm (April 11, 1996) in diameter

compounds, is in widespread use in view of its efficacy. Not infrequently, however, the initiation of such treatment may be associated with side effects such as, nausea, dizziness, postural hypotension, nasal congestion, and at high dose, constipation and Raynaud's phenomenon. These may vary in intensity and usually undergo tachyphylaxis; they may be minimized by always giving the drug in the middle of a meal and only gradually building up the dose. Nonetheless, some patients such as the case in this paper remain persistently intolerant of bromocriptine, necessitating withdrawal of the drug.

Lisuride is an 8-amino-ergolene that also is a potent dopamine agonist, but initiating side effects may be even more pronounced than those seen with bromocriptine. Terguride is the C₉ ~ 10 dihydrogenated derivative of lisuride, which has been reported to be particularly better tolerated in normal subjects and in patients with hyperprolactinemia than bromocriptine⁷⁾.

However in pregnancy, only bromocriptine has been established as a probable safe drug^{4,8)}. This is the first report of terguride administration throughout a human pregnancy.

Toxicity studies of terguride in pregnant rats revealed the non-effect dose to be 0.01 mg/kg for body weight⁶⁾. The body weight of the patient with macroprolactinoma was 55 kg before pregnancy and 61.8 kg just before delivery. If this animal model can be applied for a human, a dose of terguride under 0.5 mg would be safe.

A very small number (less than 2 %) of women with hyperprolactinemia with microadenoma will develop signs or symptoms suggestive of tumor-growth during pregnancy⁴⁾. However, the risk may be becoming higher with macroadenomas like our case, approximately 15 %⁴⁾. In present case, from 27 weeks of gestation, the patient complained of headache, nausea, vertigo, and eyesight fall in spite of terguride administration.

The reason why we did not prescribe bromocriptine but terguride was the adverse reaction of bromocriptine, i.e. nausea, vomiting.

Early in the first trimester, the patient was not able to take bromocriptine due to those adverse reactions in addition to hyperemesis. Terguride has less ad-

verse reactions than bromocriptine such as nausea, vomiting, and constipation. The ophthalmological examination disclosed no visual field deterioration with her. The eyesight fall during pregnancy was caused by her myopia progress. Although bromocriptine treatment profoundly lowers both maternal and fetal blood levels of prolactin, no adverse effects on the pregnancy or the newborn have been noted^{5,8 ~ 10)}. Hence, terguride is similar to bromocriptine as an ergot compounds, its treatment during pregnancy would be acceptable if the patient could not take bromocriptine due to the adverse reactions.

According to the recent reference guide¹¹⁾ to fetal and neonatal risk, bromocriptine is classified into Category C drugs. That is to say, "Either studies in animals have revealed adverse effects on the fetus (teratogenic or embryocidal, or other) and there are no controlled studies in women or studies in women and animals are not available. Drugs should be given only if the potential benefit justifies the potential risk to the fetus." Terguride is also classified into Category C. At least, a terguride use in pregnancy with present case did not have any fetal risk at all. The dermatologist of UOEH Hospital denied the cause and effect relationship between terguride use in pregnancy and the pigmented urticaria of the baby 2 months after delivery. Because, the half life of serum terguride after oral administration (0.25 mg ~ 2 mg) is approximately 3 hours, and its tissue accumulations are not recognized^{6,7)}.

Lastly, amniotic fluid prolactin (and its presumed action on regulation of amniotic fluid water and electrolytes) is derived from decidual tissue, and its secretion is controlled by estrogen and progesterone, not by dopamine. Therefore, terguride does not affect amniotic fluid levels of prolactin.

References

- 1) Cunnah D and Besser M (1991) Management of prolactinomas. *Clin Endocrinol (Oxf.)* 34: 231-235
- 2) Gonzalez JG, Elizondo G, Saldivar D (1988) Pituitary gland growth during normal pregnancy: an in vivo study using magnetic resonance imaging. *Am J Med* 85: 217-220
- 3) Bevan JS, Webster J, Burke CW, Scanlon MF (1992) Dopamine agonist and pituitary tumor

- shrinkage. *Ender Rev* 13: 220-240
- 4) Molitch ME (1985) Pregnancy and the hyperprolactinemic women. *New Eng J Med* 312: 1364-1370
 - 5) Ahmed M, al Dossary E, Woodhouse NJ (1992) Macroprolactinomas with suprasellar extension, effect of bromocriptine withdrawal during one or more pregnancies. *Fertil Steril* 58: 492-497
 - 6) Mizokawa T, Akai T, Nakada Y, et al. (1993) Tergruride as a new anti-hyperprolactinemic agent: characterization in rats and dogs in comparison with bromocriptine. *Japan J Pharmacol* 63: 269-278
 - 7) Ciccarelli E, Touzel R, Besser M, and Grossman A (1988) Tergruride-a new dopamine agonist drug: a comparison of its neuroendocrine and side effect profile with bromocriptine. *Fertil Steril* 49: 589-594
 - 8) Turkalj I, Braun P and Krupp P (1982) Surveillance of bromocriptine in pregnancy. *J A M A* 247: 1589-1591
 - 9) Ruiz-Velasco V (1984) Pregnancy in hyperprolactinemic women. *Fertil Steril* 41: 793-805
 - 10) Nehmzow M, Ventz M, Meng W (1985) Bromocriptine therapy of prolactinoma in pregnancy. *Zentbl Gynaekol* 107: 899-903
 - 11) Briggs GG, Freeman RK, Yaffe SJ (1994) *Drugs in pregnancy and lactation*, 4th ed. pp 101-103: Williams & Willkins, Baltimore.

(受付: 1997年2月3日)

(受理: 1997年6月9日)

妊娠中tergrurideを内服した下垂体プロラクチン産生腫瘍例 ——正常の周産期経過で正常児を分娩——

産業医科大学産婦人科教室
坂井啓造, 吉田耕治, 吉村和晃
石 明寛, 柏村正道

下垂体プロラクチン産生腫瘍合併妊娠中にbromocriptineを服用したという報告は多く、とくに胎児に対して有意に悪影響は及ぼさないことが証明されている。しかし新しいdopamine agonist剤であるtergrurideについては妊娠中の使用の報告はない。初診時23歳の婦人が下垂体のmacroprolactinomaと診断され妊娠中bromocriptineが嘔気などの副作用で服用できず、代わりに副作用の少ないtergrurideを内服後、正常の周産期経過で正常児を分娩したので報告する。

なお新生児は出生2か月目に全身の色素性蕁麻疹に罹患したが皮膚科医により妊娠中のtergruride内服との関係はないと判定された。

キーワード: 下垂体プロラクチン産生腫瘍, 妊娠, tergruride, bromocriptine

凍結精子を用いたAIHにより妊娠した特発性逆行性射精の1例

Idiopathic Retrograde Ejaculation with pregnancy by AIH with Frozen Sperm: Case Report

衣笠病院産婦人科

石井 尊雄

内野 直樹

篠原 洋介

Takao ISHII

Naoki UCHINO

Yousuke SHINOHARA

上片平 昭二

林 輝雄

Shoji KAMIKATAHIRA

Teruo HAYASHI

Department of Obstetrics and Gynecology
Kinugasa Hospital, Kanagawa 242, Japan

逆行性射精が原因であった不妊症患者に、凍結精子を用いた配偶者間人工授精 (AIH) を行い、1回目で妊娠し双胎の生児を得た。

従来の逆行性射精の妊娠例の報告によれば膀胱内より回収した精子を用いたAIHによる症例が多い。回収の方法は、Hotchkissの原法に準じて施行している例がほとんどであるが、良好な運動精子を得るために多く応用がなされている。しかしほとんどの方法において膀胱洗浄・採尿時に尿道カテーテルを使用しており頻回のカテーテル挿入は被験者にとって苦痛であり、長期の治療になると精神的負担も大きいものであった。

我々は精子凍結保存を応用することにより採尿前にカテーテルを用いた前処置なども必要なく、3回分の自然排尿によりAIHを行うに十分な精子を得ることができた。

本法は、患者の苦痛の軽減および精子を凍結することにより十分な精子数を確保できる点などにおいて本症例に対して有用な治療法と考えられた。自然排尿により得られた精子を凍結保存し、排卵誘発後に使用して生児を得た症例を報告する。

キーワード：逆行性射精，精子凍結保存，人工授精

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 320 - 323, 1997)

緒 言

逆行性射精が原因の妊娠例は本邦においてもすでに30例前後の報告をみるが、良好な運動精子を得るためにほとんどの症例において膀胱内の洗浄、もしくは採尿をカテーテルで行っている。今回我々は、夫が特発性逆行性射精、妻が第I度無月経の夫婦に対して、夫から自然排尿により得られた精子を凍結保存し、排卵誘発後に配偶者間人工授精 (以下AIH) を行い、1回目の授精で妊娠し双胎の生児を得たので報告する。

症 例

夫25歳，妻25歳。妻は0経妊0経産の主婦，実質不妊期間1年6か月。家族歴，既往歴ともに特記すべきことなし。下垂体性排卵障害の診断でクエン酸クロミフェン-hCG療法を近医でうけていた。夫は消防士，家族歴に特記すべきことなく，既往歴にも熱性疾患，脊椎疾患，糖尿病など特記すべきことはなかった。精液検査で無精子症と診断され，紹介受診となった。

夫の来院時検査所見は表1および図1に示すように精液所見を除きすべて正常で，射精後の尿所見で精子を認めたため特発性逆行性射精と診断した。

表1 夫の検査所見

精液検査：量0.4～0.5 ml, 数0, PH 6.4
身体所見：外性器陰莖・精巣(睾丸)は、形・大きさともに正常
内分泌検査：LH, FSH, PRL, 血中テストステロン値すべて正常域内
膀胱鏡：異常なし
精嚢造影：左右ともに造影され閉塞，狭窄などの所見もなく正常
精巣生検：Normal Spermatogenesis

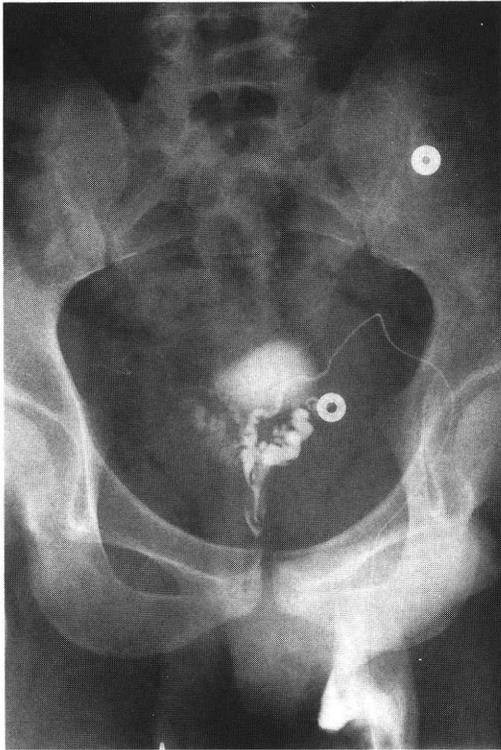


図1 精嚢造影

精子回収方法およびAIH法

精子回収法を図2に示す。尿の浸透圧を下げる目的で、前日より多量の飲水(約3000～4000 ml)を行い、直前に排尿の上マスターベーションを行い、可及的速やかに排尿する。全量の尿を1000 rpm 3分間遠心し、洗浄濃縮後0.2～0.3 mlの精子浮遊液を作成した。これを等量のKS-II精子凍結保存液¹⁾と混和し、兼子の原法による簡易凍結法²⁾により凍結し、液体窒素内に保存した。この間の洗浄濃縮前後の精子の性状を表2に示す。

3回の凍結保存の後に妻の排卵誘発を行った。月

経5日目よりクエン酸クロミフェン100 mgを5日間服用し、10日目よりhMG 75 IUを筋肉注射し、主席卵胞が20 mmを越えた時点でhCG 10000 IUに切り替え、翌日にAIHを施行した。使用した精子の性状は精子数3200万/ml、運動率80%であった。

月経周期32日目(AIH後17日目)尿中妊娠反応陽性となり、妊娠6週の時点で双胎妊娠であることが確認できた。妊娠の経過は順調であったが、妊娠35週で切迫早産となり入院加療を行い、妊娠37週で帝王切開により2,658 g男児, 2,200 g女児を出産した。

考 察

逆行性射精は後部尿道に排出された精液が内尿道口の閉鎖不全のため外尿道口に射出されることなく膀胱内に逆流する現象である³⁾。

その原因としては内尿道括約筋の機能異常によるもの、手術、外傷などによる物理的損傷、あるいは糖尿病、薬物の服用などがあげられている。本症例ではいずれの原因も否定できたことから、特発性逆行性射精と診断した。本症は挙児希望の夫婦が産婦

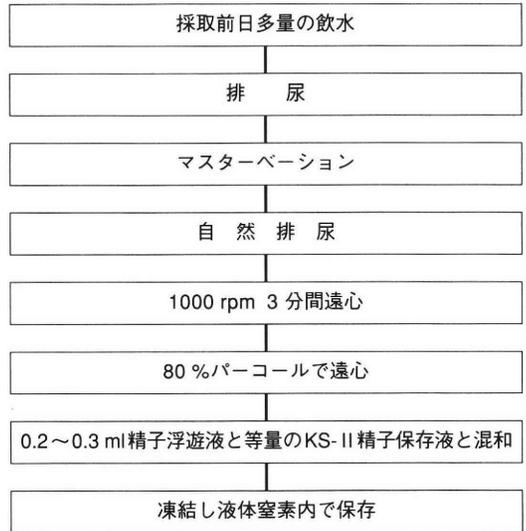


図2 精子回収と保存法

表2 洗浄濃縮前後の精子数および運動率

	洗浄濃縮前		洗浄濃縮後	
	精子数 (×10 ⁶)	運動率 (%)	精子数 (×10 ⁶)	運動率 (%)
1回目	6	45	12	60
2回目	8	50	15	65
3回目	8	60	16	80

人科を受診し、無精子症として泌尿器科に依頼され診断されることが多く、本症例も無精子症の診断で他院より紹介された。泌尿器科での諸検査の結果、逆行性射精と診断されたが、尿の沈渣を行うことにより早期の診断が可能であったと指摘でき、無精子症、乏精液症の場合、尿検査の施行が望ましいと考えられた。

本症の治療法としては、薬物療法、手術療法などが行われているが⁴⁾、実際にこれらの治療で改善する症例は少なく、最終的には尿中の精子を膀胱より回収し、AIHを行うことが多く、報告されている妊娠症例もAIHによるものが多い⁵⁻⁷⁾。

膀胱より精子を回収しAIHを行うことは、Hotchkiss⁸⁾らにより報告されて以来有効な方法とされているが、Hotchkissらの原法は、生理食塩水と5%ブドウ糖で膀胱洗浄、さらにメイロンで膀胱洗浄し、メイロンを膀胱内に少量注入してこの中に射精させ精子を回収した。本邦の妊娠例はこの方法に準じたもので、諸家の報告では0.3% human serum albumin⁶⁾あるいは、Ham's F10 medium⁷⁾などを使用している。これらの方法はいずれも運動率の良い良好な精子を回収するためであるが、洗浄、採尿時に尿道カテーテルを挿入するという被験者に対し、肉体的苦痛と精神的負担を与えざるを得ない。AIHは一般的に数回程度の回数を要することが多く、挙児希望はあっても苦痛のため、夫が治療に非協力的になったため、治療途中で断念した症例⁹⁾も報告されている。

我々はこの問題を解消するために自然排尿による採精と精子の凍結保存法を応用した。このことにより、被験者の負担は著しく軽減されたといえる。また、本法の利点はそれのみにとどまらず、夫の仕事の都合、体調に合わせた採精が可能であり、必要な精子数を確保できること、妻の排卵時期に合わせたAIHを可能としたことなどがあげられる。本症例においては幸い、1回目のAIHで妊娠の成立をみることができ、男女2人の生児を得た。これは夫の原精液所見が良好であったためと思われるが、凍結保存法により、十分な数の運動精子を使用できた点が有効であったことも強調したい。逆行性射精に本法を応

用し妊娠出産まで至った症例は本邦に報告をみないが、逆行性射精の症例で、原精液の所見が良好であれば、自然排尿、凍結保存による精子の使用は患者の負担軽減、より良いタイミングでのAIHの施行という意味から試みるべき方法と考えられた。

まとめ

夫が特発性逆行性射精、妻が第1度無月経の夫婦に凍結精子を用いたAIHを行い、1回目で妊娠の成立を認め、分娩に至った症例を報告した。自然排尿により得られた精子を凍結保存し、排卵誘発後に使用して生児を得た症例は本邦で初の報告である。

なお、本論文の要旨は第108回日本不妊学会関東地方部会で発表した。

文 献

- 1) 翁 文開, 小林俊文, 兼子 智 他(1998) 洗浄濃縮精子の凍結保存に関する研究. 日不妊会誌 33: 639-644
- 2) 小林俊文, 兼子 智, 朴 俊英 他(1990) 簡易凍結法による性状不良精液の凍結保存. 日不妊会誌 35: 684-688
- 3) 木村行雄(1980) 射精のメカニズム. 臨泌 34: 103-116
- 4) 市川篤二, 落合京一郎, 高安久雄 他(1984) 新臨床泌尿器科全書 8B: 43, 212, 217
- 5) 吉田英機, 吉田 徹, 渡辺政信 他(1985) AIHにて挙児に成功した逆行性射精の1例. 日不妊会誌 30: 119-123
- 6) 三浦一陽, 田中貞雄, 松橋 求 他(1988) AIHにて妊娠に成功した逆行性射精の3例. 日不妊会誌 33: 133-137
- 7) 布施正樹, 岡本純英, 石丸忠之 他(1991) 運動精子回収ができなかった逆行性射精におけるAIHによる妊娠例. 日不妊会誌 36: 153-156
- 8) Hotchkiss RS, Pinto AB and Kleegman S (1955) Artificial insemination with semen recovered from the bladder. Fertil Steril 6: 37-42
- 9) 三宅正文, 熊本悦明, 丸田 浩 他(1985) AIHにより妊娠成功をみた3例の特発性逆行性射精例. 日不妊会誌 30: 308-317

(受付: 1997年2月12日)

(受理: 1997年6月9日)

**Idiopathic retrograde ejaculation with pregnancy by AIH with frozen sperm:
Case report**

Takao Ishii, Naoki Uchino, Yousuke Shinohara,
Shoji Kamikatahira and Teruo Hayashi

Department of Obstetrics and Gynecology
Kinugasa Hospital, Kanagawa 228, Japan

Pregnancy has been achieved homologous artificial insemination with frozen husband's sperm in the spouse of a patient with infertility caused by retrograde ejaculation. The pregnancy ended successfully with the birth of live twins.

A review of the literature showed that AIH was mostly performed using sperm recovered from inside the bladder. While Hotchkiss' original method was used to recover the sperm in almost all cases, many adaptations were applied in order to obtain favorable, motile sperm. This primarily involved a urethral catheter to clean the bladder and collect urine a painful procedure that proved, over the long term, to be psychologically stressful. Using stored, frozen sperm eliminated these problems and provided sufficient sperm to perform AIH.

This therefore promises to be a useful procedure, and, as detailed in our report, and this is, to our knowledge, the first case in which living offspring were delivered following this procedure.

Key words: retrograde ejaculation, cryopreservation, artificial insemination

BROMOCRIPTINE TREATMENT OUTCOME FOR A PITUITARY ADENOMA PATIENT SUFFERING FROM MALE INFERTILITY

Atsumi YOSHIDA, Kazukiyo MIURA and Masafumi SHIRAI

First Department of Urology
Toho University School of Medicine, Tokyo 143, Japan

Mitsuhiro MOTOYAMA and Yasuhisa ARAKI

The Institute of Advanced Medical Technology Central Clinic, Tochigi 329-04, Japan

Shigeo ARAKI

Department of Obstetrics and Gynecology
Jichi Medical School, Tochigi 329-04, Japan

Abstract: In this report, we present the successful use of bromocriptine in facilitating conception by a male infertility patient with a pituitary adenoma. A 35-year-old male patient and his 34-year-old wife first came to our clinic in June of 1994, for evaluation of infertility after a 69-month history of ineffective unprotected sexual intercourse. The male suffered from hyperprolactinemia, oligoasthenozoospermia, slight sexual dysfunction and a pituitary adenoma. After bromocriptine treatment, improvements were seen in the patient's serum prolactin level, sperm density, sperm motility and overall sexual function. His wife was eventually able to conceive via subsequent artificial insemination. Bromocriptine administration may be effective for male patients with moderate to severe hyperprolactinemia undergoing infertility treatment.

Key words: prolactin, male infertility, pregnancy, bromocriptine, sexual function

(Jpn. J. Fertil. Steril., 42 (4), 324 - 327, 1997)

Introduction

Increasing levels of prolactin can cause a woman to progress through a spectrum, beginning with an inadequate luteal phase to anovulation to the amenorrhea associated with complete GnRH suppression. Although hyperprolactinemia in males is commonly associated with impotence, the role of serum prolactin in male infertility is still unclear. This case report presents a pregnancy facilitated by combining bromocriptine treatment of hyperprolactinemia and oligoasthenozoospermia with a pituitary adenoma, and the technique of artificial insemination (AIH).

Case report

A 35-year-old male patient and his 34-year-old wife first came to our clinic in June of 1994, for evaluation of infertility after a 69-month history of ineffective unprotected sexual intercourse. Although his wife had previously been diagnosed with an ovulatory dysfunction, her salpingography did not reveal any abnormalities. The patient's past medical history includes urethral stricture. He did not exhibit galactorrhea and was not taking any medication. His right and left testicular volumes were both measured at 10 ml and he had a large left varicocele. The patient was diagnosed with oligoasthenozoospermia

with a sperm density of $3.0 \times 10^6/\text{ml}$ and a sperm motility of 19 % and his total semen volume was 5.0 ml. He exhibited a normal karyotype of 46,XY. His serum FSH, LH, testosterone and prolactin values were 7.6 mIU/ml, 2.5 mIU/ml, 1.7 ng/ml and 230.0 ng/ml, respectively. Magnetic resonance imaging (MRI) of the pituitary prior to bromocriptine treatment confirmed the presence of a low density area in the right lobe, 1-cm in diameter, which displaced the pituitary stalk from its original central position slightly to the left. This region extended among the tissue surrounding the internal carotid artery (Fig 1A). After discussing a course of treatment with neurosurgeons, treatment with bromocriptine (Parlodel, Sandoz Ltd, Basel, Switzerland) was initiated at a dosage of 5.0 mg/day. Subsequent MRI following 6 months of treatment could not detect any evidence of the low density area and the deviation of the pituitary stalk had been corrected (Fig 1B). Fig 2 outlines the changes in serum prolactin value, sperm

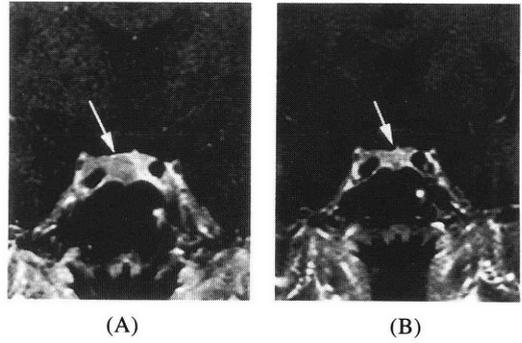


Fig. 1 (A), Magnetic resonance imaging (MRI) of the pituitary prior to bromocriptine treatment confirmed the presence of a low density area in the right lobe, 1-cm in diameter, which displaced the pituitary stalk from its original central position slightly to the left. This region extended among the tissue surrounding the internal carotid artery. (B), Subsequent MRI following 6 months of treatment could not detect any evidence of the low density area and the deviation of the pituitary stalk had been corrected.

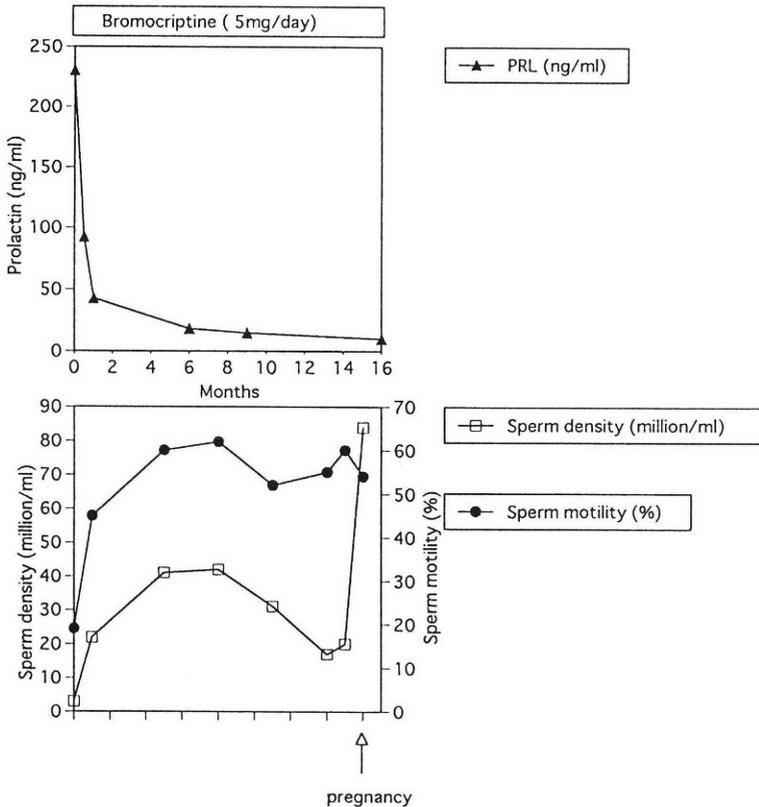


Fig. 2 Changes in serum prolactin level, sperm density and sperm motility during the course of a bromocriptine treatment.

density and sperm motility during the course of bromocriptine treatment. As indicated by the graph, serum prolactin values decreased while sperm density and motility improved. Although he reported slightly decreased levels of sexual desire prior to medication, it appeared to be normal after treatment as indicated by the four fold increase in the frequency of sexual activity per month. Bromocriptine treatment also allowed the patient to sustain erectile function with normal staying power throughout intercourse. Previously he had been experiencing shrinkage upon insertion into the vagina. The interval between the initiation of intercourse and ejaculation which was slightly late before treatment, fell within normal parameters thereafter. The patient even reported significant increases in post-treatment orgasm frequency. In short, the patient exhibited a dramatic overall improvement in terms of sexual function following treatment.

During the course of bromocriptine treatment in the male patient, his wife underwent four cycles of ovulation evaluation, two cycles of clomiphene citrate (Clomid; Shionogi, Osaka, Japan) stimulation was then used in conjunction with AIH yielding negative results in two cycles. Three cycles of hMG (Humegon; Nihon Organon, Tokyo, Japan) stimulation couples with AIH were then attempted. Although the initial two cycles were unsuccessful, the third resulted in a clinical pregnancy which we confirmed a movement of a fetal heart.

Discussion

Animal studies suggest the potential influence of serum prolactin on testicular steroidogenesis and spermatogenesis. For example, Gunasekar et al.¹⁾ reported a direct stimulation effect of prolactin on testicular steroidogenesis in mature monkeys. The role of prolactin in spermatogenesis and sperm function in humans however, remains controversial^{2,3,4)}. In the patient observed in this particular case, semen analysis outcomes, including sperm density and motility as well as overall sexual function improved as a result of bromocriptine treatment eventually resulting in clinical pregnancy. Okada et al.²⁾ also reported three cases of hyperprolactinemic patients with pituitary microadenomas who were receiving bromo-

riptine treatment as well. Although serum prolactin levels in each case normalized within one month, no changes in sperm density, motility or morphology were found after normalization of serum prolactin levels. It is possible that this controversial result lies in the fact that the value of serum prolactin in our patient was originally higher than those obtained by Okada et al. (20 ~ 39 ng/ml). Our patient also appeared to have a slight sexual dysfunction, while the patients studied by Okada et al. did not exhibit any symptoms of impotence or loss of libido. We suggest that mild hyperprolactinemia, like no existence of a pituitary adenoma or existence of a very small pituitary adenoma has no influence on spermatogenesis or sexual function while moderate hyperprolactinemia, like a small pituitary adenoma can influence spermatogenesis and severe hyperprolactinemia, like a large pituitary adenoma can have a profound influence on both spermatogenesis and sexual function.

Okada et al. also indicated that 80 % of the infertile men with hyperprolactinemia who were evaluated were taking cimetidine or some other types of anti-anxiety drug. Serum prolactin levels were reported to have normalized after discontinuing the use of such drugs. This finding introduces the need to consider the possibility of drug-induced hyperprolactinemia when diagnosing hyperprolactinemic patients.

In conclusion, bromocriptine treatment may prove to be an effective intervention in counteracting sexual dysfunction and infertility in male patients suffering from moderate to severe hyperprolactinemia.

Acknowledgments

The authors are extremely grateful to Mr. Hiro Sung for his assistance in the preparation of this manuscript.

References

- 1) Gunasekar PG, Kumara B, Govindarajulu P (1988) Prolactin and Leydig cell steroidogenic enzymes in the bonnet monkey (*Macaca radiata*). *Int J Androl* 11: 53-59
- 2) Okada H, Iwamoto T, Fujioka H, et al. (1996) Hyperprolactinemia among infertile patients and its effect on sperm functions. *Andrologia* 28: 197-

- 202
- 3) Eggert-Kruse W, Schwalbach B, Gerhard I, et al. (1991) Influence of serum prolactin on semen characteristics and sperm function. *Int J Fertil* 36: 243-251
- 4) Gonzales GF, Garcia-Hjarles M, Velasquez G (1992) Hyperprolactinemia and hypersertoni-naemia: Their relationship to seminal quality. *Andrologia* 24: 95-100
- (受付: 1997年6月9日)
(受理: 1997年7月29日)

下垂体腺腫を合併した男性不妊症患者におけるプロモクリプチン療法の成績

東邦大学医学部泌尿器科学第1講座
吉田 淳, 三浦一陽, 白井將文

高度医療技術研究所・中央クリニック
本山光博, 荒木康久

自治医科大学産婦人科学教室
荒木重雄

今回我々は下垂体腺腫を合併した男性不妊症患者にプロモクリプチン療法が有効であった1例を経験したので報告する。

症例は夫35歳, 妻34歳。不妊期間は69か月。不妊症の精査目的にて1994年6月に受診した。夫は, 高プロラクチン血症, 乏精子症, 精子無力症, 軽度性機能障害, 下垂体腺腫と診断した。プロモクリプチン療法実施後, 夫の血清プロラクチン値, 精子濃度, 精子運動率, 性機能は改善した。妻は人工授精にて妊娠した。プロモクリプチン療法は中等度または高度のプロラクチン血症がある男性不妊患者には有効であると推測された。

キーワード: プロラクチン, 男性不妊症, 妊娠, プロモクリプチン, 性機能

地方部会講演抄録

第8回 日本不妊学会春季九州支部会

日時：平成9年4月20日(日)8時30分～

会場：(福岡市)武田薬品9F大ホール

1. 全自動免疫化学発光測定システム(イムライズ)の臨床応用に関する検討

○合原陽子, 河野雅洋, 林田和美
石丸忠之 (長崎大産婦)

従来血中ホルモン値はRIAにより測定されていたが, 近年EIA機器開発の進歩にともない, 各施設でEIAによる測定が可能となってきた. 今回, 我々は, 化学発光酵素免疫測定法(CLEIA)を利用した高感度アッセイであるイムライズ(日本DPCコーポレーション)の臨床応用について検討したので報告する.

測定項目はLH, FSH, estradiol (E₂), progesterone (P) およびhCGである. RIAによる測定値との相関係数はそれぞれ0.963, 0.996, 0.936, 0.980および0.997であり, 良好な相関が認められた. 日内再現性CV(%)はそれぞれ2.8～8.7, 2.8～5.6, 3.2～12.4, 4.0～12.6および6.5～12.9, 日差再現性CV(%)はそれぞれ4.4～9.3, 2.8～6.9, 7.4～12.3, 6.0～13.7および6.2～10.9であり, E₂, PおよびhCGは測定値によりCV値が大きくなる場合があった.

イムライズは簡便な操作法により迅速に測定結果が得られ, RIAとの相関も良好であることから, 臨床応用に有用であると考えられた.

2. 酵素抗体(EIA)法を用いた血清中エストラジオール(E₂)測定に関する検討

○土井良順子, 井上善仁, 野崎雅裕
佐野正敏, 中野仁雄 (九州大産婦)
増本道子, 木下幸子, 濱崎直孝
(九州大中央検査部)

EIA法によるホルモン測定は, 放射性同位元素(RIA)法に比べ安全で簡便な方法として普及しつつあるが, 測定感度や交差反応の有無も重要である. 今回EIA(TOSOH社Eテスト)を用いて血清E₂値を測定し, RIA法(DPC社E₂キット)と比較した.

閉経・両側卵摘術後例のE₂値は, EIA法では測定感度(25 pg/ml)未満例は19例(46%)で残る22例の値は60.1±41.2 pg/mlであり, RIA法では測定感度(10 pg/ml)未満例は9例(60%), 残る6例は22.7±17.4 pg/mlを示した(p<0.05; Wilcoxon's test). 合成性ステ

ロイド服用例のE₂値はEIA法で259±13 pg/ml, RIA法で26.0±8.7 pg/mlであった(p<0.01). 血清E₂値が100 pg/ml以上の場合Y=0.98X+106.3(N=12, r=0.82, p<0.01), 100 pg/ml未満の場合Y=1.07X+47.6(N=28, r=0.36, NS)であった.

EIA法を用いた血清E₂測定は閉経例のような低値例には不適であり, その原因のひとつとして他のステロイドなどによる交差反応の可能性が考えられた.

3. 子宮内膜波状運動と妊孕性の関係

○沖 利通, 丸田邦徳, 中村佐知子
伊集院博文, 三谷 穰, 桑波田理樹
中江光博, 堂地 勉, 永田行博
(鹿児島大産婦)

子宮内膜波状運動の存在は知られているが, その生理的意義は明らかではない. 今回, 我々は子宮内膜の波状運動と妊孕性の関係について検討したので報告する.

対象は当科外来の不妊患者10症例20周期(妊娠例3例, 非妊娠例7例)である. 卵胞期中期・排卵前期・尿中LHピーク時・排卵後1日目・排卵後7日目に以下の項目について観察した. 子宮内膜運動は周期(T)・振幅(w)・波自体の周期(t)を経膈超音波断層Mモード法で測定し, 同時に子宮内膜厚(em)・子宮内膜像・卵胞の計測も行い, 妊娠周期と非妊娠周期の相違点を検討した.

子宮内膜運動の特徴: 卵胞期中期(T=25.5±5.9 sec, w=0.7±0.3mm, t=4.5±1.8sec)から排卵前期(T=16.4±8.9sec, w=1.2±1.4mm, t=2.4±1.1sec)・尿中LHピーク時(T=11.7±5.7sec, w=1.7±1.9mm, t=2.2±1.9sec)・排卵後1日目(T=15.5±8.1sec)・排卵後7日目(T=37.1±16.7sec)と, LHピーク時前は子宮内膜は子宮長軸に対し垂直方向の波状運動を示し周期・頻度は持続的に上昇した. LHピーク前後で子宮長軸に平行な振動に変化し, ピーク以降は波の周期も減少し排卵後7日目にはほぼ消失する. 妊娠周期と非妊娠周期の比較: 排卵後1日目において妊娠周期(T=24.3±9.2sec, 垂直運動0%(0/3), 平行運動100%(3/3), em=11.2±1.3mm), 非妊娠周期(T=10.0±5.1sec, 垂直運動58.8%(10/17), 平行運動41.2%(7/17), em=10.7±1.1mm)と, 子宮内膜厚は非妊娠周期と同等ながら妊娠周期では垂直方向の内膜運動は認められなかった.

排卵直後の子宮内膜の垂直運動は, その周期の妊

孕性を反映するマーカーとして重要である可能性が示唆された。

4. 抗リン脂質抗体症候群合併妊娠管理における超音波パルス・ドプラ検査の意義

○井上統夫, 河野雅洋, 蓮尾敦子
宮村泰豪, 増崎英明, 石丸忠之

(長崎大産婦)

抗リン脂質抗体症候群 (APS) 合併妊娠9例を対象とし, 子宮動脈 (UA), 臍動脈 (UmA) および中大脳動脈 (MCA) の pulsatility index (PI) を経時的に測定した。対象の妊娠転帰は, 19週および22週でIUIDFをきたしたものの2例 (A群), 生児は得たが, 児はSGAであり, 25~33週で急速遂娩を要したものの4例 (B群) および35週以降でAGAの児を得たものの3例 (C群) であった。

UAのPIは, A群では妊娠初期より低下はみられず, IUIDFをきたす2~3週前よりさらに上昇した。B群では妊娠初期より17~18週まで低下したが, それ以降の低下はみられずかえって上昇した。C群では妊娠初期より24~26週まで低下し, それ以降も上昇傾向はみられず低値を持続した。UmAとMCAのPIを比較すると, A群およびB群では分娩1~3週より前よりUmA > MCAとなったが, C群では分娩時までUmA < MCAであった。

以上より, APS合併妊娠管理における超音波パルス・ドプラ検査の有用性が示唆された。

5. 卵管采の形状と妊娠について

○宇津宮隆史, 広瀬美代子, 指山実千代
後藤孝子 (セント・ルカ産婦)

卵管采の機能はいまだ不明な点が多い。また, いわゆる機能性不妊症に対してのGIFTによる妊娠率は高い。そこで腹腔鏡検査を行ってその後妊娠にいたった例の卵管采の形状を分析し, 卵管采の機能を推察した。

腹腔鏡検査を受け, その後, 通常の外來治療にて妊娠にいたった146例の, 妊娠した側とその反対側について, 腹腔鏡時の卵管采の分類を行った。分類は, 卵管采の大きさ, 開口部の位置, 癒着, 卵巣との位置関係, 疎通性の5ポイントである。

癒着, 卵巣との位置関係, 疎通性については差はなかったが, 卵管采の大きさは妊娠した側は正常に近い大きさで, 妊娠しなかった側は正常より小さく, また, 開口部は妊娠した側は中央に開口し, しなかった側はやや偏位していた。

機能性不妊の多くは卵管采の形に妊娠しにくい場合があることが推察され, 早めに腹腔鏡検査を行い, それらが疑われる場合はGIFTが適応になると考えられた。

6. 卵巣チョコレート嚢胞に対する腹腔鏡下手術における体外法と体内法の比較

○横山幹文, 新谷可伸, 小松一
畔上正夫, 中原博正, 松隈敬太
飯野 宏 (九州厚生年金病院)

当院では従来卵巣チョコレート嚢胞に対して体内法を用いてきたが, SAND Balloon Catheterの導入以降, 可及的に体外法を適用している。そこで両手術法を比較検討することを目的とした。

平成7年9月から平成8年12月までに腹腔鏡下嚢腫摘出術を施行したチョコレート嚢胞の患者20名を対象とした。体外法 (EC群), 体内法 (IC群) を施行したのはそれぞれ10症例であった。

年齢では両群に差はなかった。子宮内膜症の進行期ではEC群で 期6例, 期4例, IC群で 期2例, 期8例であった。RAFSスコアリングではEC群で39±15, IC群で70±36であった。手術時間ではEC群で111±21分, IC群で166±42分であった。出血量ではEC群で52±56g, IC群で27±35gであった。合併症および術後退院日数に差はなかった。

卵巣チョコレート嚢胞に対する体外法による嚢腫摘出術は癒着の高度でない症例に対して有効であり, その簡便性, 安全性, 確実性, 低侵襲性から有用な方法と考えられる。

7. 子宮外妊娠に対する保存手術の検討

○藤下 晃, 宮村泰豪, 中村恒一
鮫島哲郎, 増崎英明, 石丸忠之

(長崎大産婦)

子宮外妊娠に対する保存手術として, 開腹後 (A群) と腹腔鏡下 (B群) の保存手術の治療成績を比較した。

A群では41例に対し保存手術を試みたが, 保存手術が施行できたのは30例, 保存できなかった11例中8例が胎児心拍陽性例であった。一方, B群では31例中26例に保存手術が施行でき, 保存できなかった5例中3例は卵管粘膜の断裂をきたした。両群間での患者年齢, 妊娠週数, 術前血中hCG値, 卵管の最長径および外妊部位には差は認めなかった。術後患側の卵管疎通率はA群78% (21/27例), B群75% (12/16), 存続外妊は, A群7% (2/30例), B群15% (4/26例) にみられた。術後6か月以上follow up

できた例での子宮内妊娠率はA群54% (15/28例), B群57% (8/14例), 外妊の反復はA群4例 (21%), B群2例 (20%) にみられた。

以上の検討から, 保存手術の適応の有無について言及する予定である。

8. 妊娠に合併した付属器腫瘍茎捻転に対する腹腔鏡下捻転解除術の経験

○神山 茂, 長井 裕, 當間 敬
宮城博子, 東 政弘, 金澤浩二

(琉球大産婦)

付属器腫瘍茎捻転に対してはその切除が原則とされているが, 近年, 捻転解除術による卵巣温存の報告が散見される。今回我々は, 妊娠に合併した付属器茎捻転症例に対する腹腔鏡下捻転解除術を経験したので報告する。

症例は31歳, 9年間の原発性不妊症例であり, 30歳時に右卵巣皮様嚢腫に対する腹腔鏡下嚢腫摘出術の既往がある。IVFにて双胎妊娠成立, OHSSも発症後, 妊娠9週で激しい疼痛をともなった右付属器腫瘍の茎捻転を発症した。その発症から3時間しか経過していないことより卵巣温存可能と判断し, 腹腔鏡下に茎捻転の解除を試みた。腫大した右卵巣は卵管とともに2回転捻転しており, その色調は暗紫であった。捻転解除後は, その色調はかなり改善した。術後疼痛は軽度で発熱もなく, 術後経過は良好であった。カラー・ドプラ検査所見では右卵巣の大部分に血流所見が認められ, 異常所見はみられなかった。現在妊娠33週で経過良好である。

9. 人工透析患者の卵巣機能

○伊集院博文, 中江光博, 川島利恵
堂地 勉, 沖 利通, 吉永光裕
中村佐知子, 丸田邦徳, 永田行博

(鹿児島大産婦)

慢性的人工透析 (CHD) 患者が無月経に陥ることはよく知られている。しかし, CHD患者の性機能障害の機序については必ずしも明確でない。そこでCHD患者の月経異常について調査し, 性機能障害の原因を内分泌学的に検討した。

対象は25例 (24~48歳) のCHD患者である。全例が透析開始前は, 正常月経周期を有していた。20例が透析開始後無月経に陥った。5例は正常周期を維持した。無月経に陥った20例中8例は正常周期に, 6例は, 希発月経に3か月から66か月で改善したが, 6例は無月経のままであった。血清PRL値は月経異常 (無

月経+希発月経) 群で 53.6 ± 36.2 ng/mlであり正常群の 27.8 ± 15.2 ng/mlより有意に高かった ($P < 0.05$)。LH値は月経異常, 正常周期にかかわらず高かった。血清PRL値は月経異常の発生と関連した ($r = 0.55$, $P < 0.01$)。PRL値と透析期間は負の相関を示す傾向にあった ($r = -0.288$, $P < 0.1$)。

透析患者は無月経などの月経異常に陥りやすく, その原因として高PRL血症が大きな比重を占めていることが推察された。さらに透析患者の月経異常は長期的には透析中であっても改善していく傾向にあることが示された。

10. 排卵誘発後妊娠例の転帰に関する検討

○鋤本祥子, 本庄 考, 新堂昌文
倉島雅子, 詠田由美, 白川光一

(福岡大産婦)

排卵誘発後妊娠の転帰について検討した。

排卵誘発法にて妊娠に至った205例を対象とした (誘発群)。HSG後2周期以内, 排卵誘発非施行で妊娠に至った85例を対照群として, まず妊娠予後 (早期流産, 子宮外妊娠, 多胎妊娠) について検討した。その他, 誘発群の背景別 (中枢性非卵障害48例, PCO55例, 黄体機能不全症76例, 機能性不妊症29例) および誘発法別 (CL68例, CL+hMG32例, hMG105例) も比較検討した。

流産率は誘発群13.6%, 対照群14.1%, 多胎率は誘発群4.9%, 対照群1.2%と有意差がなかったが, 子宮外妊娠率は誘発群0.5%, 対照群4.7%と, 誘発群で有意に低かった ($P < 0.05$)。背景別では, PCOにおいて流産率が25.5%と有意に高かった。誘発法別では, 妊娠予後に差はみられなかった。

当科における排卵誘発法では, 妊娠予後は良好であった。

11. クロミフェン療法中に排卵障害が進行した興味ある症例

○三谷 穰, 丸田邦徳, 中村佐知子
伊集院博文, 沖 利通, 桑波田理樹
中江光博, 堂地 勉, 永田行博

(鹿児島大産婦)

今回我々は, クロミフェン療法中の排卵障害進行が契機となって他の内分泌疾患が判明した興味ある症例を経験したので報告する。

症例は既婚, 2経妊2経産で既往歴・家族歴に特記することはなかった。10歳で初経以来, 月経は順調であったが, 25歳時第1子分娩後無月経となった。

某医を受診し、高プロラクチン血症の診断でクロミフェン-プロモクリプチン療法を受け、30歳時第2子を妊娠出産した。その後、2年間無月経のため、当院を1991年7月(32歳時)に受診した。プロラクチン値は22.4 ng/mlと正常値であったが、乳汁分泌を認め、乳汁漏出無月経症候群の診断でプロモクリプチン療法を開始した。当初、プロモクリプチン療法で乳汁分泌は軽快したが排卵がみられず、クロミフェン-プロモクリプチン療法にて排卵がみられるようになった。ところが、1995年6月クロミフェン150 mg/dayでも月経が不規則になり、1996年3月にはプロラクチン値が再上昇してきた。プロラクチン産生腫瘍を疑って検索を開始したが、1年ほど前から足のサイズが1 cm大きくなり、体重も8 kg増加、指輪のサイズが急激に大きくなった、顔貌が変わったなどと患者が訴えるため、他の内分泌疾患も念頭に置き精査した。その結果、成長ホルモンが126.6 ng/mlと異常高値を示し、頭部X線検査でトルコ鞍の拡大、MRI検査で下垂体上部に直径3 cmの腫瘍を同定できた。以上の所見から、1996年高プロラクチン血症をともなった末端肥大症と診断し、当院脳外科で蝶形骨Hardy手術を施行した。術後には、成長ホルモンは正常化し、排卵も定期的になり、月経も30日型で順調である。

今回の症例は、内分泌疾患に特有な所見に注意を向ければ、まだ早期に診断治療が行えた症例と考えられた。このことから、排卵誘発剤使用中に、反応性の低下が進行する場合に身体的所見にも細心の注意を払い診療に当たることを再認識させられた。

12. 重症卵巣過剰刺激症候群に対する低用量ドーパミン療法の有用性の再検討

○西村宏祐, 氏岡威史, 鄭 俊明
岩政 仁, 田中信幸, 松浦講平
岡村 均 (熊本大産婦)

過去5年間に当科で入院管理した重症OHSSの症例のうち、低用量ドーパミン(3 μg/kg/min)療法(DOA)を施行した8例の臨床経過を検討した。

平均年齢は32.3 ± 3.4歳、hMG投与量は1100 ± 380 IUであった。DOAにより全例速やかに症状・所見は改善し、その治療期間は7.9 ± 2.0日であった。症状の進行の停止あるいは改善が、DOA開始後翌日よりみられた。各検査値も翌日よりその治療効果が現れ、少なくとも3日以内には、明らかに改善し、その推移は、おおむねWBCの減少、ついでHt値の低下、尿量の増加の順で改善がみられた。しかし卵巣腫大、

腹水の貯留は比較的長期間持続した。

同期間に輸液のみで管理できた重症OHSSと比較すると、DOA施行例において、臨床症状ならびに各検査値はより早期に改善する傾向を示し、本法は極めて有効な治療法と考えられた。

13. マウス精母細胞の体外培養の試みとその改良

○田中威づみ, 田中 温, 永吉 基
栗田松一郎, 馬渡善文
(セントマザー産婦人科)
楠 比呂志 (神戸大農学)

原発性無精子症の約6割は精母細胞以上の分化を示している。もし精母細胞が体外培養により、精子にまで分化が可能となるならば、ICSIの技術を用いて卵子と受精させることは夢ではない。今回我々はマウスを用いて実験を行い、有用と思われる結果を得たので報告する。

14日齢のマウス(Sea: DDY)の精巣組織をコラゲナーゼ、DNAアーゼを用いて処理した。得られた細胞はNagaoの方法に準じて培養した。培養1週間後にウエルの底に付着したセルトリ細胞の上方に増殖している造精細胞を吸引除去後、新しく処理した細胞浮遊液をセルトリ細胞の上に注入し培養した。

セルトリ細胞は培養1週間後にウエルの底にモノレイヤーを形成した。セルトリ細胞上に浮遊させた精母(祖)細胞の1週間後の生存率は約50%であった。精母細胞より明らかに小型の円形細胞の出現の頻度が高くなった。頭部は紡錘形であるが、正常な形態を有し運動性を有する尾部を備えた精子を確認した。

14. 形態良好胚が得られたにもかかわらず妊娠に至らなかった体外受精・胚移植症例の検討

○糸野陽子, 松田和洋, 平野隆博
前田康貴, 伊藤正信, 波多江正紀
(鹿児島市立病院産婦)

形態良好胚の移植によっても妊娠が成立しない要因を検討した。

平成7年6月から8年12月に行った体外受精・胚移植のうち形態良好胚(Veeck分類のgrade 1)を含む胚移植が可能であった93周期を妊娠周期38周期と非妊娠周期55周期に分け比較検討した。

採卵数、受精率、移植胚数の平均はそれぞれ妊娠、非妊娠周期の順に9.7個と9.8個、68%と62%、2.9個と3.1個であり、long protocolの頻度、HMG投与日数、総HMG投与量にも差は認めなかった。移植時の子宮内膜厚(mm)は順に11.9と11.4、厚さ8 mm以上の頻

度は89%と87%, 子宮内膜の形態(木の葉状)の頻度も61%と56%と差は認めなかったが, 通常の方法でETが困難であった症例の頻度が, 妊娠周期では1周期(2.6%)に対して非妊娠周期では10周期(18.2%)と有意差を認めた($P < 0.05$).

形態良好胚の移植に関しては, 移植の際の難易度が妊娠成立に影響する可能性があり, 胚移植方法の工夫が必要と思われた.

15. 新しい胚移植カテーテル (The Edwards-Wallace Embryo Replacement Catheter) の使用経験

○松田和洋, 平野隆博, 前田康貴
伊藤正信, 糸野陽子, 波多江正紀
(鹿児島市立病院産婦)

IVF/ETの妊娠率向上には, 良質胚の獲得とスムーズかつ迅速な胚移植(ET)が重要であるが, 良質胚が得られても, 頸管の屈曲が強く, 移植困難なゆえに妊娠が期待できない場合がある. 今回, これらのトラブルに対応すべく新しく開発されたETカテーテル(The Edwards-Wallace Embryo Replacement Catheter; 以下W-Cath)を使用する機会を得たので報告する.

平成8年9月から12月まで18周期に対しW-Cathを用いてETを行い, 7周期に臨床妊娠が成立した(同時期の富士システムΦコンチューブによるETでは18周期中10周期で妊娠成立). うち2例は頸管の屈曲が強く, 前回のETが非常に困難であったが, スタイレット付きW-Cathの使用によってスムーズなETが可能となり, 妊娠が成立した. W-Cath, とくにスタイレット付きのものはET困難症例に非常に有用と思われる.

16. 着床前遺伝子診断における8細胞期胚のbiopsyの有用性の検討

○丸田邦徳, 沖 利通, 中村佐知子
伊集院博文, 三谷 穰, 桑波田理樹
中江光博, 堂地 勉, 永田行博
(鹿児島大産婦)

着床前遺伝子診断において, 診断精度向上は必須である. 我々は, 4細胞期胚から1割球をbiopsyする遺伝子診断法を検討してきた. 今回, 着床前遺伝子診断精度の向上を目的に, マウス8細胞期胚から1個から4個の割球をbiopsyし, その後の胚の生存性と生仔獲得率を検討した.

8週齢ICR雌マウスを過排卵処理し, hCG投与と同時に10週齢の同系雄マウスと交配させ, 48時間後

卵管より受精卵を採取. その後6時間5% CO₂ in air, 37℃で培養. 8細胞から割球をmicromanipulatorでbiopsyし, 位相差顕微鏡下で胚発育を24時間ごとに観察し, 24時間培養後偽妊娠雌マウス卵管に移植し生仔数を検討した. 8細胞期胚のうちbiopsy割球数0個:A群, 1個:B群, 2個:C群, 3個:D群, 4個:E群, 4細胞期胚からのbiopsy割球数0個:F群, 1個:G群とした.

それぞれの72時間後のexpanded blastocyst率は, A群:68.0%(17/25), B群:64.0%(16/25), C群:40.7%(11/27), D群:22.7%(5/22), E群:0.0%(0/20), F群:68.2%(15/22), G群:57.1%(12/21)であった. 生仔獲得率は, A群:27.2%(3/11), B群:20.0%(2/10), C群:21.4%(3/14), D群0.0%(0/16), E群:0.0%(0/10), F群:25.0%(3/12), G群:22.2%(2/9)であった. 得られた生仔にまったく異常は認めなかった.

8細胞期胚でもbiopsy割球が2個までなら, 4細胞期胚から1割球biopsyの場合と胚発育と生仔獲得率は同等であった. このことから, 4細胞期胚から1割球biopsyの場合より, 8細胞期胚から2割球biopsyの方がDNA量が2倍となり複数回の遺伝子の診断が可能になる点で有用であると思われた.

17. 男性不妊症における血液クラミジア検査の有用性

○徳田倫章, 松本哲朗, 熊澤浄一
(九州大泌尿器)
小松 潔 (原三信病院泌尿器)

男性不妊症における血液Clamidia trachomatis(以下CT)検査の有用性を検討した.

原三信病院男性不妊外来を受診した男性患者において血液中における抗CT抗体価を測定した.

血液中の抗IgA抗体に関しては精液所見にかかわらず82症例中16例(19.5%)に, またIgG抗体は82症例中11例(13.4%)に陽性例を認めた. これらの陽性ならびに非陽性症例における精液所見を比較検討する. また陽性症例では配偶者も含めて各種クラミジア検査の結果を解析報告する.

血液中に抗CT抗体が高率に存在することは, 不妊外来におけるクラミジア感染に対する診断ならびに治療において, CT抗体検査の有用性を示唆するものと思われた.

18. 男性不妊症における精液クラミジア検査の有用性

○徳田倫章, 松本哲朗, 熊澤浄一

(九州大泌尿器)

小松 潔 (原三信病院泌尿器)

男性不妊症における精液 *Chlamidia trachomatis* (以下CT) 検査の有用性を検討した。

原三信病院男性不妊外来を受診した男性患者において精液中の白血球数が、検鏡1視野5個以上の21例を膿精液症群、1視野5個未満の24例を非膿精液症群とし、一般精液検査、精液中の抗CT抗体、PCR法によるCTの遺伝子診断を行った。

精液中におけるCTのPCR法では、非膿精液症群では全例陰性であり、膿精液症群21症例中においては1例(4.8%)に陽性例を認めた。また、精液中の抗CT抗体価は、IgG抗体に関しては全例陰性であったが、IgA抗体価は非膿精液症群24例中2例(8.3%)に、また膿精液症群21例中5例(23.8%)に陽性例を認めた。

陽性症例における尿中CT PCR法、血中抗CT抗体価について、また、配偶者における各種CT検査の結果を解析報告する。

19. 人工精液瘤の治療成績

○小松 潔, 山口秋人

(原三信病院泌尿器)

蔵本武志 (蔵本ウイメンズクリニック)

人工精液瘤は精路再建術不能例、射精障害などに用いられる精子回収術である。対象は1988年～1995年までの11例で平均年齢33歳。

先天性では精管欠損症6例に6回、後天性では鼠径部手術による精管閉塞2例、結核による精路閉塞2例、リンパ節廓清術後の射精障害1例の5例に再手術を含めて10回、計16回の手術を施行、人工精液瘤は人工血管材料を用いて作成、先天性精管欠損症では6例中2例に運動精子を得たが、すぐに精子の回収は不能となった。後天性症例では、5例全例に3～60回の運動精子を回収できた。回収精液量は約1ml、精子濃度 $20 \sim 442 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率 $0 \sim 55\%$ で精子回収可能期間は3か月～3年8か月、穿刺回数は3回～64回。

回収精子は、穿刺するたびに改善していく傾向にあった。先天性精管欠損症6例は人工授精などはできなかった。後天性症例5例中3例に人工授精施行、1例が第1子および第2子の妊娠出産に成功し、3例に回収凍結精子で顕微授精施行、2例が妊娠出産に成功した。

20. 当院における男性脊損不妊患者の治療成績

○馬渡善文, 田中 温, 永吉 基

栗田松一郎, 田中威づみ

(セントマザー産婦人科)

当院を受診した、射精障害を有する男性脊損不妊夫婦に対して、精巢上体精子回収法により精子を採取し、体外受精胚移植法、GIFT法、ZIFT法により不妊治療を行ったので、その臨床成績について報告する。

平成4年8月から平成8年10月の間に当院にて治療を行った男性脊損不妊夫婦45組、47症例を対象とした。初診時の平均年齢は、夫34.8歳(25～46)、妻31.1歳(23～42)、平均受傷年数は12.5年(1～28)であった。

精巢上体精子回収法によって精子を採取できたのは45組中40組(88.9%)であった。採取できた40組の平均精子濃度は254万/ml(1万/ml～400万/ml)、平均精子運動率は44%(0%～80%)であった。また40組中37組(92.5%)で精子凍結が可能で、その平均凍結本数は8.3本(2本～13本)であった。精子が採取できた40組、42症例の総治療周期は105周期で、平均治療回数は2.5回であった。顕微授精を75.8%(78/103)の周期で行った。対周期、対ET、対症例妊娠率はそれぞれ23.8%(25/105)、25.5%(25/98)、52.4%(22/42)であった。

精巢上体精子回収法と顕微授精を用いた体外受精胚移植法は、男性脊髄損傷患者の不妊治療に非常に有効と考えられる。

21. 当院における3日目胚移植の成績

○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, 市川優子, 角積麻美

平田裕毅 (セントマザー産婦人科医院)

従来、当院では体外受精・胚移植において、基本的には、採卵・媒精から2日後に胚移植(妊娠率27%)を行い、分割の不良な症例に対して、さらにもう1日、培養を延長していた。しかし、現在では方針を変更し、分割のさほど芳しくない症例を2日後に胚移植し、2日目4細胞以上の分割の場合に、その翌日のET(同31%)としている。

2日目の時点で分割が思わしくないケースで、3日目まで培養を続けて、妊娠に至ることはまれであり、また2日目4分割をもつ症例のなかにも、治療を反

復しても妊娠しにくい群を認めた。分割の良好な胚を3日目まで培養することによって、全体としての妊娠率を向上させることができたとともに、8細胞期などに移行する良好な胚(同36%)と、4細胞のまままでとどまる胚(同18%)との間で、さらに胚の選別が可能となった。3日目の段階で2分割の胚は、ほとんど妊娠が期待できないし、4細胞のものでも着床成績はあまり良くないことが確認された。余剰胚の凍結保存は2日目の時点で行っている。

22. Assisted Hatchingの臨床成績

○田中 温, 永吉 基, 粟田松一郎
馬渡善文, 田中威づみ

(セントマザー産婦人科)

IVF-ETにおける妊娠不成立の原因のひとつにハッチング不全が考えられる。このハッチング不全に対する治療法として、Assisted Hatchingが普及している。今回我々は、このAssisted Hatchingの臨床成績について報告する。

過去のIVF-ETで妊娠が十分期待できる程良好な分割卵、子宮内膜、の条件を備えながらも妊娠に至らなかった217周期を対象とした。Assisted HatchingはJ. Cohenの方法に準じて行った。採卵3日目に施行し、凍結卵の移植の場合には2日目に施行し胚移植を行った。

全体の対周期妊娠率は26.7% (58/217)であった。凍結卵のAHの対周期妊娠率は25.8% (8/31)であった。AH時の卵子の分割状態が4細胞以下または5細胞以上の群における妊娠率は新鮮分割卵および凍結分割卵において(16% (4/25), 28.6% (46/161), 9.1% (1/11), 35% (7/20))であった。

分割状態を良好、中、不良の3群に分け、妊娠率を比較してみると明らかに3者間に差異を認めた。

23. 不妊症における子宮鏡診断および子宮鏡下手術TCRの有効性

○平野隆博, 松田和洋, 前田康貴
伊藤正信, 波多江正紀

(鹿児島市立病院産婦)

平成6年7月から8年7月の2年間に不妊症例に行った子宮鏡122名138件について、不妊診療における子宮鏡診断および子宮鏡下手術TCRの有効性について検討した。

子宮鏡で異常を認めたものは122名中63名(59%)であった。子宮鏡前に超音波にて子宮内病変を疑った症例は122例中30名(25%)であり、そのうち子宮

鏡にて何らかの異常所見を認めたものは19名(63%)、残り11名(37%)は子宮鏡にて異常所見を認めなかった。一方、超音波にて病変を疑っていなかった症例92名(122例中75%)においても子宮鏡にて44名(48%)に何らかの異常所見を認め、正常所見例は48名(52%)であった。異常を認めた63例中27例に手術(TCR 15例, D&C 8例, その他4例)を行い、術後7例(26%) (TCR 5例, D&C 1例, hysteroscopeによる頸管癒着剥離1例)に妊娠が成立した。不妊診療において子宮鏡診断および子宮鏡下手術は有用であると思われた。

24. 不妊治療におけるAIHとIVF-ETの比較と関連について

○伊藤正信, 松田和洋, 平野隆博
前田康貴, 糸野陽子, 波多江正紀

(鹿児島市立病院産婦)

不妊治療におけるAIHとIVF-ETの有効性との関連について検討した。鹿児島市立病院における80%単層パーコール法によるAIHの妊娠率は、対AIHで5.6%、対患者で21%であった。AIH5回目までは、妊娠数が比較的急峻に増加したが、6回目以降はその増加が緩やかとなった。6回以上AIHを施行した群では、その妊娠率は対AIHで1.8%、対患者で14.7%であったのに比べ、6回以上AIHを施行し、妊娠に至らず、IVF-ETに移行した群の妊娠率は対胚移植で60.1%、対患者で77.8%ときわめて高かった。

通常、5~6回のAIHでも妊娠に至らない場合は、腹腔鏡検査も考慮するが、高齢で、挙児希望が強い場合は、直接IVF-ETに移行することもある。今回の結果より、AIHとIVF-ETの適用のひとつの目安として、AIHの回数の上限を5~6回とし、妊娠に至らない場合はIVF-ETに移行する方法が有効と考えられた。

25. 頻回の排卵誘発治療後に卵巣癌および卵管癌の同時発症を認めた1例

○永田康志, 田中信幸, 岩政 仁
片淵秀隆, 松浦講平, 岡村 均

(熊本大産婦)

近年、排卵誘発と卵巣癌発生との関係が注目され、とくにhMGの使用は卵巣癌の発生率を増加させる可能性が指摘されている。今回我々は、平成3年(36歳)より不妊治療を開始し、卵管閉塞のため平成4年よりおおむね年間2回のIVF-ETを施行していた患者(4回目に妊娠成立するも7週でIUPD)で、卵巣癌と卵管癌を認めた症例を経験した。

9回目のIVF-ET後排卵誘発により腫大した卵巣は一時正常の大きさとなったが、その1周期後再び嚢胞状に腫大、約1か月後には充実性部分を認めため開腹手術を施行した。組織型より、両側の卵巣癌と卵管癌は個々に発生したものと考えられた。治療開始5年目の発症であること、過排卵誘発の回数が多いこと、発症時41歳と比較的高齢であることが注目される。女性の晩婚化にともない、不妊症患者における高齢者の割合も増加していることから、慎重な配慮に基づく不妊診療が必要であろう。

26. 不妊治療における経済的な側面をとらえての検討

○柴田令子, 広瀬美代子, 渡辺多鶴子
指山美千代, 宇津宮隆史
(セント・ルカ産婦人科)

不妊治療は、未だ私費払いに負う所が多く、日々高額の支払を余儀なくされている。今回、アンケート調査にて治療費の内情を詳しく知り得たので報告する。

当院不妊外来患者150例と体外受精を行った患者30例に、記述式によるアンケート調査を行った。期間は1996年12月5日から1997年1月24日までである。

外来通院患者の職業は、専業主婦が約5割を占め、体外受精患者は、仕事を持っているものが6割以上だった。専業主婦の経済的側面をみると、夫の月収入は、20～30万が約5割であった。一方、共働きによる月収入は30～40万が約4割と多かった。治療費の捻出は、外来患者では夫の月収入のみが多く、貯蓄、ボーナスの順で、体外受精患者では、貯蓄、ボーナス、妻の給料と続いた。保険の適応は、全員が望むと回答した。

全員が保険を望むなか、子供を望む夫婦は、むしろ安い給料の中から工面して治療しているこの心情をくみ取り、補佐することを痛感した。

27. 閉塞性無精子症における精巣精子採取術 (TESE) を用いた顕微授精 (ICSI) の有用性の検討

○蔵本武志, 杉岡美智代, 梅林ツナ
福田貴美子, Arief Boediono, 元石陸郎
(蔵本ウイメンズクリニック)
小松 潔 (原三信病院泌尿器)

精巣上体から運動精子採取が困難な閉塞性無精子症に対して精巣より精子を採取 (TESE) し、これを用

いて卵細胞質内精子注入法 (ICSI) を行い、その有用性を検討した。

上記の適応となる14症例に対して局麻下にTESEを施行した。TESEにより得られた新鮮精子または凍結精子を用いて22周期にICSIを施行した。妻の平均年齢は33.3歳 (26～43歳) であった。

TESE全例ともごく少数の精子を回収できた。平均採卵数10.4個で、ICSI卵あたりの受精率は58% (110/190)、すべての周期に受精、分割を認め、22周期に平均2.8個を胚移植した。11周期、10症例に妊娠を認め、妊娠率は採卵あたり50% (11/22)、症例あたり71% (10/14) であった。1例が満期正常経膈分娩で正常男児を得た。

閉塞性無精子症で精巣上体から運動精子を採取できない症例に対して、TESE-ICSIは非常に有用な治療法である。

28. 精漿IL-8と各精液パラメーターとの関連

○田中雄一郎, 植原久司, 吉松 淳
江藤靖子, 河野康志, 松井尚彦
宮川勇生 (大分医大産婦)

精液にはinterleukin-8 (IL-8) が存在することが報告されているがその役割は明らかでない。今回、精漿IL-8を測定し、各精液パラメーターとの関連について検討した。

31例の精液量、精子濃度、精子運動率、精液白血球数 (WBC) を測定した。精液の性状の指標にはWHO基準を用い、また、精漿IL-8をELISA法で測定した。

正常精液群 (n=10, 精液量2.0 ml以上, 精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上, 精子運動率50%以上) に比較して異常精液群 (n=21, 上記所見をひとつ以上満たさないもの) ではIL-8濃度、WBCが有意に高値 (それぞれ $p < 0.02$, $p < 0.01$) であった。IL-8濃度はWBCと有意な正の相関 ($r = 0.746$) を、また、精子運動率と有意な負の相関 (それぞれ $r = -0.416$) を示した。

以上の結果は、精液中WBCの上昇にIL-8が関連していることを示し、またIL-8は正常精液にも存在し、異常精液では高値であったことから、精漿IL-8が精子機能に生理病理的役割を担っていることが示唆された。

第39回日本不妊学会北海道地方部会学術講演会

日時：平成9年3月8日(土)午後1時～

会場：(札幌市)札幌医科大学臨床研究棟1階 大講堂

1. 無精子症例からの精子回収法

○松村欣也, 三井貴彦 (斗南病院泌尿器)
 神谷博文, 東口篤司, 高階俊光
 森岩 治, 芦原康氏 (同産婦)

ICSIの普及は重症男性不妊患者においても挙児の夢をかなえつつある。そこで、当院での無精子症例からの精子回収法を検討した。

症例は、不妊を主訴に当科を初診した無精子症患者21例である。閉塞性の無精子症は精巣上体精子回収法(MESA), または精巣内精子抽出法(TESE)にて精子を回収した。非閉塞性のものは、精巣生検と同時にTESEにて精子の採取を試みた。

結果は、閉塞性で100%, 非閉塞性で60%の精子が回収され、ICSIにてその全例に受精がみられた。1例であるが閉塞性症例で妊娠が確認された。

TESEにて閉塞性、非閉塞性どちらの無精子症においても、高率に精子が得られICSIが行えた。手技的には外来的に可能な針生検によるTESEが患者の負担が少なく繰り返し行えることより、最良と思われた。

2. 男性不妊症精巣の組織学的検討

○高木誠次, 伊藤直樹, 三熊直人
 南部明民, 立木 仁, 新田俊一
 赤樫圭吾, 塚本泰司 (札幌医大泌尿器)

男性不妊症の多くを占める突発性精子発生能不全症の原因は単一ではなくさまざまな異常が各症例ごとに内在するものと考えられる。我々は不妊症精巣組織所見より、各成熟段階における精細胞数より精細胞比を求め分化増殖動態を検討し、一定の頻度で起こっていると考えられるアポトーシスの発現とDNA合成能の指標としてのPCNAの発現を免疫組織学的に検討した。さらに血管壁の変化との関連について検討した。

当科にて精巣生検を施行した32例を対象とし、閉塞性無精子症5例をControlとした。32例中6例でControl群と比較しPCNAの発現の低下とアポトーシスの発現の亢進を認めた。これらの症例は精祖細胞数の低下を認め幹細胞の増殖に問題があると考えられた。7例ではアポトーシスの発現の亢進のみを認めた。これらの症例は第二次精母細胞、精子細胞数の低下が著明で7例中5例ではFSHの高値を認め、Ser-

oli細胞機能障害の関与が推測された。血管壁の変化は32例中5例に認め4例は高度な精子発生能不全を呈していた。

3. ヒト運動精子回収法の細胞遺伝学的検討

○立野裕幸, 上口勇次郎 (旭川医大生物)

ヒト精液中の運動精子を回収するためにさまざまな方法が開発されている。今回、swim-up(S)法およびPercoll(P)とNycldenz(N)を利用した密度勾配遠心法によって回収されたヒト精子の染色体分析を行い、これらの精子回収法としての有用性を細胞遺伝学的に比較検討した。また、回収精子をアクリジンオレンジ染色し、精子核の成熟度と染色体異常との関連性についても検討を加えた。

S法で回収された精子の構造的染色体異常率はかなり高く、しかも大きな個人差が見られた(30.7±15.2%)。一方、P法とN法における異常率はS法に比べて一貫して低く、個人差も小さかった(11.9±1.7%)。

この結果から、P法およびN法によって構造的染色体異常を持つ精子が分離された可能性が考えられる。なお、染色体異常率と精子核の成熟度には有意な相関はみられなかった。

4. 持続性PGF₂α類似体フェンプロスタレン分割投与によるイヌの分娩誘起時の副作用に及ぼす影響

○丸山夕賀子, 森好政晴, 中田 健
 中尾敏彦

(酪農学園大獣医学獣医臨床繁殖)

長時間持続型PGF₂α類似体フェンプロスタレン(FP)によるイヌの分娩誘起における副作用を軽減させる目的で、妊娠56～58日のビーグル種を用いて臨床試験を行った。

FPを20μg/kg(6頭, I群), 5μg/kg(5頭, II群), 副交感神経遮断薬である臭化プリフィニウム7.5mg/頭を前処置後、FPを5μg/kg(6頭, III群), 5μg/kgを1時間間隔で2回に分割(2.5μg/kg2回投与)皮下注射した(5頭, IV群)。FP投与後、痙攣症状、水様性下痢の排泄、嘔吐、流涎などの副作用の発現状況および分娩誘起効果について経過の観察を行った。副作用は、I群、II群、III群、IV群の順に軽減が観察され、とくにIV群で著しい副作用の軽減または消失が観察された。分娩誘起効果は、4群間において有意な差は認められなかった。新生子の生後1週間の生存率についても各群ともに悪影響は認められなかった。本法は安全で確実なイヌの分娩誘起法であることが示唆された。

5. イヌにおけるプロリゲストン製剤の発情抑制効果と安全性

○杉崎桃子, 森好政晴, 中田 健
中尾敏彦

(酪農学園大獣医学獣医臨床繁殖)

雌イヌの開腹手術によらない避妊法に、合成プロジェステロンであるプロリゲストン製剤を投与する方法があるが、投与プログラムに従って投与したにもかかわらず発情が回帰する例があり、再検討する必要があると思われる。そこで今回その効果について、ビーグル種雌イヌ10例にプロリゲストン製剤20mg/体重kgを3~5か月間隔に4回投与し、その後の発情抑制効果と副作用の有無などを観察し、有効性と安全性を検討した。

無発情期に1回目投与を行った7例中4例は発情が回帰したため発情休止期例として再度試験に用いた。発情休止期1回目投与を行った7例は4回目投与まで発情徴候は観察されなかった。体重は増加傾向にあった。投与期間中は、元気・食欲の有無、被毛の状態に顕著な変化は認められなかった。

本法は、副作用がほとんどなく安全に使用できるが、今回の投与量と投与方法では発情が回帰する可能性があることを考慮する必要があると考えられた。

6. ミンク卵母細胞の体外受精

○亀山祐一, 石島芳郎

(東京農大生物産業学生物生産)

従来、報告のなかったミンク卵母細胞の体外受精を試みた。

実験は繁殖期(3月上旬~4月下旬)に実施し、卵巣はPMSG処理(50IU×5日)後24時間に摘出した。可視卵胞から回収した卵母細胞は、TCM199+10%FCSで成熟培養した。ハムスターテストはm-BWWを用い、2~12時間前培養(2~10×10⁷精子/ml)した精子で行った。体外受精はm-BWW、体外培養はTCM199+10%FCSを用いて行った。

卵核胞を有する卵母細胞は、36~40時間、時間培養すると成熟分裂を完了した(成熟率:約50%)。ハムスターテストでは、前培養2時間の時点から受精卵が観察され、前培養4時間で25.3%の受精率が得られた。44時間成熟培養した卵母細胞と8時間前培養した精子で体外受精を行ったところ、媒精12時間以降で精子侵入または雌雄前核を形成した卵母細胞が観察できた(受精率:2.3~4.8%)。同一条件で体外受精した卵母細胞は、培養により2細胞期まで发育した。

7. ラット初期胚の割球分離による一卵性双仔作製の試み

○田中精一, 橋詰良一, 下村 徹

(東京農大生物産業学生物工学第一)

伊藤雅夫

(日本大衛生学)

試験研究においてさまざまな有用性を持つ一卵性双仔作出技術は、各種実験に汎用されているラットでは確立されていない。そこでマイクロマニピュレーターを用いた割球分離による一卵性双仔の作出を検討した。

供試動物はSD系ラットを用い、培地はmRIECMを使用した。4および8細胞期胚の透明帯を切断し割球を2分離した2/4および4/8割球胚を体外で60および48時間培養した結果、それぞれ61.8%および56.5%が胚盤胞へ发育した。2細胞期胚も同様の処置をしたが胚盤胞への发育はみられず、4細胞期胚に止まった。これらの胚盤胞へ发育した胚を偽妊娠を誘起した受容雌11例に移植したところ5例に着床痕が認められたが産仔は得られなかった。

得られた胚盤胞の形態が無処置胚に比べ小型で細胞数が少ない可能性が疑われたので、現在細胞数の調査および細胞数増加の方法を検討中である。

8. OHSS重症化予防のための選択的凍結胚移植

○森若 治, 芦原康氏, 高階俊光

東口篤司, 神谷博文

(斗南病院産婦)

当科では、1995年8月からホルモン補充周期法による凍結胚移植を開始した。今回、OHSS重症化予防のために全受精卵を凍結保存して、後日ホルモン補充周期下に凍結胚移植を行う選択的凍結胚移植の成績について検討したので報告する。

1995年8月から1997年1月まで、OHSS重症化予防のために51例(ICSI19例)に全受精卵の凍結保存を行った。このうち、29例(ICSI10例)34周期(ICSI12周期)に凍結胚移植を行い、15周期(ICSI5周期)に妊娠例を得た。妊娠率は、症例あたり51.7%(ICSI50.0%)、周期あたり44.1%(ICSI41.7%)であった。

9. 当院におけるICSIの成績

○幡 洋, 渡辺広史, 岡部泰樹

南 邦弘, 阿部清孝, 洞口 堯

(札幌東豊病院)

当院では、通常の不妊治療で妊娠しない症例に対して、1987年からIVF-ETを、また重症乏精子症や通常

のIVFにて受精卵を得られない症例に対し、1994年より、顕微授精(ICSI)を開始した。1994年には11症例11周期に採卵し6例ETを行った。1995年は39症例71周期採卵し5例の妊娠を得た。1996年には46症例75周期で採卵し6例の妊娠例を得た。症例あたりの妊娠率は19.6%であった。

また、多数個の分割卵を得られた症例に対しての、余剰受精卵の凍結および融解胚移植、1995年から、泌尿器科の協力を得て行ったMESAの成績についても報告する。

10. 卵胞液中プラズマカリクレイン活性が異常高値を示した反復IVF-ET不成功の1例

○工藤隆之, 和田真一郎, 工藤正尊
吉田 博, 牧野田 知, 藤本征一郎
(北海道大産婦)
大西淳之, 高橋孝行
(同大学院理学研究科生物)

1995年9月～1996年4月の間に当科で施行したIVFで得られた卵胞液(38例, 45周期, 270検体)について、合成気質Z-Phe-Arg-MCAを用いてプラズマカリクレイン(以下pk)活性を測定した。11.56±4.93 nmol AMC/ml/min (m±SD)であったのに対し、10卵胞の平均活性値が21.97 nmol AMC/ml/min (m±2.1 SD)と高値を示す1例を認め、この症例においては精液所見は正常であったにもかかわらず、受精率は14.3%と低値であった。その後、2度のIVF-ETにおいても同様の結果であった。

このことより、卵胞液中に存在する高活性のpkが透明帯機能に対し何らかの影響を及ぼしている可能性が示唆された。この症例につき、若干の分権的考察を加え報告する。

11. 不妊症例における子宮筋腫核出術の意義

○千田 学, 水元久修, 北島義盛
金谷美加, 藤井美穂, 遠藤俊明
渡辺麗子, 工藤隆一 (札幌医大産婦)

不妊治療としての子宮筋腫核出術の意義については議論のあるところであるが、当科では比較的積極的に核出術を施行している。今回我々は、平成2年4月から平成7年3月までの5年間に開腹手術を要した子宮筋腫核出術の症例について追跡調査を施行したので報告する。

この間当科で開腹子宮筋腫核出術を施行したのは89例であり、術後挙児を希望し、不妊治療を受けたものは28例であった。このうち治療を継続したものは

14例で、8例が妊娠に成功した。妊娠までの期間是最短3か月、最長2年6か月で平均1年2か月であった。妊娠経過は8例全例が正産で、母児ともに特記すべきことはなかった。

不妊患者の子宮筋腫の取り扱いに関しては、子宮筋腫の発生部位、個数、症状、流産歴、年齢などを慎重に考慮した上で筋腫核出術を施行すべきであるが、当科では術後の治療を継続した症例に限っては高い妊娠率が得られ、その意義を再確認することができた。

12. 当科不妊外来における統計

○由良智春, 碁石勝利, 吉田俊明
高岡康男, 玉手健一, 千石一雄
石川陸男 (旭川医大産婦)

1993年1月～1994年12月の2年間に当科不妊外来を初診した原発性不妊231組、続発性不妊131組、計362組について検討した。

不妊因子としては、原発性で卵巣・内分泌因子11.6%、卵管因子22.1%、男性因子12.4%、続発性では卵巣・内分泌因子16.6%、卵管因子21.4%、男性因子12.4%であった。

妊娠症例は原発性61例(妊娠率26.4%)続発性39例(妊娠率29.8%)全体として100例(妊娠率27.6%)だった。

その他、妊娠成立周期の治療法についても検討したので報告する。

13. クロミッドによる妊娠例からみたクロミッド投与時の留意点

○唐 政平, 廖 英, 千田 学
田中啓一, 後藤紗恵子, 北島義盛
木谷 保, 金谷美加, 藤井美穂
遠藤俊明, 工藤隆一 (札幌医大産婦)

クロミッドは日常最も頻用されている排卵誘発剤であるが、排卵率の割には妊娠率が低いなどの問題も指摘されている。またhMG-hCG療法は中枢性第I度無月経に対してより排卵率が高いことが知られているが、OHSSの発生や多胎妊娠の問題もあり安易に使用すべきでないとも考えられている。

今回我々は女性側の不妊因子が排卵障害のみでクロミッドを投与した最近の60症例の不妊症症例において、20例の妊娠とhMG-hCG移行後妊娠した5例、妊娠不成功例についてクロミッドの問題点、hMG-hCG療法への移行すべき時期などについて検討したので報告する。

14. 潜在性高プロラクチン血症に関する検討

○和田真一郎, 工藤隆之, 工藤正尊
牧野田 知, 藤本征一郎

(北海道大産婦)

TRH, MCP負荷テストによるプロラクチン(PRL)の反応, およびその臨床的意義について検討する。

当科不妊内分泌外来を受診した生殖年齢にある婦人を対象にTRHまたはMCPの負荷を行い, 負荷前, 15分, 30分, 60分後に血清PRL値を測定した。また, 負荷後の血清PRL値と黄体中期(黄体期5~10日目)DのE₂, P₄, PRL値および卵胞期初期(月経周期3~5日目)のfree-T₄, TSH値との関係について解析した。

TRH負荷テスト(n=28)の結果は, 10.0±1.0, 106.0±11.4, 92.8±10.0, 55.7±6.7 ng/ml(負荷前, 15分, 30分, 60分)で, MCP負荷テスト(n=19)の結果は10.0±0.8, 232.0±29.9, 246.0±37.3, 175.5±23.9 ng/mlであった。負荷後の高PRL値と黄体機能不全と関連する傾向を認めた。負荷後のPRL値とTSH値には正の相関を認めた。

TRH, MCP負荷テストによるPRL値の上昇と甲状腺ホルモン調節機構との関連が示唆された。

特別講演

「男性不妊症とDNAレベルまで含めた染色体異常」

吉田 淳(東邦大学医学部第1泌尿器)

1997年日本不妊学会北陸支部学術総会

日時:平成9年6月8日(日)午後1時30分

会場:(金沢市)金沢大学医学部十全講堂

1 当科における三胎四胎妊娠例の検討

○小嶋康夫, 森 秀美, 中島正雄
石川博士, 鈴木由佳, 大口昭英
佐竹紳一郎, 舟本 寛, 中野 隆
館野政也 (富山県立中央病院産婦)

三胎四胎妊娠が, 母児に及ぼす影響を検討する。

平成3年6月より平成9年5月までの間に当科で施行したARTにより妊娠し, 分娩まで管理し得た三胎妊娠が14例, 四胎妊娠2例, および他院から紹介入院となった三胎妊娠1例を対象とした。出生児の予後, 合併症の有無, NICU収容日数などを小児科の協力のもと調査し, さらに母体合併症について検討した。

四胎, 三胎例の平均在胎週数は, 32.0±1.4週,

33.3±5.2週, 平均出生体重は, 1423±330g, 1882±566gであり, 新生児の予後がとくに懸念される32週未満の早産率は, 50.0%, 7.1%, 1500g未満の出生時の割合は, 62.5%, 21.4%であった。四胎妊娠の8児はすべて生存し, 発育発達にも異常は認められなかったが, 三胎妊娠例のうち, 1例は19週で流産し, 23週で分娩した3児と35週で分娩した1児が児死亡となった。児の合併症に関しては, 三胎妊娠例において軽症未熟児網膜症5児, RDS4児, 敗血症2児, 脳室内出血1児, CP, MR1例を認めた。またNICU入院日数は1500g未満で平均82.2±85日(中央値55.0日), 1500g以上2000g未満で平均21.4±9日(中央値21.5), 2000g以上2500g未満で平均13.7±5日(中央値14.0日)であった。母体合併症としては, 三胎妊娠例に重症妊娠中毒症2例, 胎盤早期剥離, 弛緩出血による出血性ショック1例を認めた。

多胎妊娠は母児ともに多くの危険因子をはらんでいることを再認識すべきである。当科では受精卵の移植数を制限した1996年1月以降, 三胎以上の妊娠は1例も認めていないが, 依然として継続妊娠例の約30%が双胎妊娠である。今後は妊娠率を維持しながら多胎妊娠を防止し, 健児を得る方法を考えていくことが重要と思われた。

2. コンピュータ支援胚移植(CAD・ET)システムについて

○高塚亮三, 山崎裕行, 道倉康仁
加藤 修

(永遠幸マタニティクリニック)

体外授精・胚移植の究極の目標は多胎妊娠率を最小限にして, 妊娠率を最大限にすることである。本研究では, 四胎以上の妊娠を防止し, 三胎妊娠も極力少なくして, 妊娠率を最大限にするための最適移植胚数についてパーソナルコンピューターによるシミュレーションを行い検討したので報告する。

データベースとして1996年に当院において実施した従来法での体外受精・胚移植654周期, 顕微授精・胚移植582周期, 凍結・融解胚移植238周期の合計1474周期の成績を活用した。コンピューター支援胚移植(CAD-ET)は, マイクロソフト社のエクセルVer.5.0を用い, 移植胚数とその中に含まれる良好胚数で分類した各群の妊娠率(PR%), 三胎以上の多胎率(MR%)を, 四胎を防止し三胎も少なくするように移植胚数を制限したと仮定して算出した。統計分析はχ²検定で行った。

当院における1996年の実績では三胎以上の妊娠は

妻の年齢が36歳以下(若年群)でのみ発生した。この若年群で、移植胚数3個の364周期中7周期が三胎妊娠であり、移植胚数4個の239周期中10周期が三胎妊娠、2周期が四胎妊娠であって、移植胚数2個以下の453周期では三胎以上の多胎妊娠は発生しなかった。この場合の全体としてのPR%は23.3%、MR%は7.7%であった。CAD-ETで良好胚を残して移植胚数をすべて3個以下にすると仮定した場合のPR%は21.5%、MR%は4.5%で1996年の実績値と有意な差は認められなかった。しかし三胎以上の多胎妊娠が発生しないように移植胚数を制限したと仮定した場合のPR%は17.8%となり、1996年の実績値より有意に低下した。

CAD-ETシステムは移植胚数を3個以下に制限することにより全体の妊娠率を有意に低下させることなく四胎妊娠は防止できることを示した。しかし移植胚数の制限で三胎妊娠を防止させるためには妊娠率を犠牲にしなければならず、妊娠率を高めるためには遺伝学的、免疫学的、内分泌学的な新たなアプローチが不可欠であると思われる。

3. 高プロラクチン血症婦人における妊娠、分娩がその後の妊孕性に及ぼす影響

○小池浩司, 村上弘一, 瀬川智也
井上正樹 (金沢大産婦)

プロラクチノーマ婦人は不妊を主訴とすることが多く、また薬物療法でプロラクチノーマが縮小することなどから、腫瘍の大きさや患者の主訴により手術療法と薬物療法が使い分けられている。しかしどちらを優先するのかといった治療方針に関しては、施設、ならびに脳外科医や産婦人科医によっても若干異なり、一定の見解が得られていないのが現状である。そこで今回我々は高プロラクチン血症婦人において、妊娠、分娩がその後の妊孕性に及ぼす影響について検討を加えた。

プロラクチノーマの手術例27名(Group 1)、プロラクチノーマのプロモクリプチン療法例33名(Group 2)、機能性高プロラクチン血症のプロモクリプチン療法例40例(Group 3)の計100名の挙児希望のある高プロラクチン血症婦人を対象とした。治療により分娩に至った65症例について、その後2年間らわたり経過観察し、血中プロラクチン値の推移や月経周期の回復の状況について、また挙児希望39例においては自然妊娠の成立の有無などについて検討を加えた。

1) 分娩後月経周期が回復した症例はGroup 1で72.2% (13/18)、Group 2で32.0% (8/25)、Group 3で

13.6% (3/22)であった。2) 挙児希望例において検討した自然妊娠率はGroup 1で75.0% (9/12)、Group 2で25.0% (4/16)、Group 3で18.2% (2/11)であった。3) 薬物療法により妊娠分娩に至った症例においてその後自然妊娠した群では薬物療法前の値に比べ分娩後(授乳中止時)の血中プロラクチン値は有意に低値を示した。

薬物療法により妊娠・分娩に至った症例において、分娩後に血中PRL値が正常化し、自然排卵が回復する症例がおよそ25%認められたことから、妊娠・分娩は高プロラクチン血症婦人の妊孕性を回復させる可能性が示唆された。

4. 冷水散布がアイガモ卵の孵化率に及ぼす影響

○榊田星史, 泉 徳和

(石川県農短大生物生産)

最近、除草剤や殺虫剤の代替えや糞の散布効果を狙って水田にアイガモを導入する農家が増えはじめた。アイガモ雛を水田に放す時期は、稲の生育に合わせた一時的な需要ピークがある。しかし、孵卵方法が鶏と同じであるためか、低孵化率が問題になっている。自然界の水禽は水に濡れたまま巣に戻るため、孵卵中の卵は急激な温度や湿度の変化にあう。そこで、本研究では孵卵中のアイガモ卵に水を掛け、孵化率に及ぼす影響を検討した。

1994年から3年間の産卵季節(春)に回収したアイガモ卵1469個を供試した。孵化実験の区分は無処理の対照区と2日に1回孵卵中の卵に冷水を掛けた実験区2区を設けた。実験区は噴霧区と散布区に2分した。

孵化率は対照区の57.5%に対して、実験区の噴霧区、散布区はそれぞれ73.6%、73.6%となり、実験区2区の孵化率は有意に高い値を示した($P < 0.01$)。胚の死滅率では、孵卵の初期、中期、後期のいずれの時期においても対照区が実験区2区よりも高い値であった。そして初期の胚死滅率では、対照区と散布区(10.8%と6.4%)間に、中期では対照区に対して噴霧区、散布区(9.9%対4.8, 3.1%)間に、後期でも対照区に対して噴霧区、散布区(21.7%対14.7, 17.1%)間にそれぞれ差が認められた($P < 0.05$)。孵卵26日目の卵重減少率は、孵化卵では噴霧区と散布区(13.2%と14.0%)間に差が認められたが($P < 0.01$)、前2者と対照区(13.5%)間に差はなかった。胚死滅卵では、死滅時期に関係なく、対照区(8.7~10.8%)と散布区(13.0~13.8%)間に差が認められた($P < 0.01$)。孵化期間は対照区、噴霧区、散布区の順で長くなった。

(NS). アヒルで孵化実験したSarpongら(1985)は、微温湯の噴霧で高い孵化率を得ていたが、本実験では冷水の噴霧と散布の間に有意な差異がなく高い孵化率が得られた。

5. 精液検査における新しい精子特性分析機(SQAIIB)の有用性

○太田昌一郎, 岩崎雅志, 布施秀樹
(富山医薬大泌尿器)

今回我々はSQAの改良型のSQAIIBを用いてその有用性を検討したので報告する。

4000検体の精液の精液検査のパラメーターと従来型のSQAで測定したSMI値を検討した結果、従来の精子濃度、運動率とSMI値の相関に加えて、正常形態率とSMI値の間にも相関が認められた。そこで、従来のSMI値に加えて精子濃度、運動率と正常形態率から形態的に正常で運動性が良好な精子濃度を表す値としてTFSC値の表示が可能となった。今回はTFSC値と従来の精液検査、精液自動分析装置、Hypoosmotic swelling testおよびpenetrak testの結果の相関関係や精子濃度および運動率の低い精液でのTFSC値の有用性について検討した。

TFSC値と精液検査の精子濃度、運動率、運動精子濃度および正常形態率の間ではいずれも相関を認めた。penetrak testの結果との間の相関も認められた。しかし、精液自動分析装置のパラメーターおよびHypoosmotic swelling testの結果とは相関が認められなかった。つぎにTFSC値と精液検査の間で矛盾が生じた例について検討した。精液検査で低値が認められたにもかかわらず、TFSC値が標準と判定された例を2例認めた。しかし、これらの例はいずれも運動率あるいは正常形態率がわずかに低値を示しただけの例であった。精子濃度あるいは運動率が低い例に限ってそれぞれの値とTFSC値の相関を検討してみると精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の例あるいは運動率50%未満の例に限っても相関を認めた。

このよにTFSC値の有用性が認められたが、今後は症例を増やし、実際の妊娠率との相関を検討していきたい。

6. 精子形成を認めたクラインフェルター症候群の1例

○野田 透, 高 栄哲, 小松和人
新倉 晋, 並木幹夫 (金沢大泌尿器)

47,XXYの核型を持つclassic typeのクラインフェルター症候群は精巣の著明な萎縮を持つ特徴のひとつ

とし、典型的には無精子症であるとされている。今回我々は精子形成の認められたクラインフェルター症候群の1例を経験したので報告する。

症例は25歳男性、女性化乳房を主訴に受診、染色体検査で47,XXYでありクラインフェルター症候群と診断した。外見上精巣は萎縮し、陰毛はみとめず、射精は不能であった。内分泌検査にて血中テストステロン123 ng/dl, LH 6.5 mIU/ml, FSH 30.9 mIU/ml, hCG負荷試験にても低反応であった。精巣は病理検査にて間質は不規則に増大し、精細管には基底膜の硝子化、支持細胞の線維化を認めた。一部に生殖細胞、精子形成の存在がみられた。

現在テストステロン補充療法を行い、血中LH 4.5 mIU/ml, FSH 31.0 mIU/ml, テストステロン1180 ng/dlであり、陰毛の出現、体格の男性化、精液の出現を認めた。精液中に精子は認められなかったが現在も外来的に加療を継続している。

7. AZF (Azoospermia factor) 遺伝子の同定に関するストラテジー

○高 栄哲, 野田 透, 並木幹夫
(金沢大泌尿器)
黒木陽子 中堀 豊 (東京大人類遺伝)

ヒト精子形成責任遺伝子は、Y染色体長腕上にあるといわれており、1992年Y染色体YACライブラリーが構築されてから、現在AZF候補遺伝子として、RBMと称されている、YRRM 1, 2やDAZなどの遺伝子が同定されている。これらはいずれも、RNA binding motifを持ち、精巣で特異的に発現している。

我々は、AZFc領域にある共通欠失をもつ無精子症患者およびその父の染色体より、locus DYS 7cに微小欠失の差を認めた。この部を含む領域のYACライブラリーより、コスミドコンテイングを構築し、約6個のコスミドで網羅できた。これらのコスミドをプローブに両端から挟み込むようにサザンプロテイングを行うと、テロメア側のプローブで短腕側との非特異反応があり、容易に区別できなかった。そこで、並行してエクソトラッピングを試みることにした。この方法はスプライシングベクターを用い、未知エクソンを転写させ、そのcDNAを合成させた後、サブクロニングをし、さらにシークエンスを決め、さらにcDNAライブラリーでスクリーニングを行い、全長の配列を決めるという方法である。現在、約20個の未知候補エクソンを得ている。サイズは40~230 bp程度で、genomenet上でホモロジー検索中である。一部Y染色体上の既知配列を認めるが、未知配列に対して、

精巣ライブラリーでスクリーニング中である。

特別講演

「男性不妊症の外科的治療」

○布施秀樹(富山医業大泌尿器)

男性不妊症の大部分を占める原因不明のいわゆる特発性造精機能障害の治療成績は決して芳しいものとはいえない。一方、精索静脈瘤による造精機能障害に対する手術療法は比較的高い改善率が期待でき、また精路通過障害に対しては最近の顕微鏡下手術の応用による精路再建術や、生殖補助技術の利用により高い妊娠率が報告されている。これら外科的治療について当科の成績を交えて概説する。

精索静脈瘤に対する高位結紮術は開放的方法と腹腔鏡下のものとに分けられる。当科では最近はおもに後者で行っているが、入院期間が短く、重篤な合併症も皆無であったが手術に長時間を要するなどの短所もあった。動脈温存の有無による術後成績は、両者に差はなく、温存の意義を認めなかったこともあり開放手術と腹腔鏡下手術の優劣については今後さらに検討を要する。低位結紮術は静脈瘤の残存、再発が少ないとされており、今後試みる価値のある方法といえる。我々は超音波カラードブラ法によりsubclinicalな精索静脈瘤の診断を行っているが、このsubclinical精索静脈瘤に対する治療の可否については議論のあるところである。左側clinical精索静脈瘤の左高位結紮術後の成績は、右側subclinical精索静脈瘤を有するもののほうが成績不良であったことより、右subclinical精索静脈瘤が造精機能に影響していることが示唆された。

精路通過障害の治療法として、まず精管精管吻合術、精管精巣上体吻合術および射精管口開口術などの精路再建術があげられる。精管精管吻合術は我々は顕微鏡下に一層縫合法で施行しており、精子出現率100%、妊娠率58%の成績であった。精管精巣上体吻合術は、肉眼的に行うfistula法では精子が出現したものはなく、顕微鏡下の端側吻合術では半数に精子の出現をみた。射精管口閉塞症例4例に対して内視鏡的に開口術を施行し、高度乏精子症の1例に著明な精子濃度の増加、および妊娠を認めた。精路再建術が成功しなかった例や欠損部が長く本法が施行できないものに対しては、1)人工精液瘤造設術およびその回収精子による人工授精、2)精巣上体ないし精巣精子を採取し体外受精に供する方法などが実施される。1)は我々の経験では半数以上の例で精子が回収できたが、時間の経過とともに精子回収ができ

なくなり妊娠例を認めなかった。他施設の成績でも本法により挙児を得た例はきわめて少なく、最近では我々は2)を主に実施している。精巣上体精子の採取法は顕微鏡下に行う方法(microsurgical epididymal sperm aspiration)ないし経皮的方法(percutaneous epididymal aspiration, PESA)で行っているが、その成績は顕微授精法のなかのICSIを用いることにより妊娠率が40%であり両方法で相違を認めなかった。PESAは非侵襲的で原則として何回も施行できる利点がある。精巣上体より採精できない場合、精巣より採精する方法(testicular sperm extraction)を用いてICSI-ETを行い前2者による方法と妊娠率に大きな差はなかった。

近年、顕微授精などの生殖技術の進歩にともない、無精子症や高度乏精子症患者にも挙児を得る可能性が膨らんだ。しかし、自然妊娠は誰もが望むところであり精索静脈瘤や精路通過障害に対する手術成績は比較的良好であることより、このような症例に対してはまず本治療が第一選択といえる。

シンポジウム

「多胎妊娠を巡って」

1) 多胎妊娠の予防(排卵誘発剤)

○原田丈典, 酒池 淳, 秋元宏輝

鈴木綾子, 加藤三典, 土田 達

(福井県立病院産婦)

可西直之, 山崎 洋, 松田春悦

(市立敦賀病院産婦)

今回、福井県立病院および市立敦賀病院産婦人科にて過去2年間に不妊治療を行い妊娠した症例の中で、その原因が子宮・卵管異常、高プロラクチン血症、男性不妊であったものを除き、排卵誘発剤投与を必要とした視床下部、下垂体、卵巣性排卵障害のみられた24例について検討した。

症例は0妊0産:17例, 1妊0産:2例, 1妊1産:5例であり、障害部位およびその程度は、視床下部-下垂体性が11例(第I度無月経:2例, 第II度無月経:3例, 無排卵月経:6例), PCOSが5例, 稀発排卵, 黄体機能不全が8例であった。治療内容については、視床下部-下垂体性の第I度無月経, 無排卵月経8例と稀発排卵, 黄体機能不全8例に対してはクロミフェン療法を、視床下部-下垂体性の第II度無月経についてはゴナドトロピン療法を施行した。また、PCOSに対しては3例がクロミフェン単独療法で、1例がクロミフェン-hCG療法で、1例がFSH-hMG-hCG療法にて妊娠の成立をみた。13例が分娩、5例が現在妊娠中であるが、5例が流産、1例が子宮

外妊娠であった。視床下部-下垂体性不妊でクロミフェン3T/日投与した1例とPCOSでゴナドトロピン療法を施行した1例が双胎妊娠であったが、その他の症例は単胎妊娠であり、児には奇形の発症はみられなかった。なお、OHSSの発症はクロミフェン療法の2例とゴナドトロピン療法3例に認め、ゴナドトロピン療法の1例は重症であった。

当院で排卵誘発する際に注意していることは、多胎妊娠の少ないクロミフェンにて排卵をもってゆくように努力し、場合によっては2段投与方法も施行している。クロミフェン無効例に対してはFSH, hMGを投与するが、その際発育卵胞数と卵胞径を頻繁にモニターするようにしている。卵胞径17~18mmに達した時点でhCGに切り替えているが、14~16mmの卵胞が4個以上存在する場合にはhCG投与を中止することもある。

今後、より高い妊娠率を維持し、かつ多胎妊娠、OHSSを防止できる優れた排卵誘発法の確立が望まれる。

2) 多胎妊娠の予防 (体外受精)

○道倉康仁(永遠幸マタニティクリニック)

補助生殖技術(ART)の進歩と普及は、不妊夫婦の挙児希望を叶える機会を確実に増やしてきたが、一方で、周産期管理が困難な多胎(とくに三胎以上)を急増させてきた。この原因は、妊娠率の向上を期待して、排卵誘発剤と複数の胚移植を実施するARTの方法にあることは明白である。

『移植胚数の増加とともに増加する妊娠率は、移植胚数4個以上ではほぼプラトーに達するが、多胎率は、プラトーに達することなく増加を続ける』という、日本産科婦人科学会の生殖医学登録報告に基づいて、日産婦誌48巻2号(平成8年2月)に、『多胎妊娠に関する見解』が掲載された。この見解に従い、当院でも、平成8年1月より、胚移植数を原則として3個以内に制限してきたが、この措置により、当院での体外受精における、胚移植数と妊娠率(化学流産と子宮外妊娠は除く)および多胎率は以下のように推移した。

	移植 周期 数	総 移植 胚数	平均 移植 胚数	妊 娠 率	多胎率 (三胎 以上)	着 床 率
平成7年	1468	4014	2.73	16.2	23.9 (7.6)	7.9
平成8年	1474	3473	2.36	19.3	20.7 (6.7)	10.5

胚移植数の制限により、平均移植胚数は2.73から2.36へと減少し、それにともない、多胎率は23.9から20.7へと減少していた。しかしながら、妊娠率と着床率は決して減少しておらず、むしろ、増加していることがわかった。このことより、移植胚数の制限は有益であり、特殊な症例を除けば、妊娠率の向上を目指すあまりの、4個以上の胚移植は控えるのが、妥当であると思われる。

当院では、従来より、症例の年齢、胚のgrade、治療回数を指標として胚移植数を決定してきたが、三胎を発生させないためには、さらに3個以内での移植数をも検討することが必要と思われる。

3) 多胎妊娠の問題点 (産科)

○朝本明弘, 矢吹朗彦, 千場 勉

西本秀明, 西川有紀子

(石川県立中央病院産婦)

近年の不妊治療、とくにARTの進歩普及とともに、多胎妊娠の増加が指摘され、とくに三胎以上の多胎による早産、未熟児の増加が危惧されている。多胎によって起こる妊娠、分娩時の問題点は、母体側の妊娠中毒症、貧血、羊水過多、胎児側の早産(未熟児)、胎内一児死亡、discordancy, TTTS(双胎間輸血症候群)などハイリスクの要因が数多く指摘されている。そして、これらによって起こる仮死兆候による帝切、さらに不妊治療の末の貴重児という社会的要因も加わって帝切率を押し上げている。

また、多胎の切迫早産のための長期入院は産科病棟の病床を占有し、極小未熟児、超未熟児に対する長期の入院管理はNICUの病床を占有してNICUの病床不足に拍車をかける結果となっている。

今回、1980年から1996年の17年間の当院での多胎分娩の分析を行い、とくに胎児側のハイリスク要因について検討を加えた。

1980年から1996年までの分娩数10,507に対し、22週以降の多胎分娩は143例(1.4%)であった。これを当院で体外受精を開始した1991年以降(後期)とそれ以前(前期)に分けると、多胎分娩率は前期の0.8%に対し、後期は2.4%と明らかに増加していた。そしてこの後期の増加は33週未満の早産の増加が大きな要因であった。

また、不妊治療による多胎率、早産率(≤33W)、救急母体搬送率、帝切率を前期vs後期で比較するとそれぞれ、0 vs 21%, 15.4% vs 36.3%, 3.8% vs 33%, 32.7% vs 55%といずれの項目も後期に高値を示した。

4) 多胎妊娠の諸問題 (NICU)

○太田邦雄 (金沢大小児科)

近年の不妊症の治療の進歩は一方で多胎出産率の上昇をもたらし、さまざまな問題を提起した。

全国33のNICU施設における1991年からの1993年までの多胎児の入院管理状況(厚生省心身障害研究班による)では、この3年間にNICUにおけるハイリスク新生児としての多胎児の割合は経時的に増加し、それらは不妊治療による多胎児妊娠に基づく傾向があり、児の経過はより重症化しNICUベッドを長時間占有する傾向が強くなっていった。また未熟多胎児は単胎児に比べ予後不良であったが、その傾向は石川県立中央病院NICUにおける超低出生体重児双胎の場合も同様であった。

最近当科で経験した1絨毛膜1羊膜性双胎妊娠で妊娠37週にて脳ヘルニア児の死亡が確認されるとともに、生存児の胎児仮死が疑われ緊急帝王切開となった例では、濃厚赤血球輸血後順調に活動性は回復したが、後に脳室拡大および大脳皮質の虚血性変化および脳萎縮が存在した。出生2～3日前に臍帯の絡まりが強くなり、胎児への血流が阻害され、その後ヘルニアの児が死亡し、その血圧が低下することにより生存児の循環障害を助長したものと考えられた。本例のように双胎では双胎間輸血症候群が予後にかかわる重要な因子であった。

また多胎妊娠、出産を取り巻く現状と多胎児を育てる母親の意識を知るために行われた厚生省心身障害研究班による全国規模のアンケート調査結果から、不安を感じながら過労状態で育児を行っている多胎児の母親の姿が認められた。多胎妊娠は、育児においてもリスクが高く、1)多胎児育児に関する保健指導指針の確立とともに不安を軽減するための保健指導、育児指導の実施、カウンセリングの強化、2)多胎児を育てている家庭に対しボランティアを含む公的な育児支援、が必要と思われた。また、3)経済的支援も検討課題と思われる。今後育児を支援する環境を整え、親が心身ともに健康な状態で育児ができるような対策が必要と思われた。

5) 減数手術をめぐる法的問題点

○青野 透 (金沢大法学部)

日母の見解を代表例として、医学の関連学会では「減数手術は違法である」との共通認識がある。減数手術が日本で行われないのは、それぞれの医師の倫理観に基づくというよりも、こうした減数手術につ

いての法的位置づけに由来するところが大きいと考えられる。本報告はこれに対して再検討を試みるつもりである。

母体保護法の人工妊娠中絶の定義を文字どおり解釈すると、現在の塩化カリウム注入などによる減数手術の方法は、それに該当しない。しかし、「母性の生命健康を保護する」という法の目的に照らして考えれば、制定当時には考えられなかった手法ではあるが、減数手術の手法も許されるという考え方も可能である。法が求める中絶の理由に関しても、同じ多胎妊娠で全数中絶が許される場合の理由が合法的とされている以上、減数手術の場合にも合法的なものとなりうる。また、減数手術がかりに母体保護法の許すものではないとしても、刑法上の違法性阻却事由とされる「正当な業務による行為」に該当する、すなわち墮胎罪で罰を受ける恐れはないという判断が成り立つ場合があると考えられる。結局、日本国憲法の諸条文、ことに幸福追及権に基づく女性の自己決定権を中心にして、母体保護法および刑法の解釈を行う限り、減数手術のあらゆる事例が刑事罰の対象となるという見方は妥当ではないといわざるをえない。

明確な合法化のためには、母体保護法や刑法の改正を待たなければならない。早急な法改正が望めない現段階では、不妊学会を含め医学関連学会において、多胎回避に向けた実効性のある対策の実施と並行して、減数手術の法的評価についての再検討を行う必要がある。多胎妊娠の完全な回避が不可能である以上、減数手術の安全性や医学的適応の有無などについて調査し、それが実施される際の正当性の根拠となるガイドライン作りも学会に求められると思われる。

平成9年度日本不妊学会中部支部学術講演会

日時：平成9年6月7日(土)午後2時～

会場：(浜松市)プレスタワー 17階ホール

1. 精子運動能および精子機能検査からみた体外受精・胚移植成績

○望月 修, 佐藤和文, 西垣 新

西村 満, 岡田 久, 鳥居裕一

(聖隷浜松病院産婦)

精子運動能および精子機能検査により、体外受精・胚移植の予後因子となりうるものがあるか否かを妊娠の有無により比較検討した。

対象はCASAによる精子濃度、運動率、直進運動率、運動速度を測定し、ハムスターテスト(SPA)、精子サバイバルテスト(SST)を施行し、体外受精にて少なくとも3個以上採卵できた154症例である。妊娠群20例、非妊娠群134例のハムスター卵への平均侵入率、24時間後の平均運動保持精子率は、それぞれ $42 \pm 21\%$ vs $39 \pm 22\%$ (Mean \pm SD) $47 \pm 44\%$ vs $46 \pm 37\%$ と有意差はみられなかった。一方CASAによる平均直進率のみ妊娠群において有意に高く、このみが妊娠予後因子となりうる可能性が示唆された。

2. 血中抗クラミジア抗体と骨盤内癒着および卵管障害

○佐藤英子, 正橋鉄夫, 野口靖之
保條説彦, 岡本俊充, 浅井光興
鈴木正利, 野口昌良, 中西正美

(愛知医大産婦)

腹腔鏡または、開腹手術により腹腔内を検索し得た71例(不妊症32例, 子宮外妊娠27例, PID6例, その他6例)を対象として、血中抗クラミジア抗体を測定し、骨盤内および卵管周囲癒着との関係について検討した。さらに不妊症例32例において、腹腔鏡または子宮卵管造影法により評価した卵管障害と、抗クラミジア抗体との関係についても検討を行った。

骨盤内癒着が存在した症例の頻度は、抗体陽性例70.5%, 陰性例18.5%で両者間に有意な差を認めた。さらにAFS癒着スコアを抗体陽性例と陰性例と比較したところ、左右卵管ともに、抗体陽性例で有意に高値であった。そこで不妊例において卵管障害の頻度を比較した。抗体陽性例の86.3%, 陰性例の44.4%に卵管障害を認め、抗体陽性例で有意に頻度が高かった。

抗クラミジア抗体測定は、骨盤内癒着および卵管障害を予測する上で有効でありとくに不妊例陽性例の場合は、腹腔鏡により卵管の状態を評価することが望ましいと考えられた。

3. 帝王切開の既往があり、IVF-ETによる妊娠で子宮破裂をきたした1例

○伊藤美穂, 大野 元, 操 良
玉舎輝彦 (岐阜大産婦)

体外受精・胚移植(IVF-ET)は、徐々に適応が拡がり、最近では既に生存児がいる続発性不妊患者にも適応となることがある。今回我々は、帝王切開の既往がある患者にIVF-ETを施行したところ、妊娠が成立したのち、子宮破裂をきたした症例を経験をした

ので報告する。

症例は31歳女性で1経妊1経産、第1子は自然妊娠し、平成4年胎盤機能不全のため近医にて腹式帝王切開術を施行され、2830gの男子を分娩している。その後2年間不妊のため、約1年間近医での不妊治療後、平成7年4月当科を初診した。原因不明不妊の適応で平成8年11月、IVF-ETを施行したところ妊娠が成立した。妊娠8週でIUDとなり子宮内容清掃術を施行したが、術後9日目に多量の性器出血と下腹部痛が認められ、MRI上子宮破裂と診断し、開腹術を施行、子宮下部前壁の破裂が認められ、形成術を施行した。前回の帝王切開創の癒着部付近に着床したことが破裂をひきおこした原因と考えられた。

4. 当院IVF-ETにおける経子宮筋層的胚移植(TMET)施行症例について

○村山益生, 鈴木康之, 大橋涼太
浜崎 陸 (清水厚生病院産婦)
川口鉄也 (聖隷沼津病院産婦)

IVF-ETにおける胚移植法のひとつとして経子宮筋層的胚移植(TMET)がある。当院で経頸管的胚移植で妊娠しなかった症例を主にTMETを施行した。妊娠は10症例中2例(20%)であったが、有用であったと考えられる症例について報告する。

症例1は34歳、1G0P、卵管性不妊。7回の良好胚の移植(他施設を含む)にても妊娠せず、頸管が狭小のためET-tubeの挿入が困難であった症例。妊娠成立し帝王切開にて女兒を娩出した。

症例2は39歳、2G1P、卵管性不妊。9回の良好胚の移植(他施設を含む)にても妊娠に至らなかった症例。妊娠成立し妊娠経過順調である。

症例3は31歳、0G0P、卵管性不妊。頸管が狭小でET-tubeの挿入が困難であった症例。chemical abortionとなった。

症例によっては胚移植法として経子宮筋層的胚移植(TMET)を考慮しても良いと考えられる。

5. 子宮内膜のIL-8陽性単核細胞に関する免疫組織学的研究

○岡田喜親, 朝比奈俊彦, 北村公也
後藤淳子, 小林隆夫, 寺尾俊彦
(浜松医大産婦)

着床および初期妊娠維持には子宮内膜間質の広範な浮腫状変化と接着因子の存在が判明している。さらに妊娠初期着床部にはサイトカインIL-8の存在が推定されている。我々はこのIL-8が子宮内膜の浮腫

状変化に關与しうるかを免疫組織学的に検索し、その後動物実験でその作用を検討した。

1) 非妊時ヒト子宮内膜のパラフィン切片を作成、抗ヒトIL-8抗体を用いた免疫染色を行った。2) 排卵抑制状態としたマウスにIL-8 0.85 mg/kgを腹腔内投与し、生食投与群と15時間後の子宮内膜の状態を比較観察した。

1) 免疫染色では子宮筋層および内膜間質に存在する単核細胞にIL-8陽性所見を認めた。2) IL-8投与群では、子宮内膜の浮腫状変化が著明であった。生食投与群では間質はcompactであった。

IL-8は非妊時ヒト子宮内膜において、単核細胞で産生、分泌され子宮内膜に着床期と類似した組織学的変化を引き起こしている可能性が示唆された。

6. 子宮内膜着床期における超音波内膜輝度と接着因子発現に関する研究

○北村公也、朝比奈俊彦、岡田喜親
後藤淳子、小林隆夫、寺尾俊彦

(浜松医大産婦)

着床期における子宮内膜超音波像のうち、高輝度を呈する内膜と低輝度を呈する内膜との着床環境としての差異を、組織形態学および接着性蛋白の局所発現度の比較にて検討した。

分泌期中期内膜日付診を施行した不妊症例のうち、検査当日の超音波内膜実質像が高輝度例9例、低輝度例5例を以下の7項目について比較した。1) 血清E₂値 2) 血値P₄値、3) P₄/E₂値、4) 子宮内膜の厚さ、5) 内膜腺管組織像、6) 内膜間質組織像、7) 内膜間質の接着性蛋白発現度。

高輝度群では、低輝度群に比し、腺管蛇行・間質浮腫・接着蛋白の発現において亢進していたが、それ以外の項目では、すべて有意差は認められなかった。

分泌期中期に高輝度像を呈する子宮内膜は、腺管の蛇行とともに間質部の浮腫状変化が強くなっていく。また妊娠の維持に必須とされる接着性蛋白も豊富に存在し、低輝度のものに比し良好な着床環境であることが示唆された。

7. 当院における顕微授精の成績

○鈴木規敬、田中由佳、松原寛和
生田克夫、鈴森 薫

(名古屋市立大産婦)

近年、卵細胞質内精子注入法(以下ICSI)の発展に

より、従来不可能と思われてきた領域の重症男性不妊の治療が可能となってきた。当科でも平成8年よりICSIを行っており、その成績を報告する。

45周期248卵に0 day ICSI, 35周期133卵に1 day ICSIを行い、無傷率はそれぞれ93.5%, 94.7%, 2PNは91/196(46.4%), 38/100(38%)だった。分割率は、0 day ICSI胚は97.8%であり1 day ICSI胚の68.4%と比べ良好であった。また分割胚のgradeをVeeck準じて分類したところ、0 day ICSI卵でgrade 1, 2(13% vs. 2%)が多く、grade 4(21% vs. 42.3%)が少ない傾向にあった。胚移植は、0 day ICSIでは38/45周期(84.4%)で可能で、11周期(28.9%)に妊娠が成立した。1 day ICSIは、14/35周期(40%)に胚移植し、妊娠例は1例だった。また、非射出精子を用いたICSIはこのうち5例6周期であり、2例の妊娠があった。

以上、当院における顕微授精の成績を示したが、未だ満足すべき成績ではなく、今後も機器や技術の改良が必要であると思われた。

8. 当院における凍結保存精巣上体精子を用いたICSIの成績

○森脇崇之、羽柴良樹、山原 昇
岡村尚子、安藤智子、近藤育代
浅田義正、菅沼信彦

(名古屋大周産母子センター)

凍結保存精巣上体精子によるICSIの成績を検討した。

対象は平成7年5月より平成9年4月までにICSIを施行した射出精子使用151周期、新鮮精巣上体精子使用23周期、精巣精子使用22周期、凍結保存精巣上体精子使用6周期とした。

凍結精子は、MESAの精液をHTF+10%SSS溶液で希釈し、同周期に使用した残りに等量のfreezing mediumを加え、液体窒素蒸気で5分間冷却した後-196℃で保存し、同周期で妊娠しなかった場合つぎの採卵周期に融解しICSIに使用した。他の精子でのICSIは既に報告した方法で行った。

生存率、受精率、分割率、妊娠率は射出精子でそれぞれ93, 73, 91, 30%。新鮮精巣上体精子でそれぞれ96, 74, 90, 35%。精巣精子でそれぞれ95, 67, 87, 23%。凍結精巣上体精子でそれぞれ93, 62, 85, 50%であり、いずれも有意差を認めなかった。

以上の結果より凍結保存精巣上体精子によるICSIは他の方法と比べて遜色がなく非常に有用であると判断された。

関連学会のお知らせ

第6回腹壁吊り上げ法研究会

会 期：平成9年12月20日(土)

会 場：久留米医師会館 大ホール

福岡県久留米市櫛原34 Tel. 0942-34-4163

プログラム(予定)：一般演題

各科領域における腹壁吊り上げ法手術の実際など多岐にわたって募集いたしました。

事務局：〒830 福岡県久留米市旭町67 久留米大学医学部産婦人科学教室内

第6回腹壁吊り上げ法研究会事務局

担当 堀 大蔵, 友成廉平

Tel. 0942-31-7573 FAX. 0942-35-0238

当番世話人

薬師寺道明(久留米大学医学部産婦人科)

第3回日本更年期医学会ワークショップ

会 期：平成10年2月8日(日) 10:00～16:20

会 場：千里ライフサイエンスセンター(5Fライフホール)

大阪府豊中市新千里東町1-4-2 Tel. 06-873-2000

プログラム：講演1：HRTと漢方療法 後山尚久先生(大阪医大)

講演2：HRTと脳機能 ト部 諭先生(京都府立医大)

講演3：更年期と栄養－エイジングを遅らせる食事学

廣田孝子(辻学園中央研究室)

カウンセリングの実際 (総合司会) たけながかずこ先生(マザーリング研究所)

廣田憲二先生(日生病院)

(進行) 藤崎和彦先生(奈良県立医大)

参加費：事前登録 8,000円

当日参加 9,000円

申込締切：平成10年1月15日(木)

事務局：〒102 東京都千代田区麴町5-3 第7秋山ビル(株) コングレ内

「日本更年期学会第3回ワークショップ」事務局

Tel. 03-3263-4035 FAX. 03-3263-4032

日本更年期医学会

理事長 麻生武志

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)は、20世紀最後の総会として、医療の根底にある「人間愛」を主題とし、メインテーマを「社会とともにあゆむ医学—開かれた医療の世紀へ—」として開催される。

会期は、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、また1999(平成11)年3月30日(火)~4月8日(木)までの10日間にわたって展示が開催される。

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。

展示は、従来の登録者を対象とした医学展示以外に、今回は特に、一般市民に開かれた医学博覧会も計画している。

また、総会活動の一端として、プレシンポジウムを会期の1年前に、主務機関6大学で行う予定。

今後、その都度のお知らせは、第25回日本医学会のホームページが開設されているのでご覧いただきたい。アドレスは、<http://bube.umin.u-tokyo.ac.jp/isoukai/> また日本医師会ホームページの<http://www.med.or.jp/>ともリンクしている。

第64回日本医学会定例評議員会

第64回日本医学会定例評議員会が、1997年2月24日(月)に開催された。挨拶に立った森亘日本医学会長は「この1年間、比較的順調に日本医学会は推移してきた。日本の医療界では大きな出来事の多い1年であったが、その間、日本医学会は着実に、地味な活動を続けつつあり、今日、世の中にも次第に認められてきたという印象を持っている、なお日本医学会の立場は、あくまでも学問という学術に徹するものであり、その持てる知識・経験が各方面で発揮、活用され、国民全体のために役立てられることに繋がれば、それは喜ばしいと考える」と述べた。

特記すべきことは、日本医学会に加盟する分科会の審査制度が平成8年度から新制度として発足し、評議員会で審議の結果、日本医学教育学会、日本医療情報学会が新たに加盟することになった。これで日本医学会を構成する分科会は91を数える。

第108回日本医学会シンポジウム

「感染症—21世紀に向けての展望—」が、1997年7月4日(金、10:00~17:30)日本医師会館大講堂で開催される。

本シンポジウムの組織委員は、玉置憲一、木村哲、竹内勤の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。詳細は事務局まで。

プログラムの概要は、下記のとおり。

I. 細菌感染症の動向

1. 腸管出血性大腸菌(病原性大腸菌O157)感染症/竹田美文(国立国際医療センター・研究所)
2. 結核の現状と今後/森 亨(結核予防会・結核研究所)
3. 細菌の薬剤耐性の動向と対策/荒川宣親(国立感染症研・細菌・血液製剤部)

II. プリオンとウイルス感染症

4. プリオンとCJD, 狂牛病/立石潤(老人保健施設・春風)
5. ウイルス性出血熱—デング出血熱を中心に—/五十嵐章(長崎大・熱帯研)
6. HIV感染症の疫学/北村敬(富山県衛生研究所)
7. HIV感染症治療の新展開/木村哲(東大・感染制御学・内科学)
8. 予防接種拡大計画(EPI)とポリオ根絶計画/楠本一生(国立国際医療センター・内科学)

III. マラリア

9. マラリア:疫学と薬剤耐性の諸問題/竹内勤(慶應大・熱帯医学)
10. マラリア:Pathogenesis研究の進歩/相川正道(東海大・総合医学研究所)

日本医学会への加盟申請

日本医学会は、分科会として加盟を希望する学会に対し、新方式による審査制度を平成8年度より実施している。

平成9年度の加盟申請の公示は、平成9年5月15日に行い、7月31日で申請を締切る。

新方式の審査基準としては、a)分科会としての独自性と必要性、b)会員構成、c)活動性、d)国際性、e)学会運営、f)総合的な判断などがあげられている。

審査は新規加盟審査委員会で審議検討した結果を、協議会、幹事会の議を経て評議員会で審議し、ここ

で決定を行うこととしている。加盟の申請書は、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、「日本医学会医学用語辞典英和」の改訂版の作業を行うことになった。

改訂の方針は、文部省科学研究費の補助の下に3基準にもとづく基本的な用語を優先して作成した「医学用語標準化の調査研究」報告書、各分科会の用語集ならびに本会の医学用語辞典の3者を比較検討し、足りない用語はさらに追加する。

その際、医学・医療関係者が承知していることが望ましい用語は必ず採用する一方、あまりに分科会の中でのみ用いられるような専門性の高い用語は省略するなどの点も考慮して行う。

各分科会には上記に関連した依頼を行った。またすでに日本医学会分科会用語委員会(H9.3.11)の席上で、本会の医学用語辞典の改訂について説明し、協力依頼を行った。当日出席の各分科会の用語委員からは医学用語に関する意見が多数、活発に述べられた。

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・臨床医学を通じ計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。

日本不妊学会雑誌
——総合目次——

第42巻 第1号

平成9年1月1日

原著

不妊診療における子宮鏡的卵管口所見の意義に関する検討

—子宮卵管造影後の妊娠率の予測— …… 神山 他 …… 1

子宮内膜症r-AFS分類Ⅰ期およびⅡ期不妊症患者における

腹腔鏡後AIHの有用性 …… 有馬 他 …… 5

インスリン様成長因子-I (IGF-I) の卵巣内アンギオテンシンⅡ(AngⅡ)産生刺激を

介した卵胞発育促進効果(英文) …… 久慈 他 …… 9

無月経患者における子宮内膜厚とクロミフェンに対する反応の関連性(英文) …… 中村 他 …… 22

卵管性不妊症患者におけるクラミジア・トラコマティス抗体の検討

—セロ・イパライザ クラミジアIgA, IgG, IgMを用いて— …… 野口 他 …… 27

体外受精により得られたヒトおよびマウス3前核胚の発生と染色体の分析(英文) …… 吉澤 他 …… 34

プレドニゾン投与による反復過排卵誘起マウスの排卵反応低下の阻止(英文) …… 金山 他 …… 39

Swim-upで分離した運動良好精子の数的染色体異常率に関する検討

—fluorescence in situ hybridization (FISH)法を用いて—(英文) …… 呼 他 …… 44

習慣流産(反復流産を含む)に対する免疫学的評価と免疫療法の有効性について …… 中野 他 …… 50

PCNA法を用いたラット精細胞DNA合成能の定量的解析(英文) …… 井本勝彦 …… 59

精子運動自動分析装置を用いた男性不妊症患者精子運動性の分析 …… 四倉 他 …… 67

Ficollを用いたウマ精子運動性の評価方法 …… 宮澤 他 …… 74

単為発生マウス胚盤胞における各種酵素の組織化学的研究 …… 新村 他 …… 78

反復流産症例における免疫療法と抗HLA抗体産生について …… 斉藤 他 …… 83

視床下部性無月経および多嚢性卵巣症候群婦人におけるプロラクチンおよび

甲状腺刺激ホルモン分泌(英文) …… 嘉藤 他 …… 90

症例報告

先天性精管部分欠損と思われた精管通過障害の3例 …… 江口 他 …… 96

地方部会講演抄録 …… 100

第42卷 第2号

平成9年4月1日

原 著

- 免疫異常の観点から考察した不育症における子宮内膜症と子宮腺筋症(英文) ……假野 他 ……113
酢酸ナファレリン Short Protocol を利用した体外受精・胚移植 (IVF-ET) の過排卵刺激法
……………工藤 他 ……119
卵巣機能面からみた卵巣刺激法 short protocol と long protocol の比較検討 ……山口 他 ……128
血中エストロジオールの即日測定によるカニクイザル排卵日の推定……………越後貫 他 ……136
順行性内精静脈造影による精索静脈瘤の検討 ……野澤 ……141
射精障害による重症男性不妊に対する逆行性精巣上体精子採取法
(Retrograde Epididymal Sperm Aspiration: RESA) による精子採取と
顕微授精を併用した妊娠成功について ……宇津宮 他 ……151
不妊症患者精索静脈瘤における磁気共鳴画像 (MRI) 診断の意義
—触診, RI 診断との比較—……………池本 他 ……155
妊孕性温存手術を施行した子宮体部非定型的平滑筋腫瘍ならびに
ポリープ状異型腺筋腫の臨床病理学的検討 ……新田 他 ……162

症例報告

- 体外受精・胚移植に成功した原発性視床下部性無月経の1例 ……本庄 他 ……169

- 地方部会講演抄録……………174

第42卷 第3号

平成9年10月1日

- 第42回日本不妊学会学術講演会抄録……………187

第42卷 第4号

平成9年11月1日

原 著

- 卵細胞質内精子注入法 (ICSI) で妊娠した胎児の染色体異常について(英文) ……Alibrahim 他 ……227
Maturation promoting factor (MPF) の顕微注入によるマウス未成熟卵子の
体外成熟に関する検討……………中野 ……232
卵管避妊手術後の再開通術の成績に影響を与える因子に関する検討(英文) ……大谷 他 ……239
妊娠初期の血清 ICAM-1 値の検討(英文) ……奈須 他 ……243

当科における男性不妊症患者の臨床的検討	秋山 他	247
卵管水腫貯留液の体外受精の治療成績に及ぼす影響	藤井 他	253
尿中高感度LH簡易半定量測定キット「シェアーステップ®LH」による		
LHサージ検出の基礎的・臨床的研究	小田 他	258
卵細胞質内精子注入法による不妊治療症例の卵胞期初期FSH値に関する検討	田谷 他	265
精子各種運動能の指標と妊孕性との関連	ハッ橋	271
血中抗クラミジア抗体と骨盤内癒着および卵管障害の相関(英文)	正橋 他	281
閉塞性無精子症に対する手術療法の成績	岩崎 他	286
機能性不妊カップルの予後に関する検討	木村 他	292
不妊症患者の運動精子における障害感受性の検討	山中 他	297
GnRH agonist投与下でのLH subpopulationの検討	柳澤	303
偽妊娠家兔の黄体退行におよぼす内因性TNF- α の影響(英文)	遠藤 他	310

臨床報告

妊娠中tergurideを内服した下垂体プロラクチン産生腫瘍例		
——正常の周産期経過で正常児を分娩——(英文)	坂井 他	315
凍結精子を用いたAIHにより妊娠した特発性逆行性射精の1例	石井 他	320
下垂体腺腫を合併した男性不妊症患者におけるプロモクリプチン療法の成績(英文)	吉田 他	324
地方部会講演抄録		328

Japanese Journal of Fertility and Sterility

CONTENTS

(Vol. 42, No. 1, 1997)

Originals

- A Correlation between Hysteroscopic Feature of Intrauterine Tubal Ostium and
Pregnancy Rate after HSG *S. Kamiyama, H. Miyagi, Y. Teruya,*
T. Iha, H. Masamoto, M. Miyara,
M. Higashi & K. Kanazawa 1
- Clinical Usefulness of Artificial Insemination with Husband's Semen
after Laparoscopic Treatment in Infertile Patients with Minimal or Mild Endometriosis
..... *K. Arima, M. Nomiyama, H. Sou,*
Y. Matsumoto, H. Sugimori & K. Nakamura 5
- Insulin-Like Growth Factor- I Induces Follicular Development
by Stimulating Ovarian Production of Angiotensin II *N. Kuji, T. Miyazaki,*
K. Sueoka, M. Tanaka, K. Kiyokawa,
Y. Kitaoka, J. Yamauchi, T. Hashiba,
T. Nemoto, T. Kobayashi & Y. Yoshimura 9
- Prediction of the Response to Clomiphene Citrate by Ultrasonographic Assessment of
Endometrial Thickness in Amenorrheic Patients *S. Nakamura, T. Douchi, H. Ijuin,*
T. Oki, S. Yamamoto & Y. Nagata 22
- Correlation between Serum Antichlamydial Antibodies and Infertile Women
..... *M. Noguchi, T. Okamoto, T. Hojo,*
K. Nakabe, Y. Nagata, S. Nakamura,
J. Yasuda, H. Hoshiai, M. Mukoubayashi,
S. Matsuda, Y. Taketani, O. Tsutsumi,
Y. Oosuga, T. Kawana, O. Nishii,
A. Yajima, T. Fukaya, K. Takayama,
T. Aono, M. Kamata, K. Tanaka,
R. Kato, K. Sato, H. Osada,
N. Masaoka, T. Terao, N. Kanayama,
T. Asahina, M. Maeda, S. Kawakami,
T. Aoki, S. Fujimoto & H. Yoshida 27
- Analyses of Early Development and Chromosomal Constitution of
Tripronuclear Human and Mouse Eggs Fertilized In Vitro
..... *M. Yoshizawa, Y. Araki & M. Motoyama* 34
- Effects of Prednisolone in Repeated Superovulation Induction in Mice
..... *K. Kanayama, M. Izumi, K. Nariai, T. Endo,*
T. Sankai, K. Yabe and H. Kada 39

Detection of Aneuploidy Rate in Human Spermatozoa Selected by Swim-up Using Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)	<i>H. Hu, N. Miharū,</i> <i>O. Samura & K. Ohama</i> ...	44
The Clinical Significance of Blocking Effect in Patients with Recurrent Spontaneous Abortion	<i>T. Nakano, M. Nakashima,</i> <i>H. Ishikawa, Y. Ametani, S. Ohta,</i> <i>A. Ohkuchi, S. Satake, Y. Kojima,</i> <i>H. Funamoto & M. Tateno</i> ...	50
Quantitative Analysis of Spermatogenic DNA Synthesis in the Rat Using a Monoclonal Antibody Against Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) ...	<i>K. Imoto</i> ...	59
Semen Analysis of Male Infertility Patients Using a Computer Aided Semen Analyzer	<i>M. Yotsukura, Y. Tohyama, M. Iwabuchi,</i> <i>S. Oshio, H. Tomomasa,</i> <i>T. Yazaki & T. Umeda</i> ...	67
Evaluation of Equine Sperm Motility Using Ficoll Solution	<i>K. Miyazawa, T. Shimizu,</i> <i>K. Ohsaki & K. Sato</i> ...	74
Histochemical Studies of Enzymes in Parthenogenetic Mouse Blastocysts	<i>S. Niimura, T. Asami</i> ...	78
Production of Anti-HLA Antibody in the Cases of Recurrent Spontaneous Abortion after Immunotherapy	<i>M. Saitoh, O. Ishihara, H. Seki,</i> <i>S. Takeda, K. Kinoshita,</i> <i>R. Hirata & H. Maeda</i> ...	83
Prolactin and Thyroid Stimulating Hormone Secretion in Women with Hypothalamic Amenorrhea and Women with Polycystic Ovary Syndrome	<i>T. Kato, K. Seki & S. Sekiya</i> ...	90
Case report		
Three Cases of Vas Deferens Obstruction which seemed to be Congenital Partial Aplasia of the Vas Deferens	<i>J. Eguchi, K. Nomata, T. Igawa,</i> <i>N. Nishimura, T. Hirose,</i> <i>H. Kanetake & Y. Saito</i> ...	96

(Vol. 42, No. 2, 1997)

Originals

The Incidence of Endometriosis and Adenomyosis in Patients with Habitual Abortion in Relation to Immunological Abnormalities	<i>T. Kano, M. Furudono, H. Nabetani,</i> <i>M. Ishii, T. Kanda & M. Ueki</i> ...	113
--	--	-----

Originals

- Chromosomal Analysis of Fetuses Obtained by Intracytoplasmic Sperm Injection
..... *N. Alibrahim, M. Inoue, A. Hasegawa,
N. Koyama, M. Mitsuo, H. Shibahara,
M. Shigeta, K. Koyama, H. Shima
& H. Sawai* ··227
- The Study of the In Vitro Maturation of Mouse Oocytes Induced
by the Microinjection of Maturation Promoting Factor (MPF) *H. Nakano* ··232
- Reversal of Tubal Sterilization: Analysis of Factors Affecting Pregnancy Rate
..... *T. Otani, I. W. Johnston & T. Maruo* ··239
- Serum Levels of Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) in Early Pregnancy
..... *K. Nasu, H. Narahara & I. Miyakawa* ··243
- A Clinical Study of Male Infertility *H. Akiyama, T. Oeda, H. Okabe,
M. Akiyama, H. Ozawa, A. Nagai
& H. Ohmori* ··247
- The Influence of the Persistent Existence of Hydrosalpinx Fluid
on In-vitro Fertilization Outcome *S. Fujii, A. Fukui, Y. Fukushi,
A. Kagiya, S. Sato & Y. Saito* ··253
- Basic and Clinical Studies on the Detection of LH Surge Using the Highly Sensitive,
Simplified and Semiquantitative Urinary [Sure-Step® LH] Assay Kit
..... *T. Oda, S. Miura, Y. Komiya,
K. Kimura & T. Ohno* ··258
- Significance of Early Follicular FSH Levels in Patients
Underwent Intracytoplasmic Sperm Injection *J. Taya, O. Ishihara, M. Saitoh,
K. Arai, H. Numari, K. Kinoshita
& Y. Uchijima* ··265
- Relationship between Sperm Motion Characteristics and Fertility *R. Yatsuhashi* ··271
- Significance of Serum Chlamydia Trachomatis Antibody Testing
in Evaluating the Tubal Damage and the Presence of Pelvic Adhesion
..... *T. Masahashi, T. Hojo, T. Okamoto,
M. Noguchi & M. Nakanishi* ··281
- Results of Surgical Treatment for Obstructive Azoospermia
..... *M. Iwasaki, S. Ohta, H. Fuse,
T. Kazama, R. Takatsuka, Y. Michi-kura
& O. Kato* ··286
- Prognosis of Unexplained Infertility: A Clinical Study in 36 Cases
..... *M. Kimura, N. Mikuma, N. Itoh,
H. Tachiki, S. Takagi, T. Sasao
& T. Tsukamoto* ··292

Evaluation of Fragility of Motile Sperm from Infertile Patients

..... *M. Yamanaka, N. Tsuboniwa, M. Koga,*
K. Nishimura, A. Tsujimura, M. Kitamura,
S. Takahara, K. Matsumiya & A. Okuyama ·· 297

Effects of GnRH Agonist on Luteinizing Hormone (LH) Subpopulations ····· *T. Yanagisawa* ·· 303

Effects of Endogenous TNF- α Induction on Luteolysis in Pseudopregnant Rabbits
..... *T. Endo, K. Nariai, K. Kanayama*
& A. Tsukise ·· 310

Case report

Terguride Administration During Pregnancy in a Patient

with Pituitary Macroprolactinoma in Normal Perinatal Outcome
..... *K. Sakai, K. Yoshida, K. Yoshimura,*
M. Seki & M. Kashimura ·· 315

Idiopathic Retrograde Ejaculation with pregnancy by AIH with Frozen Sperm:

Case Report ····· *T. Ishii, N. Uchino, Y. Shinohara,*
S. Kamikatahira & T. Hayashi ·· 320

Bromocriptine Treatment Outcome for a Pituitary Adenoma Patient Suffering

from Male Infertility ····· *A. Yoshida, K. Miura, M. Shirai,*
M. Motoyama, Y. Araki & S. Araki ·· 324

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以内の英文抄録(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、平がなを用い、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*. 白井将文編, 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.
1.	[]	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

平 川 舜 (委員長)

味 香 勝 也	石 塚 文 平	岩 本 晃 明
遠 藤 克	押 尾 茂	佐 藤 英 明
白 井 將 文	末 岡 浩	百 目 鬼 郁 夫
三 浦 一 陽	三 橋 直 樹	

EDITORIAL BOARD

Shun HIRAKAWA (Editor-in-Chief)

Katsuya AJIKA	Bunpei ISHIZUKA	Teruaki IWAMOTO
Tsuyoshi ENDO	Shigeru OSHIO	Eimei SATO
Masafumi SHIRAI	Kou SUEOKA	Ikuo DOUMEKI
Kazukiyo MIURA	Naoki MITSUHASHI	

日本不妊学会雑誌 42 卷 4 号

1997 年 11 月 21 日 印 刷
1997 年 11 月 28 日 発 行

編集兼発行者 平 川 舜

印 刷 者 内 藤 錦 樹

印 刷 所 J T B 印 刷 株 式 会 社
東 京 都 豊 島 区 目 白 2 - 1 - 1

発 行 所 社 団 法 人 日 本 不 妊 学 会
東 京 都 千 代 田 区 麴 町 5 - 4
ク ロ ス サ イ ド 麴 町 ビ ル 8 階
T e l (0 3) 3 2 8 8 - 7 2 6 6
振 替 口 座 番 号 0 0 1 7 0 - 3 - 9 3 2 0 7