

ISSN 0029-0629 CODEN: NFGZAD

Japanese Journal of Fertility and Sterility

日本不妊学会雑誌

Vol. 43 No. 3

第43卷 第3号

July 1998

平成10年7月1日

Jpn. J. Fertil. Steril. / 日不妊会誌

日本不妊学会学術奨励賞の選考対象論文 増加についてのお願い

日本不妊学会では、1995年より本会機関誌の日本不妊学会雑誌に掲載された原著論文を選考対象として、毎年3編の学術奨励賞を授与しています。

本賞は若手研究者の研究を奨励する主旨で、筆頭著者の年齢が掲載時に満40歳以下であることが条件になっており、産婦人科学、泌尿器科学および基礎生物学の3部門より各1名を、前年度に刊行された1～4号収載の論文の中から選び授与されます。

受賞された方には、

- 1) 日本不妊学会学術奨励賞賞状
- 2) 日本不妊学会オルガノン学術奨励賞賞状
- 3) 記念品 ブロンズの母子像
- 4) 学術奨励金 50万円

が、秋に開催される日本不妊学会総会の席上で表彰、授与され、名誉ある賞です。

近年、本誌への原著論文の投稿数が減少傾向にあり、学術奨励賞に選ばれるチャンスが高まっている実状です。今後優れた論文を日本不妊学会雑誌へ是非御投稿下さるようお願いいたします。

なお日本不妊学会学術奨励賞の推薦方法の詳細は本誌43巻1号、2号に掲載していますので、御参照下さい。

1998年7月1日

日本不妊学会学術委員会
委員長 青野敏博

第43回日本不妊学会総会および学術講演会 (第4回予告)

第43回日本不妊学会総会および学術講演会を下記の要領で開催いたします。多数の方々をご参加下さいますようお願い申し上げます。

記

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、評議員会、総会、総懇親会

13日(金)学術講演会、新理事会

II 会 場：鹿児島市民文化ホール

〒890-0062 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

〒890-0062 鹿児島市与次郎1-8-10 (TEL:099-253-2020)

III 学術講演会予告：

招請講演

1) Preimplantation genetic diagnosis, present and future

演者：Dr.Yury Verlinsky (Reproductive Genetic Institute, Illinois Masonic Medical Center, Chicago, U.S.A.)

2) The Assisted Reproductive Technology in Korea

演者：Prof. Chan-Ho Song (Department of Obstetrics and Gynecology, Yonsei University, Seoul, Korea)

特別講演

21世紀への提言—環境ホルモンと生殖

演者：井口泰泉 (横浜市立大学理学部教授)

理事長講演

着床率の向上を目指して

演者：森 崇英 (京都大学名誉教授)

会長講演

生殖医療と倫理

演者：永田行博 (鹿児島大学医学部産科婦人科教授)

教育講演

1) クローン動物研究の現況

演者：角田幸雄 (近畿大学農学部畜産学科教授)

2) 精巢内分子シャペロンと不妊

演者：大迫誠一郎 (国立環境研究所環境健康部研究員)

3) メラトニンと排卵機構

演者：相良祐輔 (高知医科大学産科婦人科教授)

4) レプチンと生殖生理

演者：佐川典正 (京都大学医学部産科婦人科助教授)

5) 多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)と生活習慣病の関連性

演者：堂地 勉 (鹿児島大学医学部産科婦人科助教授)

6) 卵・卵胞の発育と細胞外基質

演者：斉藤英和（山形大学医学部産科婦人科助教授）

7) ヒト ART 受精卵染色体異常の遺伝的荷重について

演者：久保春海（東邦大学医学部第1産科婦人科教授）

8) 精子形成関連遺伝子をめぐって— AZF を中心に—

演者：並木幹夫（金沢大学医学部泌尿器科教授）

9) 精漿中の精子運動抑制因子の生理的役割について

演者：岩本晃明（聖マリアンナ医科大泌尿器科教授）

シンポジウム

1. 着床不全の病態解明へのアプローチ —基礎から臨床へ—

座長：吉村泰典（慶應義塾大学医学部産科婦人科教授）

寺川直樹（鳥取大学医学部産科婦人科教授）

シンポジスト：

- 1) 着床成立時の胚，子宮内膜相互作用に関連する物質の分子生物学的解析
樋口壽宏（京都大学医学部産科婦人科助手）
- 2) 着床における子宮内膜細胞膜硫酸化脂質の役割
百枝幹雄（東京大学医学部産科婦人科助手）
- 3) 上皮成長因子（EGF）によるトロホブラストの機能的分化促進のメカニズム
山本敏也（大阪大学医学部産科婦人科助手）
- 4) 胚着床過程における細胞増殖因子の役割
原田 省（鳥取大学医学部産科婦人科講師）
- 5) 着床におけるインテグリン $\alpha v \beta_3$ の役割
宮崎豊彦（慶應義塾大学医学部産科婦人科講師）

2. 精子妊孕能の情報と評価

座長：伊藤晴夫（千葉大学医学部泌尿器科教授）

シンポジスト：

- 1) ヒト造精機能障害とテロメラーゼ活性
藤沢正人（神戸大学医学部泌尿器科助手）
- 2) 精子卵結合における補体制御因子（CD46）の役割
北村雅哉（大阪大学医学部泌尿器科助手）
- 3) 内分泌所見よりみた精子形成能の評価と限界
伊藤直樹（札幌医科大泌尿器科講師）
- 4) 各種精子機能検査と妊孕能
太田昌一郎（富山医科薬科大学医学部泌尿器科助手）
- 5) 精子運動能と妊孕能
市川智彦（千葉大学医学部泌尿器科講師）
- 6) 自然妊娠の限界
原 啓（東邦大学医学部泌尿器科第1講座講師）

ワークショップ

1. OHSS の病態とその対応

座長：青野敏博（徳島大学医学部産科婦人科教授）

- 1) OHSS の疫学とリスク因子の解析
安藤一道（群馬大学医学部周産母子センター講師）
- 2) OHSS の発生と重症化のメカニズム（VEGF との関連）
田原隆三（昭和大学医学部産科婦人科講師）

- 3) 排卵誘発に伴う OHSS の治療
田中信幸 (熊本大学医学部産科婦人科講師)
- 4) 重症 OHSS に対する腹水濾過濃縮再静注法
深谷孝夫 (東北大学医学部附属病院周産母子センター助教授)
- 5) OHSS の予防は可能か
松崎利也 (徳島大学医学部産科婦人科助手)
- 6) 重症 OHSS における全胚凍結の試み
永吉 基 (セントマザー産婦人科医院)

2. 閉塞性無精子症の外科的対応

座長：奥山明彦 (大阪大学医学部泌尿器科教授)

- 1) 閉塞性無精子症の診断
永尾光一 (博慈会記念総合病院泌尿器科)
- 2) 射精管閉塞に対する経尿道的処置
岩崎 皓 (横浜赤十字病院泌尿器科部長)
- 3) 精管精管吻合術
奥野 博 (京都大学医学部泌尿器科助手)
- 4) 精管精巣上体吻合術
奈路田拓史 (徳島大学医学部泌尿器科助手)
- 5) MESA
近藤宣幸 (健保大阪中央病院泌尿器科)
- 6) TESE
岡田 弘 (神戸大学医学部泌尿器科講師)

IV 一般演題

演題申込み資格

講演者 (共同発表者を含む) は本学会会員に限ります。会員以外の方は演題申込みと同時に、1998 年度会費 (8,000 円) を納入のうえ、会員になってください。

演題発表形式

口演発表のみといたします。

なお、演題の採否、分類の決定は会長にご一任下さい。

V 参加申込方法

学会当日会場にて受け付けます。 学会参加費 10,000 円

懇親会費 6,000 円

総懇親会は学術講演会初日の 11 月 12 日 (木) に鹿児島サンロイヤルホテルで行います。是非ご出席下さい。

1998 年 (平成 10 年) 7 月

第 43 回日本不妊学会
会長 永田行博

第43回日本不妊学会総会および学術講演会 宿泊・航空のご案内

史と景の街、鹿児島市で第43回日本不妊学会総会が開催されますことを心よりお慶び申し上げます。学会期間中の宿泊・航空・観光のご案内をJTB鹿児島支店で取扱いさせていただくことになりました。

つきましては、ご案内の内容をご検討のうえ、早目にお申し込みを賜りますようご案内申し上げます(鹿児島市内のホテルは相当の混雑が予想されます)。

記

1. 宿泊ご案内期間 平成10年11月11日(水)～11月13日(金)
2. 申し込み方法
 - (1) 所定の申込書にてFAXまたは郵送にてお申し込み下さい。
 - (2) 必ず第2希望のホテルランクのご記入をお願いします。
3. 申し込み締切 (平成10年10月5日)
4. 予約の回答
正式な回答につきましては、10月中旬(予定)に関係書類・請求書・郵便振替用紙をお送りいたします。
5. 清算(お支払)
予約の回答時に同封しております、振込振替用紙にて10月30日(金)までにお支払い下さい。
6. 取消
お申し込み後、ご都合で予約を取消される場合は、お1人様につき下記の取消料を申し受けます。
なお、変更・取消の連絡は、郵送またはFAXにてお願いいたします。

取消料	30日前～15日前	14日前～7日前	6日前～4日前	3日前～2日前	前日	当日以降
宿泊	無料	10%	20%	20%	50%	100%
東京便	無料	3,000円	3,000円	6,000円	6,000円	6,000円
名古屋便	無料	3,000円	3,000円	6,000円	6,000円	6,000円
大阪便	無料	2,000円	2,000円	4,000円	4,000円	4,000円

7. 申込先・お問合せ
〒892-0842 鹿児島市東千石町2-12 Kフラットビル2F
JTB鹿児島支店「日本不妊学会」係
TEL：099-227-5205・226-9467
FAX：099-239-6090・224-4456
担当：塚本・飯塚・前村
営業時間：月～金 9：30～18：00
土 9：30～13：00

◎宿泊のご案内(鹿児島市内)

申込記号	客室タイプ	料金(1人当り)	宿泊ホテル名
A-1	シングル	12,000円～13,000円	城山観光ホテル
A-2	ツイン	9,000円～11,000円	サンロイヤルホテル
A-3	ツイン (シングルユース)	16,000円～18,000円	東急ホテル
B-1	シングル	10,000円	鹿児島林田ホテル 鹿児島ワシントンホテルプラザ
B-2	ツイン	8,500円	鹿児島東急イン チサンホテル鹿児島
B-3	ツイン (シングルユース)	15,000円	レクストンイン鹿児島 アーバンポートホテル
C-1	シングル	7,000円～9,000円	ステーションホテル・タイセイアネックス
C-2	ツイン	6,000円～8,000円	ホテルタイセイ 第一ホテル鴨池・第一ホテル西駅
C-3	ツイン (シングルユース)	10,000円～12,000円	パルセスイン鹿児島・法華クラブ など

※料金は、1泊朝食付、税・サービス料込の料金です。

※シングルには、部屋数に制限がございますので、申込み受付順と致しますのでご了承下さい。

◎航空のご案内

*往路

記号	搭乗日	区間	出発時間帯	特別料金
A	11/11・12	東京→鹿児島	8:00～9:00	18,000円
B	11/11	東京→鹿児島	14:00～15:00	18,000円
C	11/11	東京→鹿児島	17:00～18:00	18,000円
D	11/11・12	名古屋→鹿児島	7:30～8:30	16,000円
E	11/11	名古屋→鹿児島	14:00～15:00	16,000円
F	11/11・12	大阪→鹿児島	9:00～10:00	12,000円
G	11/11	大阪→鹿児島	15:00～16:00	12,000円
H	11/11	大阪→鹿児島	17:00～18:00	12,000円

*復路

記号	搭乗日	区間	出発時間帯	特別料金
イ	11/14	鹿児島→東京	11:00～12:00	18,000円
ロ	11/13・14	鹿児島→東京	18:00～19:30	18,000円
ハ	11/14	鹿児島→名古屋	9:00～10:00	16,000円
ニ	11/13・14	鹿児島→名古屋	18:00～19:00	16,000円
ホ	11/14	鹿児島→大阪	11:00～12:00	12,000円
ヘ	11/13・14	鹿児島→大阪	17:00～18:00	12,000円

*特別料金は、15名以上の団体割引を適用いたしております。

*お申込みは、1名様から受付いたしておりますので、記号と搭乗日をご記入下さい。

*各便集約後、10名未満の場合は普通料金となります。

*便の指定につきましては、こちらで決定させていただきます。

*鹿児島空港～鹿児島市内間は、シャトルバス(10分毎・所要50分)が運行いたしております(料金:1,200円)。

*大阪便は伊丹空港発着となります。

第 43 回日本不妊学会総会および学術講演会 宿泊・航空 申込書

(コピーしてご利用下さい。)

お申込先：JTB 鹿児島支店 (担当：塚本・飯塚・前村)

TEL：(099)227-5205・(099)226-9467 FAX：(099)224-4456

お申込締切日：平成10年10月5日(月)

申込み 代表者		フリガナ						勤務先名			
								TEL			
								FAX			
関係書類 送付先		〒									
フリガナ 氏名		年齢	性別	宿泊日				航空		宿泊第2 希望	備考
				11/11	11/12	11/13	11/14	往路	復路		
例	カゴシマヤスオ 鹿児島安雄	45	男	A-1	A-1	A-1	A-1	11/11 B	11/14 ロ	A-3	
1											
2											
3											
4											
5											
									受付日	回答日	

*人数が5名様を超える場合は、この申込書を複数コピーしてご利用下さい。

*航空の申込みは、搭乗日と出発時間帯の記号を必ずご記入下さい。

日本不妊学会雑誌
第43巻 第3号

平成10年7月1日

—目 次—

原 著

- 牛単為発生卵と受精胚の集合によるキメリック胚盤胞の作出 (英文)
..... 村上正夫, 鈴木達行, A. Boediono 1
- 微細子宮鏡の特性を生かした新しい卵管疎通性検査法の考案
..... 岩城妙子, 小杉好紀, 井坂恵一
高山雅臣, 高田淳子 5
- 個々の雌牛から得られた卵巣に存在する卵母細胞数と体外受精胚の発生的比較 (英文)
..... C. Sumantri, 村上正夫, M.D. Varisanga
M.Fahrudin, 鈴木達行 15
- 早発卵巣不全の臨床的検討
..... 栗岡裕子, 高橋健太郎, 高坂麻希
尾崎智哉, 上田敏子, 宮崎康二 21
- 不妊症診療における経済的側面の検討
..... 宇津宮隆史, 渡辺多鶴子, 指山実千代 27
- 反復流産カップルにおけるスクリーニング検査と治療成績の検討
..... 齊藤正博, 石原 理, 林 直樹, 荒井邦子
竹田 省, 木下勝之, 平田蘭子, 前田平生 35
- 着床前ウサギ胚における外因性脂肪酸の代謝 (英文)
..... M.A.M.Y. Khandoker, 辻井弘忠 45
- 20歳未満に発症した婦人科疾患, とくに卵巣腫瘍の臨床病理学的検討
..... 小野田 親, 片瀨秀隆, 小山秀樹
松浦講平, 岡村 均 53
- 妊孕性温存手術を施行した悪性卵巣腫瘍(1986年~1995年)の予後と卵巣機能
..... 小山秀樹, 片瀨秀隆, 田中信幸
松浦講平, 岡村 均 59
- 膠原病感受性HLA抗原の子宮内膜症に対する感受性
..... 假野隆司, 古殿正子, 加納万里子
石井みさ子, 神田隆善, 植木 實 65
- 子宮内膜症を伴った不妊症に対する腹腔鏡下治療の検討
..... 宮崎千恵子, 河内谷 敏, 大野 勉
佐藤芳昭, 三宅崇雄 73

体外受精および顕微授精症例における胚移植数と多胎妊娠に関する検討	石原 理, 五十嵐健治, 斉藤正博, 林 直樹 田谷順子, 堀籠邦子, 平手ひとみ, 木下勝之	79
機能性不妊における子宮内膜日付診と子宮内膜 Estrogen Receptor および Progesterone Receptor 発現との関係	小田 力, 田原隆三, 藤間芳郎, 岩崎信爾 平 峰子, 齋藤 裕, 矢内原 巧	85
FISH 法による各種精子調整法回収精子の性染色体異常の検討	李 萍, 三橋洋治, 高瀬規久也 向林 学, 星合 昊	93
潜在性高プロラクチン血症に対する Terguride の効果とその作用機序に関する研究 —Bromocriptine との比較—	合阪幸三, 渡邊剛也, 生月弓子, 難波 聡 民秋史子, 定月みゆき, 貝原 学, 森 宏之	99
症例報告		
hCG-hMG 療法にて自然妊娠に成功した無精子症の一例	本田幹彦, 中西公司, 仲島宏輔 寿美周平, 北原聡史, 吉田謙一郎	105
愛和病院不妊外来における不妊症診療統計 —分娩を主とする開業産婦人科病院での不妊診療—	村上信子, 吉田耕治, 石 明寛, 柏村正道	109
当科における卵管鏡下卵管形成術(FTカテーテルシステム)の現況と今後の問題点	田中信幸, 松浦講平, 西村宏祐, 岩政 仁 永田康志, 小野田 親, 岡村 均	119
酢酸ナファレリンを用いての IVF-ET のための過排卵刺激法の試み	伊藤真理子, 高橋俊文, 太田信彦, 斉藤隆和 中原健次, 斉藤英和, 廣井正彦	125
地方部会講演抄録		131

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 43, No. 3, 1998)

Japan Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Originals

- Chimeric Blastocysts by Aggregation between Parthenogenetic and Fertilized Bovine Embryos
..... *M. Murakami, T. Suzuki & A. Boediono* 1
- New Test for Tubal Patency Using a Microhysteroscope
..... *T. Iwaki, Y. Kosugi, K. Isaka*
M. Takayama & J. Takada 5
- The Relationship of the Number of Follicles Present in an Ovary and Developmental
Competence of Bovine IVF Embryos Derived from Individual Cows
..... *C. Sumantri, M. Murakami, M. D. Varisanga*
M. Fahrudin & T. Suzuki 15
- Clinical Study on Premature Ovarian Failure
..... *H. Kurioka, K. Takahashi, M. Kohsaka*
T. Ozaki, T. Ueda & K. Miyazaki 21
- An Estimate of the Cost of Infertility Treatment
..... *T. Utsunomiya, T. Watanabe & M. Sashiyama* 27
- Analysis of Recurrent Spontaneous Abortion and Subsequent Outcomes of Pregnancy in Couples
with Recurrent Spontaneous Abortion
..... *M. Saitoh, O. Ishihara, N. Hayashi*
K. Arai, S. Takeda, K. Kinoshita
R. Hirata & H. Maeda 35
- Metabolism of Exogenous Fatty Acids by Preimplantation Rabbit Embryos
..... *M. A. M. Y. Khandoker & H. Tsujii* 45
- A Clinicopathological Study of Ovarian Tumors Occurring in Patients under 20 Years of Age
..... *C. Onoda, H. Katabuchi, H. Koyama*
K. Matsuura & H. Okamura 53
- Prognosis and Ovarian Function in Patients with Malignant Ovarian Tumors after Fertility
Conserving Surgery and Chemotherapy
..... *H. Koyama, H. Katabuchi, N. Tanaka*
K. Matsuura & H. Okamura 59
- Sensitivity of Collagen Disease-sensitive HLA Antigen to Endometriosis
..... *T. Kano, M. Furudono, M. Kano*
M. Ishii, T. Kanda & M. Ueki 65
- Laparoscopic Treatment for Endometriosis Associated with Infertility
..... *C. Miyazaki, S. Kawachiya, T. Ohno*
Y. Sato & T. Miyake 73

Embryo Number for Transfer and Occurrence of Multiple Pregnancies in the <i>In Vitro</i> Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection Programmes	<i>O. Ishihara, K. Igarashi, M. Saitoh, N. Hayashi J. Taya, K. Horigome, H. Hirate & K. Kinoshita</i>	79
Relationship between Endometrial Histology, Estrogen Receptor and Progesterone Receptor in Patient with Unexplained Infertility	<i>C. Oda, R. Tahara, Y. Toma, S. Iwasaki M. Taira, H. Saito & T. Yanaihara</i>	85
Analysis of the X and Y Chromosomes in Human Spermatozoa Prepared by Swim-up and Percoll Techniques	<i>P. Li, Y. Mituhashi, K. Takase M. Mukobayashi & H. Hoshiai</i>	93
Studies on Effect and Its Mechanism of Terguride on Patients with Occult Hyperprolactinemia — Comparison with Bromocriptine —	<i>K. Aisaka, T. Watanabe, Y. Ikezuki, A. Namba F. Tamiaki, M. Sadatsuki, M. Kaibara & H. Mori</i>	99
Case report			
A Report of Successful Pregnancy of Azoospermic Patient Treated by hCG-hMG Combined Therapy	<i>M. Honda, K. Nakanishi, K. Nakajima S. Sumi, S. Kitahara & K. Yoshida</i>	105
Statistical Analysis of Infertile Patients at the Infertility Clinic of Aiwa Hospital —Diagnosis and Treatment of Infertility of a Private Maternity Hospital—	<i>N. Murakami, K. Yoshida, M. Seki & M. Kashimura</i>	109
Clinical Application and Assessment of Falloposcopic Tuboplasty (FT Catheter System)	<i>N. Tanaka, K. Matsuura, K. Nishimura, J. Iwamasa Y. Nagata, C. Onoda & H. Okamura</i>	119
An Approach to Control Ovarian Hyperstimulation for <i>In Vitro</i> Fertilization with Nafarelin Acetate	<i>M. Ito, T. Takahashi, N. Oota, T. Saito K. Nakahara, H. Saito & M. Hiroi</i>	125

Chimeric Blastocysts by Aggregation between Parthenogenetic and Fertilized Bovine Embryos

Masao MURAKAMI and Tatsuyuki SUZUKI

United Graduate School of Veterinary Sciences,
Yamaguchi University, Yamaguchi 753-8515, Japan

Arief BOEDIONO

Faculty of Veterinary Medicine,
Bogor Agriculture University,
Bogor 16151, Indonesia

Abstract: Chimeric blastocysts were produced by aggregation of parthenogenetic and fertilized bovine embryos. To induce parthenogenetic activation, mature oocytes were treated with 7% ethanol and 5 mg/ml cytochalasin D and then cultured at 38.5°C under 5% CO₂ in air. Normal fertilized embryos were obtained by *in vitro* maturation, fertilization and culture. Aggregated embryos were prepared by four methods as follows: [1] injection of 2 blastomeres of a parthenogenetic embryo (16-cell stage) into a fertilized embryo (4-cell stage), [2] injection of a parthenogenetic demi-embryo (8-cell stage) into a fertilized demi-embryo (8-cell stage), [3] injection of a fertilized demi-embryo (8-cell stage) into a parthenogenetic demi-embryo (8-cell stage) and [4] aggregation of whole parthenogenetic and fertilized embryos (8-cell stage). The developmental rate *in vitro* of aggregated embryos produced by aggregation of the whole blastomeres (method [4]) tended to be higher than those by other methods (method [1] to [3]). Karyotyping thirteen aggregated embryos revealed 8 of them to be chimeric chromosome composition of XX and XY. These results verified that the parthenogenetic cells can be contributed to the development of the aggregated embryo.

Key words: parthenogenetic embryo, fertilized embryo, aggregated embryo, chimeric blastocyst

(Jpn J Fertil Steril 43:151-154 1998)

Introduction

Parthenogenetic development of embryos to give live offspring occurs naturally in many non-mammalian species¹⁾, and the phenomenon can also be induced experimentally in non-mammalian vertebrates and invertebrates²⁾. Although the parthenogenetically activated diploid mammalian embryos develop normally through preimplantation, they rarely reach to the forelimb-bud stage³⁾ in mouse.

There are distinct differences between the paternal and maternal contribution to the embryonic development. The paternal genome appears to be more important for the proliferation of the extra embryonic

tissues and the maternal genome plays a key role in preimplantation and early postimplantation development⁴⁾.

Vital functional differences between the parental genomes of mammals have been demonstrated by embryonic lethality of parthenogenetic, gynogenetic and androgenetic uniparental genotypes⁵⁾. Cells derived from uniparental embryos were rescued by integration with normally fertilized embryos, which results in a chimeric organism⁶⁻⁸⁾. These phenomena may relieve the problem of mammalian parthenogenesis.

In the bovine oocytes, there are several effective ways to induce diploid parthenogenesis, such as exposure to ionophore A23187⁹⁾ or ethanol, electric

stimulation, and combination of both ethanol exposure and electric stimulation¹⁰. It has been reported that, following transfer of bovine parthenogenetic embryos to recipients, estrous did not occur until day 48 after transfer of the single embryos¹¹, whereas estrous was delayed upto day 67 after transfer of the aggregated embryos¹². However, in these studies, their pregnancies could not be maintained over these periods, which was thought to be caused by the early embryonic death.

In the present study, we examined the *in vitro* developmental capacity of aggregates between parthenogenetic and fertilized bovine embryos produced by various methods. In addition, the contribution of the parthenogenetic cells to the aggregated embryos which developed to the blastocyst stage (chimerism of the embryos) was investigated by karyotyping them.

Materials and Methods

The method for producing diploid parthenogenetic embryos was applied according to the procedure described previously¹². Briefly, oocytes were aspirated from the ovaries collected at slaughterhouse and matured for 32 h at 38.5°C under 5% CO₂ in air. These matured oocytes were suspended in culture medium containing 7% ethanol for 10 min to induce parthenogenetic activation, followed by treatment with 5 mg/ml cytochalasin D (5 h) to suppress the polar body extrusion, which resulted in production of diploid parthenogenotes. The oocytes were washed and then cultured *in vitro* on cumulus layers for further development.

The fertilized embryos were obtained by *in vitro* maturation, fertilization and culture¹³. The follicular

oocytes were matured for 22-24 h at 38.5°C under 5% CO₂ in air, fertilized with sperm capacitated *in vitro* and then cultured *in vitro*.

Aggregation chimeras were produced by following methods: [1] injection of 2 blastomeres derived from a parthenogenetic 16-cell embryo into a fertilized 4-cell embryo, [2] injection of a parthenogenetic demi-embryo (8-cell stage) into a fertilized demi-embryo (8-cell stage), [3] injection of a fertilized demi-embryo (8-cell stage) into a parthenogenetic demi-embryo (8-cell stage), and [4] aggregation of whole parthenogenetic and fertilized 8-cell embryos following removal of their zona pellucida¹⁴. The reconstructed embryos were then co-cultured on cumulus mono-layers and rechecked after 6 h to ensure that they had not drifted apart. Morphological examination was carried out at every 12 h; both the unaggregated embryos and aggregated embryos with extruded blastomeres were removed from the culture dish. The aggregated embryos were cultured until day 9 (day 0 = onset of IVF or activation) to examine their developmental ability to the blastocyst.

The developmental capacity among four methods were compared by Chi-square analysis and Fisher exact probability test. Differences at a probability value (P) of 0.05 or less were considered significant.

Results and Discussion

As shown in Table 1, the overall rates of development to the morula and blastocyst stages of the aggregated embryos were 56% and 45%, respectively. The developmental rate of the embryos aggregated their whole blastomeres (method [4]) tended to be higher than those of the embryos aggregated by injection meth-

Table 1. Developmental capacity of aggregates between parthenogenetic and fertilized bovine embryos

Aggregation method	No. of embryos examined	No. (%) of embryos developed to	
		Morula	Blastocyst
[1]	30	14 (47) ^a	9 (30) ^a
[2]	36	21 (58) ^{a, b}	16 (44) ^{a, c}
[3]	37	17 (47) ^a	14 (38) ^{a, b}
[4]	37	27 (73) ^b	24 (65) ^c
Total	140	79 (56)	63 (45)

Values with different superscripts within a column are significantly different [a-b, b-c (p<0.05); a-c (p<0.01)]

ods (methods [1] to [3]). The differences in the involved cell numbers among the aggregates might be responsible for this reason.

In order to prove the contribution of the parthenogenetic cells in blastocyst formation following aggregation, 13 blastocysts produced by methods [2], [3], and [4] were karyotyped¹⁵. Eight out of the 13 embryos had both XX and XY chromosome plates within the same sample, and XX chromosome plates were detected in the remaining 5 embryos. These results demonstrate that the parthenogenetic cells (containing only XX chromosome plates) could also contribute to the development of the aggregated embryos to the blastocyst stage, although the distribution rate could not be analyzed by this method.

In the mouse study, the postimplantation development of the parthenogenetic conceptus was restricted by the infrequent development beyond implantation and complete lack of the development beyond placentation¹⁶. The life and development of the parthenogenetically activated cells can be extended when chimeras were made between parthenogenetic and normally fertilized embryos^{8, 17, 18}. However, the contribution of the parthenogenetic cells to chimeras was low, and the total cell population was no more than 20%¹⁹. The survival and integration of the parthenogenetic cells in such chimeras might be largely influenced by the environmental conditions determined by the cells from the fertilized embryos. Although the exact nature of this environmental influence remains unclear, there is an evidence for metabolic cooperation between genetically diverse cell types through permeable junctions that enable metabolically deficient cells to function normally²⁰. Similar cellular interactions between parthenogenetic and fertilized cells may also ensure cooperation of parthenogenetic cells in normal development.

The present results indicate that chimeric blastocysts can be produced by aggregation between parthenogenetic and fertilized bovine embryos. In an attempt to increase the participation of the parthenogenetic cells within the aggregated embryos, 2 blastomeres obtained from an advanced stage (16-cell) parthenogenetic embryo were injected into the fertilized 4-cell embryo. The concept of this trial is that the more advanced stage blastomeres (from the parthenoge-

netic embryos) would contribute to the inner cell mass (ICM), and the less advanced blastomeres (from the fertilized embryos) would develop to the trophoctoderm^{21, 22}.

The next phase of this study is to examine the ability of these aggregated blastocysts to develop into a chimeric organism by transfer of the embryos to the recipients.

Acknowledgement

This research was financially supported by Grants-In-Aid for Scientific Research (No.08456160) from the Ministry of Education, Science and Culture, Japan and Sasagawa Scientific Research Grant from the Japan Science Society.

References

- 1) White WK (1978) Modes of speciation. San Francisco. W.H. Freeman, pp119-123
- 2) Nagy A, Rajki K, Bakos J, et al. (1979) Genetic analysis in carp (*Cyprinus carpio*) using gynogenesis. *Heredity* 43:35-40
- 3) Kaufman MH, Barton SC and Surani MAH (1977) Normal postimplantation development of mouse parthenogenetic embryos to the forelimb bud stage. *Nature* 265:53-55
- 4) Barton SC, Surani MHA and Norris ML (1984) Role of paternal and maternal genomes in mouse development. *Nature* 311:374-376
- 5) Solter D (1988) Differential imprinting and expression of maternal and paternal genomes. *Annu Rev Genet* 22:127-146
- 6) Barton SC, Ferguson-Smith AC, Fundele R, et al. (1991) Influences of paternally imprinted genes on development. *Development* 113:679-688.
- 7) Mann JR and Stewart CL (1991) Development to term of mouse androgenetic aggregation chimeras. *Development* 113:1325-1333
- 8) Steven LC, Varnum DS and Eicher EM (1977) Viable chimaeras produced from normal and parthenogenetic mouse embryos. *Nature* 269:515-517
- 9) Ware CB, Barnes FL, Maiki-Laurila M, et al. (1989) Age dependence of bovine oocytes activation. *Gamet Res* 22:265-275
- 10) Yang X, Presicce GA, Moraghan L, et al. (1994) Synergistic effect of ethanol and cyclohexamide on activation of freshly matured bovine oocytes. *Theriogenology* 41:395-403
- 11) Fukui Y, Sawai K, Furudate M, et al. (1992) Parthenogenetic development of bovine oocytes treated

- with ethanol and cytochalasin B after *in vitro* maturation. *Mol Reprod Dev* 33:357-362
- 12) Boediono A, Saha S, Sumantri C, et al. (1995) Development *in vitro* and *in vivo* of aggregated parthenogenetic bovine embryos. *Reprod Fertil Dev* 7:1073-1079
- 13) Boediono A, Takagi M, Saha S, et al. (1994) The influence of day 0 and day 7 superovulated cow serum during *in vitro* development of bovine oocytes. *Reprod Fertil Dev* 6:261-264
- 14) Boediono A, Ooe M, Yamamoto M, et al. (1993) Production of chimeric calves by aggregation of *in vitro* fertilized bovine embryos without zonae pellucidae. *Theriogenology* 40:1221-1230
- 15) Tarkowski AK (1966) An air drying method for chromosome preparations from mouse eggs. *Cytogenetics* 5:394-400
- 16) Kaufman MH (1983) Early mammalian development: Parthenogenetic studies. Cambridge Univ. Press, London, pp20-62
- 17) Steven LC (1978) Totipotent cells of parthenogenetic origin in a chimaeric mouse. *Nature* 276:266-267
- 18) Nagy A, Paldi A, Dezso L, et al. (1987) Prenatal fate of parthenogenetic cells in mouse aggregation chimeras. *Development* 101:67-71
- 19) Surani MHA, Barton SC and Kaufman MH (1977) Development to term of chimaeras between diploid parthenogenetic and fertilized embryos. *Nature* 270:601-603
- 20) Pitts JD and Burk RR (1976) Specificity of junctional communication between animal cells. *Nature* 264:762-764
- 21) Kelly SJ, Mulnard JG and Graham CF (1978) Cell division and cell allocation in early mouse development. *J Embryol Exp Morph* 48:37-51
- 22) Godke RA and Rorie RW (1993) Embryo microsurgery for large animals. In: Fishel S and Symonds M (eds), *Gamet and embryo micromanipulation in human reproduction*. Edward Arnold, London, pp155-164

(Received December 24, 1997)

(Accepted February 14, 1998)

牛単為発生卵と受精胚の集合によるキメリック胚盤胞の作出

山口大学大学院連合獣医学研究科

村上 正夫, 鈴木 達行

ポゴール農業大学獣医学科

A. Boediono

牛単為発生卵と受精胚の集合により、キメリック胚盤胞を作出した。単為発生卵は体外成熟卵母細胞を7%エタノール、サイトカラシンD(5mg/ml)で活性化し、その後38.5°C、5%CO₂条件下にて体外培養することにより得られた。受精卵に由来する胚は、卵母細胞を常法により体外にて成熟、受精、培養することで得られた。両者の集合胚は、以下の方法により作成した。

[1]単為発生卵(16細胞期)の割球2個を受精胚(4細胞期)に注入。[2]単為発生卵(8細胞期)の割球4個を同数の割球を含む受精胚(8細胞期)に注入。[3]受精胚(8細胞期)の割球4個を同数の割球を含む単為発生卵(8細胞期)に注入。[4]単為発生卵および受精卵由来の両胚(8細胞期)の全割球を集合。

これら集合胚の体外発生率は、全割球を集合(方法[4])した胚において、割球を注入(方法[1],[2],[3])したものに比べて、高い傾向がみられた。また、作出された集合胚盤胞の計13個について染色体検査を行ったところ、このうち8個においてXX,XYの両染色体が同一サンプル内に観察された。

以上の結果から、牛単為発生細胞は、上記の手法により作出した集合胚の胚盤胞形成に関与することが示唆された。

キーワード：単為発生卵、受精胚、集合胚、キメリック胚盤胞

(日不妊会誌 43:151-154 1998)

微細子宮鏡の特性を生かした新しい 卵管疎通性検査法の考案

New Test for Tubal Patency Using a Microhysteroscopy

東京医科大学産科婦人科学教室

岩城 妙子 小杉 好紀
Taeko IWAKI Yoshinori KOSUGI
井坂 恵一 高山 雅臣
Keiichi ISAKA Masaomi TAKAYAMA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tokyo Medical College, Tokyo 160-0023 Japan

都立大久保病院産婦人科

高田 淳子
Junko TAKADA

Department of Gynecology,
Tokyo Metropolitan Ohkubo Hospital, Tokyo 160-0023 Japan

本研究は、卵管内カテーテル挿入を主目的とした ϕ 2.7mmの微細子宮鏡を使用したより簡便な卵管疎通検査の考案を目的とし、従来のHysterosalpingography (HSG)法と比較、検討したものである。不妊外来初診患者27人に対し、①微細子宮鏡にて子宮内観察 ②同子宮鏡下選択的卵管内カテーテル挿入 ③油性造影剤注入 ④子宮鏡抜去後立位正面骨盤部単純X線撮影 ⑤透視下HSGを順次同日に施行した。本子宮鏡は微細径ではあるが卵管口の確認だけでなく子宮内病変のスクリーニング的観察も可能であった。27人54卵管中卵管口確認不能2卵管を除く52卵管にカテーテル挿入と油性造影剤注入を行った。卵管閉塞所見のひとつである造影剤の子宮内逆流は子宮鏡画面上明確に確認された。また逆流なく一定量の油性造影剤が注入可能な留水腫を呈す例も、その後撮影した単純X線上留水腫様pooling像の存在で見落としなく診断可能であった。一方卵管通過例では同X線上、腹腔内に流出した子宮鏡灌流水と油性造影剤が形成する二層像が認められた。これらの結果を総合した本法診断と本法施行後HSG診断を比較したところ52卵管中47卵管90.3%が一致した。微細子宮鏡による卵管内カテーテル挿入の簡易さに加え、透視下でなくとも一枚のX線写真の追加により多くの情報を得られる本法は卵管疎通ルーチン検査として有効と考える。

キーワード：微細子宮鏡、選択的卵管造影、二層像、pooling像

(日不妊会誌 43:155-164 1998)

緒 言

最近の不妊治療の進展はめざましく、その妊娠率は著しく向上している。とくに不妊症原因の中で40%と高い割合を占める卵管因子¹⁾に関する治療法の

発達が不妊症治療の向上に大きく貢献しているといえる。その中でも、体外受精-胚移植、マイクロサージェリーは画期的な治療法として飛躍的に普及した。それゆえ元来の適応からはなれ、一足飛びにこれらの治療に進む例が増えているが、一方で患者の精神

的、肉体的、経済的負担も増大しているのもまた事実であり、近年その適応をもう一度見直そうという方向にきている。そのためにはより正確に卵管障害の状態を把握し、その病態にあった治療法を選択しなければならない。しかし、卵管不妊を診断する検査法としては、最近選択的卵管造影法²⁾や腹腔鏡³⁾、卵管鏡⁴⁻⁶⁾に至るまで数多く報告されてはいるが、まだまだ一般的ではなく、卵管疎通性検査の第一選択としてルーチン化されたものとしては、子宮卵管造影 (HSG) にたよるのが現状である。HSGは卵管の疎通性を知るうえで不可欠な検査ではあるが、近年その診断には限界があるといわれている⁷⁾。HSGによって卵管閉塞と診断される症例の中には、機能的な閉塞や回復可能な閉塞が多く含まれること、とくに腹腔鏡下に卵管疎通検査を再検すると、20~30%に診断の不一致が認められることなどから⁶⁾ HSGでの閉塞所見が必ずしも真の閉塞を示していないことが明らかにされてきた。しかしながら、第一選択としてHSGにとってかわる様な卵管疎通検査法は今のところ出現していない。

一方、子宮内病変を詳細に観察することが可能な子宮鏡の発達もまためざましく、HSGによって子宮内異常の情報を得る必要性はもはやなくなってきた。また卵管口を直接観察できる事で同時に選択的卵管疎通検査も可能となり、加えて経頸管的切除術 (TCR) により粘膜下筋腫、内膜ポリープを積極的に除去する事が妊娠率を明らかに上昇させるとの報告がある⁸⁾。従って不妊症患者のルーチン検査として子宮鏡検査は充分意義があると思われる。

しかし、現在子宮内観察を目的として使われている子宮鏡は、外径が3~5mmのものが多く、対象とされる原発性不妊症、子宮・頸管發育不全、極端な頸管狭小等の不妊患者全例に施行するにはいささか外径が太すぎ、患者への侵襲も大きく、ルーチン検査には適さないと思われる。

我々は卵管内カテーテル挿入をその主目的とした、外径わずか2.7mmの東京医大式微細子宮鏡を1993年に開発した⁹⁾。本研究ではこの微細子宮鏡を使用し、不妊症患者の卵管疎通性に対するルーチン検査として、HSGの限界を可能な限りカバーし、同時に多くの情報が得られ、より簡単で患者の負担の少ない方法を考案し、その結果と意義について検討した。

方 法

今回使用した微細子宮鏡は卵管内カテーテル挿入を主目的とし、現在までに広く使用されているオリ

ン(仕様)

挿入長 (有効長) 200mm 外径 2.7mm φ
 イメージガイド 8000画素 視野角 70度
 首振り角度45度 ワーキングチャンネル径 0.85mm φ

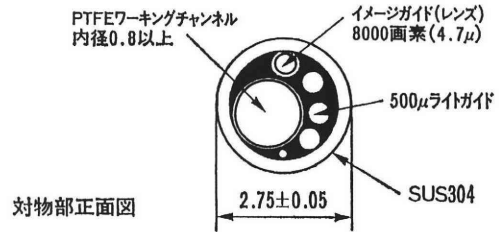
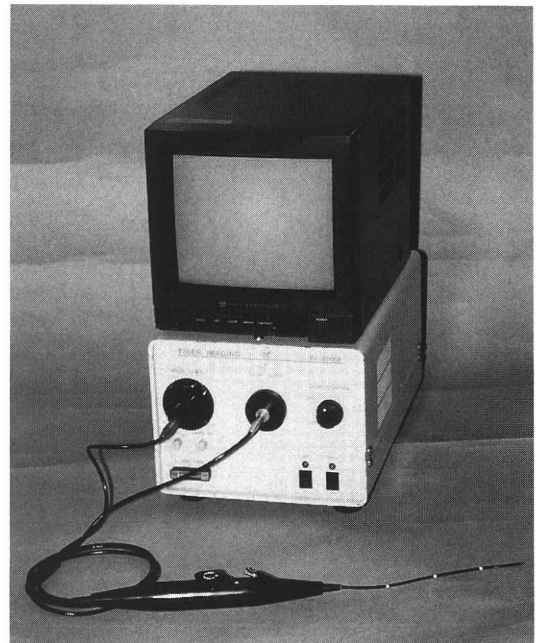


図1 微細子宮鏡の仕様



パス社子宮鏡およびJansen Anderson Intratubal Transfer (cook社)の長所を取り入れた新しい子宮鏡として、1993年メディカルサイエンス社の技術提供を得て、我々東京医大産科婦人科学教室が開発したものである。図1に微細子宮鏡の仕様を、写真1に本体を示す。この微細子宮鏡を用いて以下の手順で本検査を行った。

1. まず生理的食塩水 (生食水) で子宮内を灌流させながら (水圧は200mmHgをこえない) 本子宮鏡にて頸管、子宮腔内の観察をする。粘膜下筋腫、内膜ポリープなどの腫瘍、子宮奇形 (双角、弓状子宮等)、子宮内膜異常の有無をチェックする。その後子宮底までスコープをすすめ、左右にスコープ

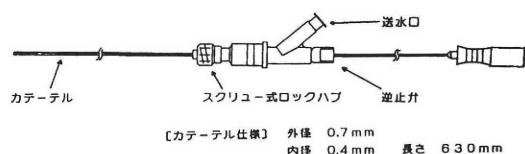


図2 HIT チューブ (FS-HS-630-T) の仕様

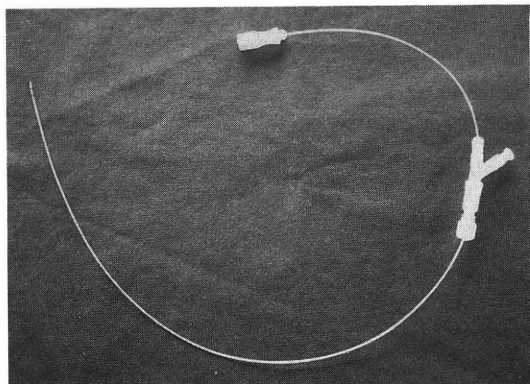


写真2 HIT チューブ (FS-HS-630-T)

の先端の角度を変えて両側卵管口を確認し、その形状を観察する。

- 次にあらかじめ子宮鏡のワーキングチャンネルにセットしておいた、外径0.7mmのガイドワイヤー付き HIT チューブ (FS-HS630-T:北里サプライ) (写真2, 図2) を卵管口より約1~1.5cm挿入し、ガイドワイヤーを抜去した後、2.5ccのディスプレイ注射器を使用して、油性造影剤 (リピオドールウルトラフルイドR) を一側卵管につき約2mlずつ注入した。この際、膜様閉鎖や卵管口付近のポリープ、粘液栓等の障害物は可能な限りつき破ったり、おし上げたりの操作をし、確実に卵管内へカテーテルを挿入した。また、卵管穿孔を防ぐため、卵管口より1~1.5cmの挿入にとどめた。油性造影剤注入時はその抵抗の有無、逆流の有無を随時確認しながら操作を行った。これらの操作を左右卵管について行った後、すみやかにカテーテル、子宮鏡を抜去した。
- その後患者をX線撮影室に歩行移動させ、造影剤注入約10~20分後の一定時間内で、立位正面骨盤部単純X線を撮影した。
- 最後に透視下で通常のHSGを油性造影剤にて施行し、症例の必要性に応じて、24時間後に立位正面骨盤部の終末撮影を行った。HSG後3日間の抗生剤を投与して、帰宅させた。また腹腔内癒着の疑われる症例に対しては、可能な限り腹腔鏡検

査を施行し、本法による診断と比較した。

対 象

東京医大産婦人科不妊外来を1996年11月から1997年3月までに挙児希望で来院した初診の症例27人 (54卵管) に対し月経終了後から次の排卵までの期間 (増殖期) に本検査を施行した。

症例27人中、HSG未検例10人、他医施行HSGにて卵管閉塞、および読影不明と診断された症例が17人 (24卵管) であった。他医施行によるHSG上卵管閉塞と診断された閉塞部位のうちわけは、近位卵管閉塞 (間質部) 14卵管、遠位卵管閉塞 (膨大部、卵管采、卵管留水腫) 4卵管、手術切除後卵管2卵管であり、2症例4卵管についてはHSG施行するも疼痛、脈管系造影剤流出等で検査を中断し、診断がつかないものであった。またこれら17人中、片側卵管切除例1例を含む計5人が前医にて両側卵管閉塞の診断を受けていた。対象者年齢は26歳~42歳で平均32.8±3.8歳 (平均±標準偏差) であり、不妊期間は1.5年~11年で平均4.0±2.8年であった。

結 果

1. 子宮鏡所見

対象27人中12人 (44.4%) に何らかの子宮腔内異常所見を認めた。頻度的には内膜ポリープ、内膜増殖症、子宮筋腫が多く認められたが、双角子宮や乳頭状腫瘍の例も存在し、本子宮鏡下に異常所見を認めた例は、オリンパス社子宮鏡にて再検することを原則とした。

さらに卵管口とその周辺の観察も行った。対象54卵管口中正常型である卵円型は35卵管口 (64.8%) であり、周囲の陥没はみられるが、卵管口は膜様閉鎖および狭窄を示すもの7卵管口 (13.0%)、周囲の陥没がなく卵管口が小円型に狭窄した点状型は6卵管口 (11.1%)、周囲の陥没もなく卵管口不明あるいは完全閉鎖と思われるものが4卵管口 (7.4%) であった。また、卵管口近傍にポリープを認め、卵管口をふさいでいた例が2例 (3.7%) あった。

2. 卵管内カテーテル挿入術

卵管口を最終的に確認できなかった2卵管 (3.7%) を除き、52卵管 (96.3%) に対して卵管内カテーテルを挿入した。その中で容易に挿入可能だったものが41卵管 (78%)、他の11卵管に関しては膜様閉鎖突破あるいは卵管口確認不能でもその位置を推定し盲目的に挿入した例、周囲ポリープをおしよけて挿入した例、点状卵管口のため挿入が困難であった例

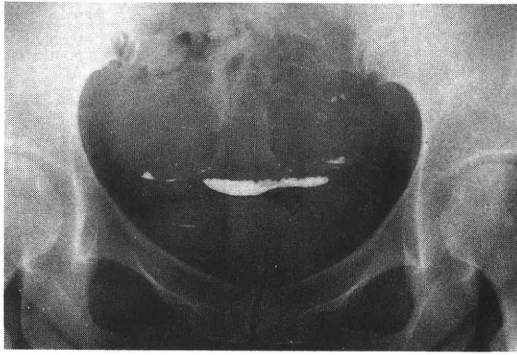


写真3 二層像

等カテーテル挿入操作に多少の配慮が必要だったものであるが、いずれにしても高度な技術を要するものではなかった。

3. 油性造影剤注入

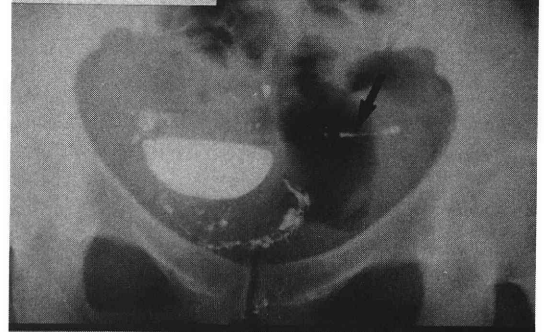
今回使用したHITチューブは外径0.7mmと非常に細く、かつ油性造影剤は粘稠度が高いため容量2.5ccのディスプレイ注射器を使用してもその注入にはかなりの圧を必要とした。従って、状況によって注入圧を加減することは困難であり、一定の圧で注入が不能の状況を抵抗ありと判断し、抵抗出現時期も明らかなものに関しては検討した。抵抗なく注入可能だった例は33卵管(63.4%)、初期抵抗のみありその後難なく注入可能であった例は11卵管(21.1%)、油性造影剤少量注入後に抵抗が現れた中期出現例は5卵管(9.6%)、終始抵抗のため油性造影剤注入が全くできなかった注入不可例は3卵管(5.8%)存在した。

同時に油性造影剤逆流の有無を観察した。子宮鏡使用時の生食水灌流液で子宮内腔が満たされているため、油性造影剤の逆流は画面上油滴の出現として明確に確認された。逆流なく一定量の油性造影剤が注入可能だった例は33卵管(63.4%)、注入初期のみ少量の逆流を認めた例は5卵管(9.6%)、注入中期より逆流が出現した例は11卵管(21.1%)、注入のほぼすべてが逆流した例は3卵管(5.8%)であった。

4. 立位正面骨盤部単純X線撮影所見

次に立位正面骨盤部単純X線を撮影した。子宮鏡抜去後、患者に軽く身支度をさせ、X線撮影室まで歩行移動させてX線撮影をするのに必要な時間は多少の待ち時間を考慮しても平均10～20分であった。予備実験的に透視下で卵管造影を行い、5分後、10分後、15分後の立位X線を撮影したところ、通過卵管では造影剤が瞬間的に腹腔内に流出し、卵管内に残存することはないため、造影剤注入後の経過時間

立位単純撮影



HSG

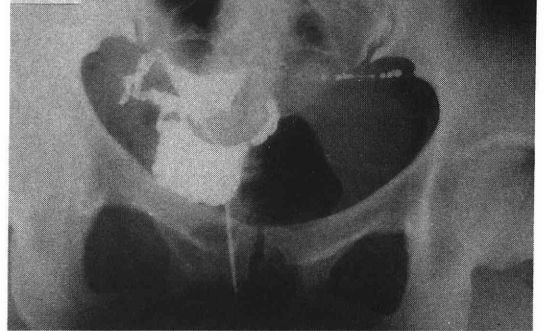


写真4 直線状pooling像(矢印)
(上;立位単純撮影,下;HSG)

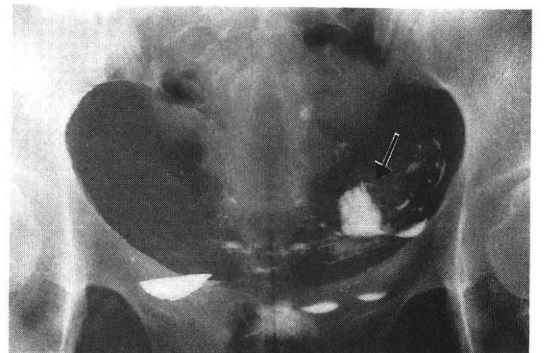


写真5 膨大部状円形pooling像(矢印)

が5～30分間の範囲内では時間差による所見に影響を及ぼす事はないと思われた。X線所見上重要なポイントは以下に示す2点である。

(1) 二層像

今回、撮影条件を考えるにあたり、卵管通過例では子宮鏡灌流水(生食水)と油性造影剤という比重の異なる2つの液体が腹腔内に流出する事に着目し、これらが患者体位を立位にすることによって骨盤底部に分離してたまる事を推定して立位単純X線撮影と定めたところ、造影剤注入が良好に行えた例のほ

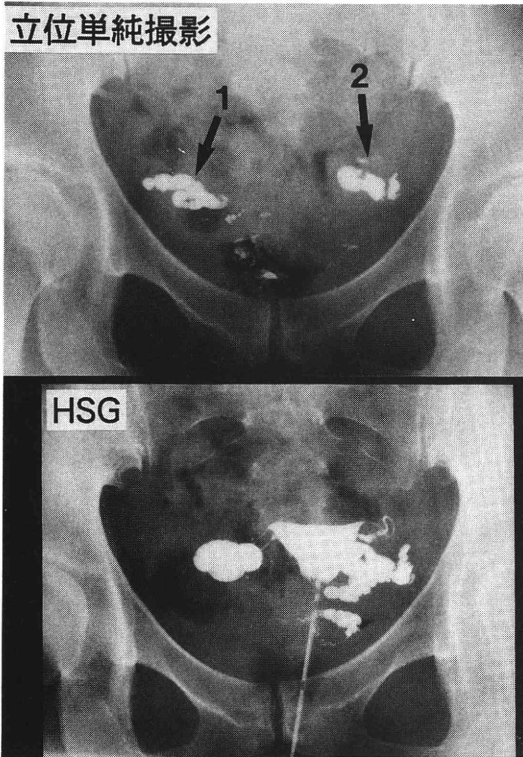


写真6 腸詰状 pooling 像 (矢印1, 2)
(上; 立位単純撮影, 下; HSG)

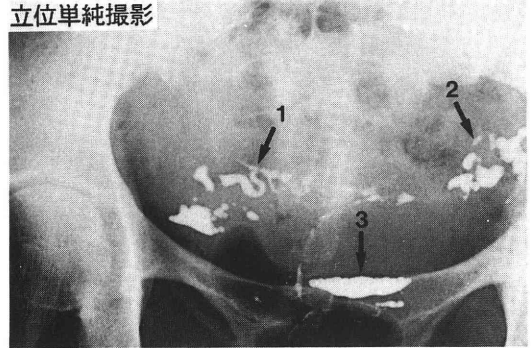


写真7 不整形 pooling 像 (矢印2)
(矢印1: 蛇行曲線状 pooling 像)
(矢印3: 二層像)

記載上これを二層像と名付けた。疎通性の程度、油性造影剤注入量によって像の大きさに違いはあるものの、この二層像は対象27人中両側卵管完全閉塞例1例を除く26人に認められた。

(2) 造影剤 pooling 像

今回対象中認められたpooling像の形態は、(a)卵管周囲癒着による卵管内造影剤停滞に伴う直線状および蛇行曲線状pooling像; 2卵管、(b)卵管留水腫による卵管内造影剤貯留に伴う膨大部状円型pooling像および腸詰状pooling像; 6卵管、(c)腹腔内癒着に伴う不整形pooling像; 2卵管であり、(a)~(c)のpooling像の写真をその後施行したHSGと比較し、写真4.5.6.7に示す。

5. 本法診断基準の作成

表1. TYPE 別本法診断基準の作成

TYPE	本法診断基準
〈TYPE I〉 卵管通過例	*1. 抵抗・逆流なく一側2ml以上の油性造影剤が注入可能 *2. X線撮影上顕著な pooling 像を認めず、腹腔内に広がる二層像を認める。
〈TYPE II〉 間質部閉塞例	1. 抵抗が強く、油性造影剤注入不可あるいは注入の全てが逆流する。 2. X線撮影上造影剤 pooling 像を認めない。
〈TYPE III〉 卵管内腔癒着例	1. 油性造影剤注入中より発現する抵抗、逆流を認める。 2. 卵官周囲癒着のない例ではX線撮影上造影剤 pooling 像として残存する事はほとんどない。
〈TYPE IV〉 卵管采・卵管周囲癒着例	1. 少量の油性造影剤が抵抗・逆流なく注入可能だが、その後造影剤注入の抵抗、逆流を認める。 2. X線撮影上、不自然な直線状、曲線の蛇行状 pooling 像を認める。
〈TYPE V〉 卵管留水腫例	1. 注入中より抵抗、逆流が出現する。あるいは2ml以上の油性造影剤が抵抗、逆流なく注入可能。 2. X線撮影上膨大部限局型では円形 pooling 像を、広範囲型では腸詰状 pooling 像を認める。

*1. 造影剤注入所見

*2. 立位X線所見

とんども写真3の様にニボーを逆転させた如き像を呈した。境界面には小球状の層を伴う事も多いが、

表2. 本法と本法施行後HSGにおける診断効果の比較

TYPE別 診断基準	本法診断		本法施行後HSG診断	
	卵管数	%	卵管数	%
TYPE I	39	75	34	65.4
TYPE II	3	5.8	8	15.4
TYPE III (手術切除例)	2	3.8	2 (手術切除例)	3.8
TYPE IV	2	3.8	2	3.8
TYPE V	6	11.6	6	11.6

以上の本法の特徴、結果を総合し、本法によるTYPE別診断基準を表1の如く定めた。卵管障害の部位と閉塞形態により、TYPE I：卵管通過例、TYPE II：間質部閉塞例、TYPE III：卵管内腔癒着例、TYPE IV：卵管采、卵管周囲癒着例、TYPE V：卵管留水腫例にTYPE分けをした。そして1)子宮鏡下選択的卵管内造影剤注入の抵抗・逆流の状態、および2)その後の立位正面骨盤部単純X線所見の2つの指標から得られる結果を総合し、本法診断基準を作成した。この診断基準に基づいて、今回本法を施行した52卵管を診断したところ、TYPE I：39卵管(75%)、TYPE II：3卵管(5.8%)、TYPE III：2卵管(3.8%)、TYPE IV：2卵管(3.8%)、TYPE V：6卵管(11.6%)の結果を得た。2種類以上の卵管障害が合併している場合は、所見がより著明であるTYPEへ分類した。

6. 本法診断と本法施行後HSG診断の比較

上述した本法診断と本法施行後HSG診断とを比較し、表2に示した。ここで本法施行後HSGとは、本法による選択的卵管疎通術施行後を意味する。今回本法を施行した52卵管のうち、本法施行後HSGとの診断が一致したのは47卵管(90.3%)であり、表2に示すように、TYPE II(間質部閉塞例)の5卵管を除き、本法は本法施行後HSGとほぼ同等の診断効果を示した。

7. 本法診断と本法施行前HSG診断の比較

本法施行前の他医によるHSGにおいて、手術切除例2卵管を除き閉塞と診断された症例が、今回対象中18卵管存在した。この18卵管に対し、本法を施行したところ通過性が確認されたのは近位卵管閉塞例で14卵管中11卵管(78%)、遠位卵管閉塞例で4卵管中1卵管(25%)であり、とくに近位卵管閉塞例において本法は高い治療効果を示した。また本法施行前HSGにおいて、疼痛および造影剤脈管流出等での検査中断を含む診断不能例4卵管に対して本法を施行したところ、4卵管すべてに通過性を確認し本法は高い診断効果を示した。

考 察

卵の取り込み、受精、着床が起こる子宮・卵管はまさに妊娠が成立するために重要な臓器であることはいうまでもない。従ってこの部位での病変が女性側不妊原因を占める割合も高く約40%であるとされる。その形態的病態を解明すべく、近年の医療器械の発達はめざましいものがあり、子宮鏡、腹腔鏡、卵管鏡等新しい器械の開発も積極的に進められている。また、各種の選択的卵管内カテーテル挿入術の進歩により、その診断治療効果はHSGに比して明らかに高いものであることは誰もが認めるところとなった。それに伴いHSG診断法が再評価され、HSG上の閉塞所見が必ずしも真の閉塞を示していないとの報告が数多くみられるに至った⁷⁾。しかしながら卵管疎通検査の第一選択をいまだHSGに頼らなければならない最大の理由は、卵管内カテーテル挿入という操作に特殊な技術を要するからであろう。

そこで本研究では卵管内カテーテル挿入を主目的とした微細子宮鏡を開発し、不妊患者に応用すると共により簡便な卵管疎通検査の考案を目的とした。そして、頻用されているHSGと比較検討し、この卵管疎通法の評価を行った。

1. 微細子宮鏡の特徴と不妊患者に対する有用性

今回使用した微細子宮鏡についての詳細は既に当教室高田らにより報告されている。その特徴としてはまず外径2.7mmの微細径のため挿入が非常にスムーズであり、未産婦やピンホール様の外子宮口を示す症例においても、子宮ゾンドを挿入するが如くに容易である点である。また、卵管内カテーテル挿入を主目的として開発した本子宮鏡の最大の特徴は、オリンパス社子宮鏡ではワーキングチャンネルがセンターよりはずれた位置に存在するため観察画像とカテーテルの方向性にずれを生じるのに対し、本子宮鏡はワーキングチャンネルとイメージガイドが同軸に近く配置してあるため、まっすぐにカテーテルを送り出せることであり、画像の中央に卵管口を写し出しさえすれば、特殊な技術を必要とすることなく、誰でも簡単に卵管内カテーテル挿入が可能な点である。実際、本対象54卵管中卵管口を確認できた症例においてはほぼ全例に確実に卵管内カテーテル挿入が施行された。しかもここまでの操作がスムーズに行われた症例ではほとんど痛みの訴えはない。さらに本子宮鏡のもう一つの利点は機器全体が大変コンパクトである事で、画面、光源を合わせても経腔超音波器と同様のスペースで充分おさまるため、

本検査をするにあたって特別な場所を用意する必要がない。我々は不妊外来診療で、本子宮鏡を診察室に常時準備し、内診と経腔超音波検査に続きそのまま内診台で子宮鏡検査をルーチンに実施している。

また、8000画素のイメージガイドを持つ本子宮鏡は、目的とする卵管口の確認には必要にして十分以上の画像を得ることが可能であり、子宮内病変のスクリーニング的観察も可能である。

最近子宮鏡の卵管口所見と卵管疎通性との関連を検討した報告がみられるが¹⁰⁾、今回子宮内スクリーニングと同時に卵管口およびその周辺の観察も行ったところ、本子宮鏡でもかなり詳細な所見が得られることがわかった。とくに卵管口をふさぐ形でポリープが存在し、HSG上間質部閉塞の像を呈す例など本子宮鏡の使用によっても近位卵管の通過障害が器質的であるか否か、またその原因も診断することが可能である。

2. 卵管内カテーテル挿入術および油性造影剤注入

次に、卵管内カテーテル挿入術を施行するにあたっては、可能な限り膜様閉鎖をつき破ったり、ポリープ等の障害物をおしよけたりしながら、確実にカテーテル挿入術を行ったが、この操作は同時に間質部膜様閉塞例の有効な治療となる。

そしてひき続き粘稠度の高い油性造影剤を注入することにより、さらに治療効果は上昇する。この時の卵管内圧はHSGに比べ数倍(500～600mgHg)となりうることを報告されている⁷⁾。疎通性の点だけから述べれば、正常の疎通性があるか否かは、油性造影剤注入時の抵抗、および逆流の有無である程度判定が可能である。また通常健全な卵管において腹腔内に流出するのに必要な造影剤は一側1mlに満たない^{11,12)}ことを考えれば、注入開始から抵抗・逆流の発現した時期および油性造影剤注入量によっておおまかな閉塞部位の想定も可能と考える。しかし、施行例すべてにおいて抵抗・逆流の発現時期を正確に数量的にとらえる事は困難で、とくに抵抗の有無は感覚的判断にすぎない。その点、本法ではこの後のX線撮影による情報も得られるため、造影剤注入所見の見落としや判断ミスはカバーされると思われる。その中で唯一TYPE IIIの様に卵管内腔癒着のみで卵管周囲癒着を伴わない例では、X線撮影上卵管内pooling像が残存する事はほとんどなく、その診断を油性造影剤注入時の抵抗と逆流のみ判断しなければならない。よってTYPE IIIの診断こそが透視下で施行しない本法のHSGに劣る最大の弱点であり、TYPE IIIを疑う例においては、閉塞部位も含め

透視下での確認が必要である。しかしながら、TYPE IIIで多いのは、卵管内の可逆的な塞栓、膜状癒着であり¹³⁾、卵管鏡下卵管形成術(FT)法^{14,15)}やマイクロサージェリーの適応となる様な強固な閉塞以外は本法によって開通されている例も多い。その開通成績は60～70%と報告されている¹⁶⁾。今回対象中本法および本法施行後のHSGの結果手術切除例2例を除き、TYPE IIIに属する症例はみられなかった。

一方、油性造影剤注入までの過程でHSGに比し選択的卵管造影の利点は、子宮を造影剤で充滿させることなく、直接卵管を造影することから、造影剤の使用量を減少させ、造影剤の持つ種々の副作用を最小限におさえ、また子宮自体の過伸展による疼痛がないため、患者の苦痛を大幅に軽減することが可能である。実際に今回対象者中、とくに卵管閉塞例患者は、HSG施行時に比べはるかに苦痛は少なかったと述べている。さらに、機能的子宮収縮、卵管のspasmによる偽りの閉塞所見にまどわされることもなく、造影剤脈管系流出や患者の極度の疼痛により検査を中断する必要はない。

3. 立位正面骨盤部単純X線撮影所見

今回考案した卵管疎通検査法におけるもう一つの特徴は、微細子宮鏡下卵管カテーテル挿入術+油性造影剤注入にひき続き施行した立位骨盤部単純X線撮影である。これに関しては、一般外来で油性造影剤注入まで終了した患者をX線撮影室まで歩行移動させ、油性造影剤注入後平均10～20分経過した後、立位で骨盤部の単純撮影を行うという極めて簡易な検査を一つ追加することにより、想像以上に多くの情報を得ることができた。

(1) 二層像

子宮鏡使用時の灌流液(生食水)が、卵管通過例ではすでに腹腔内に流出しているところへ、油性造影剤の腹腔内流出が加わると、患者体位を立位にすることによって、水と油の分離構造を作成する。実験的に、生食水を入れた試験管に、油性造影剤を滴下させると、生食水より比重の重い油性造影剤は下層に沈み、上層の生食水との境界面には油滴が残存する二層像を作成した(写真8)。従って腹腔内に流出した水と油はレントゲン室への歩行移動により体動が加わった立位の状態で、強固な腹腔内癒着が存在しなければ、主にダグラス窩あるいは仙骨子宮韧带周囲等、骨盤底部にたまりX線上このような境界面に小球状の像を伴う二層像を示すものと考えられる。

(2) pooling像

a) 膨大部状円型pooling像および腸詰状pooling像

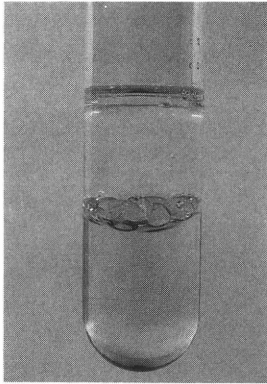


写真8 実験的二層像の作成
(上層：生食水層)
(下層：油性造影剤層)

最も明らかな pooling 像は遠位卵管閉塞に伴う留水腫の症例でみられる。子宮鏡下で一定量の油性造影剤が抵抗、逆流なく注入可能な例においても、すべてが卵管通過例とは限らない。しかし本法ではX線上膨大部状の円型 pooling 像、または広範囲に広がる腸詰め状 pooling 像の存在によって留水腫の見落としは避けられるので、全行程を透視下で行う必要はない(TYPE V)。

b) 直線状および蛇行曲線状 pooling 像

成書によれば、卵管采部癒着は卵管障害のうち高率にみられ、卵管采が子宮、卵巣、腸、腹膜などに癒着している例であるが、卵管の疎通性はある程度保たれ完全に卵管采が閉塞していない場合が多いとされている。完全に閉塞されると卵管留水腫となるが、これら遠位卵管閉塞、狭窄例は高率に卵管周囲癒着も合併しており、完全閉塞に至らず疎通性が保たれている例においても卵管周囲の強固な癒着のため、造影剤を容易に排出することができない。従って卵管内に造影剤が留まり HSG follow up film 上不自然な直線、曲線の蛇行を示す卵管内造影剤停滞像により診断可能といわれている。本法においても造影剤注入後 10～20 分経過した健常卵管になお造影剤が留まっている例はなく、X 線上直線状 pooling 像、蛇行曲線状 pooling 像の存在で同様の診断は充分可能であると思われる(TYPE IV)。

c) 不整形 pooling 像

さらにもう一つの pooling 像の形態が、腹腔内癒着に伴う不整形の pooling 像である。写真7に示す症例は両側の卵管内カテーテル挿入+油性造影剤注入は比較的 smooth に行われたが、X 線上右側に前述した蛇行曲線状 pooling 像が認められ、その周囲と左

側に腹腔内癒着を思わせる不整な pooling 像が多く認められる。しかし、骨盤底部の二層像の存在から疎通性はある程度保たれていると思われる。

この症例は子宮内膜症の診断で長期にわたり薬物治療を受けていたが、本法検査後、腹腔鏡下癒着剥離術と仙骨子宮靭帯切断術(LUNA:laparoscopic utenosacrol nerve ablation)を本院にて施行した。その時の術中所見およびインジゴカルミン色素通水試験と本法による pooling 像より得た診断はおおむね一致した。

4. 本法と本法施行後 HSG における診断効果の比較

そして今回我々は本法施行後、引き続き通常の HSG を透視下にて行い、両者の診断を比較した。診断の一致率は卵管あたり 90.3% と高いものであったが、これはあくまでも本法施行後の HSG 所見との比較であり、もし施行順序が逆であったなら HSG 上閉塞例が本法では通過例であったという不一致例はかなり存在したと思われる。その理由としてはまず、膜性癒着等の可逆的な閉塞は本法により解消されてしまうこと、次に事前に本法施行による結果を得ているので HSG の結果も予測でき、造影剤の量、注入圧の加減により一見閉塞かと思われる例も最終的には通過が認められたというものも多く、このあたりが HSG の盲点ともいえよう。加えて、子宮鏡使用時の灌流液の存在で油性造影剤の腹腔内流出が明確に確認できたというメリットもあった。

その中で、本法と本法施行後 HSG の診断が一致しなかった一例は、写真9の様に、卵管口をふさいでいたポリープをよけてカテーテルを挿入し、本法では通過卵管(TYPE I)と診断したが、HSG では間

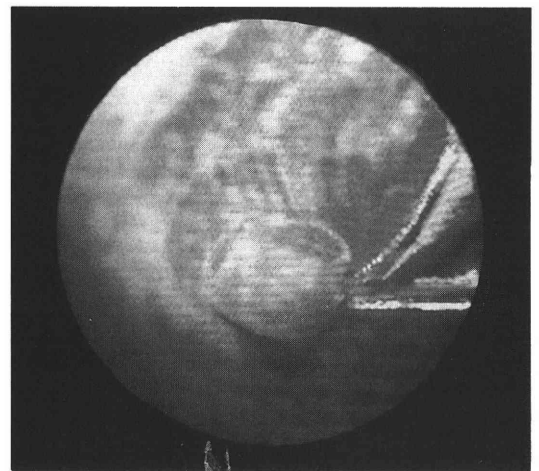


写真9 ポリープをよけてカテーテル挿入した一例

質部閉塞 (TYPE II) の像を呈した症例で、これはポリープが弁状に卵管口をふさぐcheck vulve作用と考察された。この様に本法は近位卵管閉塞の原因鑑別も可能といえる。その他に左右卵管疎通性の違いにより通過性不良側の卵管はHSG上間質部閉塞と診断した例、本法による造影剤高圧注入でのみ通過可能であった例、HSGでは疼痛のため間質部より先の造影剤通過を確認する前に検査を中断した例などの不一致例について考察すると、間質部閉塞の診断において、直接選択的卵管造影をする本法と子宮を介して卵管疎通検査をするHSGとの違いが最も明かといえる。

最後に、本法とHSGを比較し、表3に示した。

今回27症例に本法とHSGを自ら施行し、昔ながらに行なわれているHSGはその術者によっても結果が異なる可能性が大きいと思われた。複雑な手技で患者に必要以上の疼痛を与えた場合、または疎通性不良例における検査終了の判断の違い等で実際は通過例であるにもかかわらず、閉塞例と診断される例は想像以上に多いと思われ、我々が慣れ親しんだHSGも細心の注意をはらって行われるべきだと考える。それでも、今回指摘した如くHSGの限界は実際に存在し、それをカバーすべく考案した本法は一般外来の内診台で手軽に施行でき、卵管口さえ確認できれば誰でも簡単に卵管内カテーテル挿入が可能な微細子宮鏡を用いた選択的卵管造影をすると共に単純

X線写真一枚を追加する事で、HSGと同様な診断価値を持ち、同時に治療効果も高く、なおかつ子宮腔内観察のスクリーニングも可能である。そして何より患者への肉体的侵襲が少ないことを考えあわせると、不妊患者の新しい卵管疎通性検査として、充分意義のあるものと考えられる。また、今回使用した微細子宮鏡は、その特徴から不妊患者に対して高い有用性を持ち、さらに卵管内catheterizationの応用として今後種々の不妊検査、治療への利用も可能と思われる。

文 献

- 1) 鈴木秋悦編集(1995)「卵管」. 南山堂出版 3:138-139
- 2) Thurmond AS and Rosch J(1990) Nonsurgical fallopian tube recanalization for treatment of infertility. Radiology 174:371-374
- 3) 小林善宗 他(1983) 不妊患者235例の腹腔鏡所見. 日不妊会誌 28:213-220
- 4) Kerin J, Anderson R, Dayhovskiy L, et al.(1990) Falloposcopy: a microendoscopic technique for visual exploration of the human fallopian tube from the uterotubal ostium to the fimbria using a transvaginal approach. Fertil Steril 54:390-400
- 5) Herschlag A, et al.(1991) Salpingoscopy: light microscopic and electron microscopic correlation. Obstet Gynecol 77:399-405
- 6) 河上征治, 澤田富夫(1993) 卵管手術における卵

表3. 本法とHSGの比較

	HSG	本 法
子宮腔内の把握	レントゲン上ある程度可能	直接観察可能
卵管口の観察	不可	可能
閉塞原因の鑑別	不可	近位卵管閉塞において可能
患者の疼痛	造影剤子宮充満による子宮過伸展痛が強い	卵管通過例ではほとんどなし
造影剤の量	cL* + 2(cL-7) ml	一側約2ml
放射線被曝量	多**	極少量*** (術者は被曝なし)
治療効果	ある程度可能	HSGの数倍の卵管内圧
spasm. contractionによる偽陽性例	有	無
子宮内因子による偽陽性例	有	無
疎通性の左右差による偽陽性例	有	無
造影剤脈管系流出および疼痛による検査の中断	有	ほとんど無

* cLは子宮腔長

** 本大学における生殖腺放射線組織線量当量透視1分間あたり0.85mSV

1回のHSGにおいて平均透視時間1~3分、終末撮影を含みX線写真3枚とすると総量1.25SV

*** 骨盤部X線写真1枚あたり0.13mSV

- 管鏡の意義. マイクロサージャリー会誌 6:24-36
- 7) 長田尚夫(1994) 選択的卵管造影の実際. 産婦治療 67:425-434
- 8) 前田隆義 他(1994) 女性不妊におけるヒステロスコピーの治療と成績. 産婦世界 46:425-434
- 9) 高田淳子, 高山雅臣 他(1993) Tubal Catheterizationを目的とした新型子宮鏡の開発. 産婦実際 42:1905-1908
- 10) 神山茂 他(1997) 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. 日不妊会誌 42:1-4
- 11) Weisman AI(1972) The volumetric capacity of human mulliparous uterus. Am J Obstet Gynecol 112:138-143
- 12) Franco Junior JG, et al.(1992) Rudiologic evaluation of incremental intrauterine instillation of contrast material. Fertil Steril 58:1065-1067
- 13) Sulak pJ, et al.(1987) Histology of proximal tubal occlusion. Fertil Steril 48:437-440
- 14) Kevin J, Dayhhousky C, Grunctfest W, et al.(1990) Falloposcopy : a microendoscopic transvaginal technique for diagnosing and treating endotubal disease incorporating guide-wire cannulation and direct balloon tuboplasty. J Reprod Med 35:606-612
- 15) 末岡浩 他(1995) 新構造の卵管鏡システムを用いた卵管形成法の操作技術と適応についての考察. 日不妊会誌 40:98-103
- 16) 佐久本哲郎 他(1994) ラパロスコープ. 産婦世界 46:413-416

(受付: 1998年1月9日)

(受理: 1998年3月18日)

New Test for Tubal Patency Using a Microhysteroscope

Taeko Iwaki, Yoshinori Kosugi, Keiichi Isaka and Masaomi Takayama

Department of Obstetrics and Gynecology
Tokyo Medical College, Tokyo 160-0023, Japan

Objective and method: We compared a new test for tubal patency using a microhysteroscope (MHFS) to the conventional HSG method. Using the MHFS, 1) intrauterine observation, 2) selective intra-tubal catheterization, 3) oily contrast medium injection, 4) plain frontal pelvis roentgenography, and 5) HSG were sequentially conducted in 27 patients. **Results:** Image quality sufficient to screen intrauterine lesions could be obtained with the new method. Catheterization and oily contrast medium injection were undertaken into 52 of 54 uterine tubes of the 27 patients. Intra-uterine reflux of contrast medium was clearly shown under MHFS. Although reflux was not seen in patients with hydrosalpinx, subsequent plain roentgenography made correct diagnosis possible because of pooling image. Two-layer images formed by oily contrast medium and hysteroscope perfusate were observed on X-rays in patients with patent uterine tubes. The diagnosis based on 1) through 4) above agreed with that made by HSG in 90.3 % of cases (47/52). **Conclusion :** This method, in which intra-tubal catheterization can be easily achieved using a MHFS and which provides a lot of information with only one additional X-ray picture, is a useful test for tubal patency.

Key words: microhysteroscope, selective intra-tubal catheterization, two layer image, pooling image

(Jpn J Fertil Steril 43:155-164 1998)

The Relationship of the Number of Follicles Present in an Ovary and Developmental Competence of Bovine IVF Embryos Derived from Individual Cows

Cece SUMANTRI*, Masao MURAKAMI, Modest Diamond VARISANGA,
Mokhamad FAHRUDIN and Tatsuyuki SUZUKI

United Graduate School of Veterinary Sciences,
Yamaguchi University, Yamaguchi 753-8515, Japan.

Abstract: This study was conducted to examine whether the developmental competence of bovine oocytes is affected by individual cows and the number of follicles in each ovary. There were great variations in the number of oocytes collected from individual cows. In addition, the proportions of embryos developed to the 2-, 4-, 8-cells and blastocyst stage greatly varied according to different cows. Developmental competence of oocytes derived from lower number of follicles in group I and II (8 to 20 follicles per ovary) did not differ with that of higher number of follicles in group IV and V (31 to 50 follicles per ovary). Nonetheless, the number of blastocysts per ovary observed in group I and II were significantly ($P < 0.01$) lower compared to group IV and V (1.5 and 3.0 vs 9.1 and 8.5, respectively). These results show that the production of bovine embryos by *in vitro* fertilization is affected by individual cows and that the number of follicles present in an ovary correlates with the production of the number of blastocysts per ovary.

Key words: individual cow, follicular number, IVF embryo development

(Jpn J Fertil Steril 43:165-169 1998)

Introduction

The rate of development of pre-implantation embryos is a complex process and undoubtedly under the influence of a number of genes, as well as the environment¹. Success of *in vitro* maturation (IVM) and production of bovine embryos as related to aspects of follicle source and oocyte size has been reported². The cytoplasm and chromatin of oocyte has been found to differ based on the stage of the estrous cycles³. However, no difference was found in maturation or in fertilization competence³. Similar findings also were reported, that *in vitro* maturation and development competence were independent to estrous cycle⁴⁻⁶. The effect of follicular diameter on developmental competence have been reported^{2, 6-10} development to the morula and blastocyst stages was found to increase with increasing follicular diameter². Collection of oocytes from individual cows for the production of blastocysts *in vitro* has been reported¹¹⁻¹³. How-

ever, information about *in vitro* embryo developmental capacity from individual ovaries, still requires more research. Therefore, the present study was conducted to examine the developmental competence of bovine IVF embryos from individual cows and the number of follicles present in each ovary which may play an important role on pre-implantation embryo development.

Materials and Methods

Experimental design

Ovaries from Holstein cows were collected from the slaughterhouse and separated into two experiments using completely different designs.

Experiment 1 : The effect of individual cows

To determine the effect of individual cows on the production of IVF embryos, cumulus oocytes complexes from Individual cow's ovaries were matured, fertilized *in vitro* and cultured separately until blastocyst stage. The experiment were repeated 4 times.

*Present address: Laboratory of Animal Breeding and Genetics, Faculty of Animal Science, Bogor Agricultural University, Bogor, Indonesia.

Experiment 2: Effect of follicular number present in an ovary

In order to determine the effect of follicular number present in an ovary on the production of IVF embryos, ovaries were grouped into 5 groups according to the number of follicles 2-5 mm in diameter; Group I = 8-10 follicles, Group II = 11-20 follicles, Group III = 21-30 follicles, Group IV = 31-40 follicles and Group V = ≥ 41 follicles. The experiments were repeated four times.

***In vitro* maturation of oocytes**

Experimental ovaries from Holstein cows were collected from the slaughterhouse and transported in Ringer's solution supplemented with penicillin-G (100 IU/ml) and streptomycin sulfate (0.2mg/ml) at 30 to 32°C. Oocytes from follicles 2 to 5 mm in diameter were examined and grouped according to the experimental design, aspirated with an 18-G needle and washed with modified-PBS (Gibco, Grand Island, NY USA) supplemented with 3% BSA solution. The aspirated oocytes were washed 3 times in maturation medium (TCM-199, Earle's salt; Gibco,) supplemented with 5% Day-7 superovulated cow's serum (SCS; Matsuoka et al.)¹⁴, 0.01 mg/ml follicle stimulating hormone (FSH; Denka Pharmaceutical Co., Kawasaki, Japan), and 50 mg/ml gentamicin (Sigma Chemical Co., St. Louis MO USA). Oocytes were re-examined, only those surrounded by cumulus cells were incubated in maturation medium for 22h at 38.5°C in 5% CO₂ in air.

***In vitro* fertilization**

To avoid any possible paternal effect that may influence the results, all frozen semen used in both Experiments I and II were from the same batch of the same bull. Frozen semen was thawed in a water-bath (37°C), washed 2 times using 2.5mM caffeine in Brackett and Oliphant's medium (Caff-BO), as previously described by Brackett and Oliphant¹⁵, by centrifugation at 500g for 5min. The semen was resuspended in Caff-BO supplemented with 1% bovine serum albumin (BSA, Sigma) and 20mg/ml heparin (Shimizu Pharmaceutical Co. Ltd. Shimizu, Japan) to yield a final sperm concentration of 5×10^6 /ml. A 100 ml aliquot of sperm suspension was covered with min-

eral oil and preincubated for 1 h at 38.5°C in 5% CO₂ in air. Matured oocytes were then transferred into sperm suspension (20 to 25 oocytes per micro drops) for insemination.

Assessment of cleavage and blastocyst rate

Five hours after fertilization, oocytes with cumulus cells were removed from the fertilization medium, washed and transferred into culture medium for further development (day of fertilization = Day 0). The culture medium consisted of TCM-199 supplemented with 5% SCS, 5mg/ml insulin (Wako Pure Chemical Industries. Ltd. Osaka, Japan) and 50mg/ml gentamicin. At 48h after fertilization (Day 2), the cumulus cells surrounding the embryos were removed by repeated pipetting, while the cumulus cell layer attached to the bottom of the culture dish was used as a co-culture. The culture medium was replaced with new medium every 96 h.

The cleavage (2-, 4- and 8-cell) rate was calculated from the number of total ova inseminated after 48 h of fertilization. The blastocyst rate was calculated from the total cleaved that had developed to the blastocyst stage.

Statistical analysis

All experiments were repeated four times. In experiment I, data from individual ovary were subjected to χ^2 (chi-square) analysis. In experiment II, for the effect of number of follicle present in ovaries, mean proportions were subjected to least-square analyses of variance and Duncan's test was used for comparison.

Result

A total of 978 inseminated IVM oocytes from 47 individual cows were cultured separately for observation of early embryo development (2-,4-, and 8-cell) and blastocyst stage. Table 1 shows that there was great variation in the number of oocytes collected, cleaved and blastocysts produced for each individual cow. The number of oocytes harvested from each cow ranged from 8 to 51 with mean and standard deviation (21.47 ± 10.23). The proportion of embryos developed to 2-, 4- and 8-cell stage per each cow ranged from 23.3 to 95.1 % with a mean and standard deviation

tion (67.66±18.62). The proportion of embryos which developed to blastocyst stage per each cow ranged from 1- 20 with a mean and standard deviation (4.49 ±4.23). The Individual cow significantly (P<0.05) affected the total cleavage rate, and blastocyst development. The results of this study indicate that oocytes from each individual cow have different abilities for development *in vitro*. Table 2 shows that no difference were found in the cleavage and blastocyst rate among group treatment. However, the number of blastocyst per ovary observed from Group I (8-10 follicles) were significantly lower (P<0.05) compared to other groups (Group III, Group IV and Group V). These results indicated that ovaries which have follicular number more than 21 per ovary has an ability to produce more blastocysts compared to the one with less than 20 follicles per ovary.

Discussion

Goto et al.¹¹⁾ reported that oocytes from individual cows have different developmental abilities *in vitro*.

Moreover, Mermillod et al.¹³⁾ reported high individual variation in oocyte number and the rate of embryonic development may be caused by variation in genetic value. Our results also support their findings that individual ovaries had a significant affect (P<0.05) on the early embryonic development to the blastocyst stage. However, this variation between individual cows was not observed by Funahashi et al.¹²⁾ probably due to the fact that there were differences in the breeds or population of cows used in the two studies. The results of our study reveals that the IVM-IVF-IVC from individual ovaries have different developmental ability *in vitro*, hence insighting an ideal fact which could be used efficiently in breeding cattle of high genetic value by oocyte aspiration from live donors using ultrasound guided follicle. It has been reported¹⁶⁻¹⁸⁾ that development of the ultrasound-guided transvaginal retrieval of bovine oocytes (ovum pickup) has proved to be a reliable and highly repeatable technique for obtaining oocytes from living cows and they confirmed that IVF from individual cows could

Table 1. Oocytes yield, cleaved and blastocyst rate obtained from individual cows

Variable	No. of cows	Mean	SD	Range	Minimum	Maximum
Oocytes/cow	47	21.81*	10.23	43.00	8.00	51.00
2-Cell rate	47	11.46*	6.72	37.60	2.4	40.00
4-Cell rate	47	27.89*	10.25	39.00	9.1	48.10
8-Cell rate	47	28.38*	16.68	68.50	3.3	71.80
Cleavage rate	47	67.88**	18.62	71.80	23.30	95.10
Blastacyst rate	47	30.57**	20.34	87.30	5.60	92.90
Blastacyst/cows	47	4.49**	4.23	19.00	1.00	20.00

χ² test*) Significantly different (P<0.05)

χ² test**) Significantly different (P<0.01)

SD : Standard deviation between individual cows.

Table 2. Blastocyst production from ovaries classified according to oocyte yield

Group	Follicle/ovary	No. of ovary	No. of oocyte/ovary	Cleavage rate(%)	Blastocyst rate (%)	No. of brastocyst/ovary
1	8-10	18	155/6(8.6 ^d)	101/155(65.2)	27/101(26.7)	27/18(1.5 ^e)
2	11-20	50	682/50(13.6 ^{cd})	475/682(69.6)	130/475(27.4)	130/50(3.0 ^{bc})
3	21-30	30	714/30(23.8 ^c)	465/714(65.1)	144/465(31.0)	144/30(4.8 ^b)
4	31-40	8	290/8(36.3 ^b)	213/290(73.4)	73/213(34.3)	73/8(9.1 ^a)
5	41-50	9	411/9(45.0 ^a)	276/411(67.2)	77/276(27.9)	77/9(8.5 ^a)

Within columns, mean with different superscripts are significantly different (ANOVA, Duncan's test, a-b;b-c; c-d P<0.05 a-c; b-d; P<0.01 and a-d; P<0.001)

be an alternative method to the current embryo production. Mermillod et al.¹³⁾ showed that the application of IVF in cows for genetic improvement implies the identification of the mother and, as a consequence, the separate handling of small numbers of oocytes and embryos from individual cows are important.

With regard to the number of follicles present in ovaries, no significant differences in cleavage and blastocyst rate were observed between Group I (low oocytes yield) and the other treatment groups. However, the overall number of blastocyst per ovary among group were significantly different ($P < 0.01$).

In summary the results of these two experiments have an evidence that the development of IVF embryos is affected by individual cow and the number of follicle present in an ovary directly correlates with the number of blastocysts produced.

Acknowledgments

We would like to thank the Hiroshima and the Kita Kyusu slaughterhouse for giving the ovaries, the Yamaguchi Zootechnical Experiment Station for providing the superovulated cow serum and Dr. Y. Kikkawa for aspiration oocyte.

References

- 1) Shire JGM and Whitten WK (1980) Genetic variation in the timing of first cleavage in mice: effect of paternal genotype. *Biol Reprod* 23:363-368
- 2) Arlotto T, Schwartz JL, First NL, et al. (1996) Aspect of follicle and oocyte stage that affect *in vitro* maturation and development of bovine oocytes. *Theriogenology* 45:943-956
- 3) Leibfried L and First NL (1979) Characterization of bovine follicular oocytes and their ability to mature *in vitro*. *J Anim Sci* 48:76-86
- 4) Fukui Y and Sakuma Y (1980) Maturation of bovine oocytes cultured *in vitro*: relation to ovarian activity, follicular size and the presence or absence of cumulus cells. *Biol Reprod* 22:669-673
- 5) Tan SJ and Lu KH (1990) Effects of different oestrous stages of ovaries and sizes of follicles on generation of bovine embryos *in vitro*. *Theriogenology* 33:335 abstr
- 6) Takagi Y, Mori K and Takahashi T, et al. (1992) Differences in development of bovine oocytes recovered by aspiration or by mincing. *J Anim Sci* 70: 1923-1927
- 7) Ericson GF and Soransen RA (1974) *In vitro* maturation of mouse oocytes isolated from late, middle, and pre-antral Graafian follicle. *J Exp Zool* 190: 123-127
- 8) Eppig JJ, Wigglesworth K and O'Brien MJ (1992) Comparison of embryonic developmental competence of mouse oocytes grown with and without serum. *Mol Reprod Dev* 32:33-40
- 9) Pavlok A, Lucas-Hahn A and Niemann H (1992) Fertilization and developmental competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles. *Mol Reprod Dev* 31:63-67
- 10) Pavlok A, Kopecny V, Lucas-Hahn A, et al. (1993) Transcriptional activity and nuclear ultrastructural of 8-cell bovine embryos developed by *in vitro* maturation and fertilization of oocytes from different growth categories of antral follicles. *Mol Reprod Dev* 35:233-243
- 11) Goto K, Takuma Y, Ooe N, et al. (1990) *In vitro* development of bovine oocytes collected from ovaries of individual cows after fertilization. *Jpn J Anim Reprod* 36:110-113
- 12) Funahashi H, Aoyagi Y, Takeda T, et al. (1991) Developmental capacity of bovine oocytes collected from ovaries of individual heifers and fertilized *in vitro*. *Theriogenology* 36:427-434
- 13) Mermillod P, Wils C, Massip A, et al. (1992) Collection of oocytes and production of blastocyst *in vitro* from individual, slaughtered cows. *J Reprod Fert* 96:717-723
- 14) Matsuoka K, Sakata S, Ichino K, et al. (1992) Effect of superovulated cow serum for culture of bovine oocytes to the blastocyst stage. *Theriogenology* 37:254 abstr
- 15) Brackett BG and Oliphant G (1975) Capacitation of rabbit spermatozoa *in vitro*. *Biol Reprod* 12:260-274
- 16) Looney CR, Lindsay BR, Gonseth CL, et al. (1994) Commercial aspects of oocyte retrieval and *in vitro* fertilization (IVF) for embryo production problem cows. *Theriogenology* 41:67-72
- 17) Pieterse MC, Vos PLAM, Kruip Th AM, et al. (1991) Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology* 35:19-24
- 18) Kruip Th AM, Boni R, Wurth YA, et al. (1994) Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. *Theriogenology* 42: 675-684

(Received January 9, 1998)

(Accepted March 25, 1998)

個々の雌牛から得られた卵巣に存在する卵母細胞数と体外受精胚の発生的比較

山口大学大学院連合獣医学研究科

C. Sumantri, 村上 正夫, M.D. Varisanga,

M. Fahrudin, 鈴木 達行

本研究は個々の雌牛から得られた卵巣に存在する卵母細胞数とその後の体外受精胚の発生的比較の重要な鍵になるかどうかを確認するために行った。卵巣から回収された卵母細胞、分割胚数、胚盤胞数には個体間に大きな変動がみられた。胚の2, 4, 8細胞期と胚盤胞の発生数は各卵巣間に有意($P < 0.05$)であった。個体別に両卵巣から回収した卵母細胞数の割合は、グループ3, 4と5(21-50卵母細胞)はグループ1とグループ2よりも多く、卵巣当りの卵母細胞数はグループ1, 2(8-20卵母細胞)とグループ3, 5別にそれぞれ1.5-3.0と4.8-9.1個の割合となった。この結果、体外受精胚の発生数は各個体の卵巣に影響されること、卵巣に存在する卵母細胞数と胚盤胞数との間に正の相関のあることが明らかにされた。

キーワード：個々の雌牛、卵母細胞数と体外受精胚の発生

(日不妊会誌 43:165-169 1998)

早発卵巣不全の臨床的検討

Clinical Study on Premature Ovarian Failure

島根医科大学医学部産科婦人科学教室

栗岡 裕子

高橋 健太郎

高坂 麻希

Hiroko KURIOKA

Kentaro TAKAHASHI

Maki KOHSAKA

尾崎 智哉

上田 敏子

宮崎 康二

Tomoya OZAKI

Toshiko UEDA

Kohji MIYAZAKI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Shimane Medical University, Izumo 693-8501, Japan

当科において診断・治療を行った早発卵巣不全 (premature ovarian failure :POF) 患者計 13 例について臨床的に検討した。初診時年齢は 21 歳から 38 歳で、拳児希望者は 9 例、未婚者は 2 例であった。初経年齢は 11 歳から 13 歳でとくに異常は認められなかった。月経が停止した年齢は 14 歳から 33 歳で、突然月経が停止した症例が 4 例認められた。妊娠歴を有するのは 3 例、分娩歴を有するのは 2 例であった。初診時の平均 BMI は 20.5Kg/m² で、体型との関与は認められなかった。今回の検討では性染色体異常は除外したが、46, XX inv(9q+q-) の常染色体異常が 1 例認められた。合併症としては 1 例に SLE が発見され、常染色体異常が認められた症例の経過観察中に乳癌が発見された。腹腔鏡を施行し、卵巣の生検を行ったのは 10 例で、そのうち 3 例に原始卵胞が認められた。ホルモン療法に反応し、排卵が認められたのは 2 例であった。このうち 1 症例は SLE を合併した患者で本人の希望で腹腔鏡は施行できなかったが、Gn-RHa 単独と Gn-RHa + hMG で排卵が認められた。他の 1 症例は卵巣生検で原始卵胞は確認し得なかったが、Gn-RHa + hMG で排卵が認められた。しかし、両症例とも妊娠には至らず、治療成功後の継続的な排卵が認められなかったため、現在は Kaufmann 療法施行中である。

キーワード：早発卵巣不全、臨床的統計、診断、治療

(日不妊会誌 43:171-175 1998)

緒 言

閉経前後の内分泌環境は hypergonadotropic hypogonadism であり、卵胞の発育もなくなってくる。このような内分泌環境が若年で生じた場合、早発卵巣不全 (premature ovarian failure : POF)、早発閉経 (premature menopause) と診断され、早期に estrogen 活性が消失することに起因する quality of life (QOL) の低下が問題となっている。現在の日本の平均閉経年齢は 50.5 歳¹⁾ であるが、早発卵巣不全、早発閉経の発症年齢による定義、また、早発卵巣不全、早発閉経を同一病態とすべきか否かについても一定の認識が得られていないのが現状である。今回、当科で

経験した POF 症例を臨床統計学的に検討し、若干の知見を得たので報告する。なお、日本産科婦人科学会では本病態を早発閉経²⁾ と定義しており POF については、正式な名称としては採用していないが、このような病態の患者に対して排卵に成功した症例もあるので、本論文ではあえて POF を使用した。

対象および方法

島根医科大学医学部附属病院産科婦人科において、本格的に腹腔鏡を施行し始めた 1984 年から 1996 年までに、検索しえた POF 患者 13 例について、臨床的に検討した。対象とした患者は性染色体異常を伴わない、続発性無月経患者で既往に卵巣の摘出や、

表1 症 例

症例	初診時年齢	初経年齢	無月経時年齢	妊娠歴	分娩歴	BMI	合併症
1	29	13	21	0	0	22.5	SLE
2	32	12	30	0	0	18.7	
3	30	11	25	3	2	24.2	
4	21	13	16	0	0	19.0	
5	21	11	14	0	0	17.3	
6	27	13	23	0	0	17.3	
7	34	13	29	0	0	20.3	
8	33	13	32	0	0	22.0	
9	32	12	25	1	0	19.2	常染色体異常*
10	30	13	22	0	0	19.2	乳癌
11	38	13	24	0	0	25.8	
12	36	12	33	3	2	20.2	
13	30	13	20	0	0	20.2	
Mean ± SD	30.2 ± 5.0	12.5 ± 0.8	24.1 ± 5.8			20.5 ± 2.5	

* ; 46, XX inv (9q+q-)

放射線治療がないものとし、内分泌学的検索において hypergonadotropic hypogonadism であった 40 歳未満の症例とした。数値の表示はすべて Mean ± SD とした。

結 果

1) 対象症例の profile

表1に示すように対象症例の初診時年齢は21歳から38歳(30.2±5.0歳)、初経年齢は11歳から13歳(12.5±0.8歳)までで、初経年齢にはとくに異常は認められなかった。月経が停止した年齢は14歳から33歳

(24.1±5.8歳)であった。問診で、それまでに定期的にあった月経が突然に停止した症例を4例認めたが、明らかな因果関係を示す episode は聴取できなかった。また、妊娠歴を有するのは3例、分娩歴を有するのは2例であった。初診時のBMIは20.5±2.5Kg/m²で体型との関与は認められなかった。合併症として症例1に systemic lupus erythematosus (SLE)、症例9に常染色体の転座、すなわち46, XX inv (9q+q-)が認められた。また本症例は以前報告したが³⁾、POFの検査施行中に乳癌が発見され根治術が施行されたが、術後再発し、癌死に至っている。

表2 症 例

症例	拳児希望	LH (mIU/ml)	FSH (mIU/ml)	PRL (ng/ml)	E ₂ (pg/ml)	原始卵胞の有無	排卵の有無
1	有	68.4	145.8	—	10 以下	不明	有
2	有	6.7	36.7	8.5	10 以下	無	—
3	無	12.5	57.8	3.5	11.0	不明	—
4	無	6.9	55.6	2.5	10 以下	有	—
5	無	41.8	155.5	3.3	10 以下	無	—
6	有	106.3	186.6	3.9	10 以下	無	無
7	有	14.7	36.7	8.4	10 以下	無	無
8	有	17.1	51.5	3.2	10 以下	有	無
9	有	54.3	43.5	7.5	10 以下	有	—
10	有	25.7	61.3	5.6	10 以下	無	有
11	有	11.9	79.6	7.5	10 以下	無	—
12	無	40.4	124.3	2.5	10	不明	—
13	有	53.5	70.0	8.0	10 以下	無	—
Mean ± SD		35.1 ± 29.2	85.0 ± 50.4	6.0 ± 3.9			

表3 拳児希望患者に対する治療

症 例	方 法	排卵の有無	転 帰
1	Gn-RHa : 1 course	有	
	Gn-RHa : 1 course	無	
	hMG : 3 courses	無	
	Gn-RHa + hMG : 1 course	有	治療断念
6	Kaufmann	無	治療中
7	hMG : 5 courses	無	
	Gn-RHa : 6 courses	無	
	Gn-RHa + hMG : 9 courses	無	治療断念
8	Gn-RHa : 3 courses	無	治療中
10	hMG : 3 courses	無	
	Gn-RHa : 6 courses	無	
	Gn-RHa + hMG : 10 courses	有 (1回)	治療断念

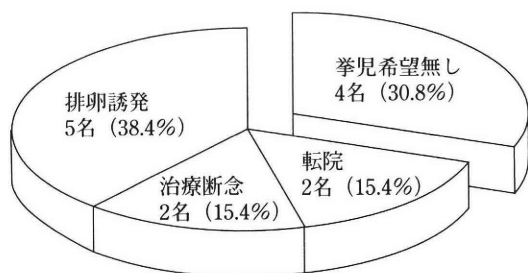


図1 対象症例と治療

症例4と5は未婚、症例3と12は既に分娩しているため初診時、拳児希望を訴えたのは表2に示すように9例であった。当科では骨盤内検索を目的として基本的には未婚、既婚を問わず腹腔鏡の施行を勧めており、既に他院で腹腔鏡を施行されていた症例11を除き、12例中8例で同意が得られ当科で腹腔鏡を施行した。9例中3例(症例4, 8, 9)に原始卵胞が認められた。内分泌学的データのLH, FSH, prolactin (PRL) 値は現在使用中のSPAC-LH, FSH, PRLに換算しなおして示したがLHは 35.1 ± 29.2 mIU/ml, FSHは 85.0 ± 50.4 mIU/mlでestradiol-17 β (E₂)は感度以下から11pg/mlであったが、PRLは 6.0 ± 3.9 ng/mlと正常値であった。

2) 治療および転帰

図1に示すように、対象患者13例中、既に生児のいる2症例、未婚の2症例を除いた9症例が拳児希望であり、治療を施行した。9例中2例は他院からの紹介であり、治療を勧めるも来院なく以後の経過は不明である。

1例は検査中に乳癌が発見されたため治療を断念

した。もう1例は初診時38歳で、腹腔鏡で原始卵胞が認められず、本人より排卵誘発の断念の希望があり、Kaufmann療法に変更した。最終的に症例1, 6, 7, 8, 10に排卵誘発を検討したが(表3)、症例6に関してはゴナドトロピンが100mIU/ml以上の高値のため、まずKaufmann治療でゴナドトロピンを下げ排卵誘発を行うこととした。表3に示すように症例1と症例10で排卵が認められたが、妊娠には至らなかった。症例1はSLEを合併しており、長期に亘る排卵誘発に苦痛を訴えたため、現在はKaufmann療法中である。症例10は以前報告したが⁴⁾、1周期のみの排卵であり、以後は排卵に至らなかったため、現在Kaufmann療法を施行し、follow中である。

考 察

1967年にMoraes-Ruehsen⁵⁾がhypergonadotropic hypogonadic amenorrheaでありながら、原始卵胞が存在し、排卵可能な症例を発表し、“resistant ovary syndrome”と呼称したのが最初で、以後同様な症例の報告^{6,7)}がなされている。本邦では宮川ら^{8,9)}が妊娠例も含めて多くの症例を報告しており、また、当科でも13症例を経験したので、本疾患は産婦人科の日常診療上、時に遭遇しうる病態であると思われる。病理学的に原始卵胞を認めない場合、premature menopause, 原始卵胞を認める場合gonadotropin-resistant ovary syndrom, insensitive ovary syndromeと分けて呼ぶことも提唱されている¹⁰⁾。しかし、両者が全く独立した疾患なのか、卵巣生検という、限られた組織量での検索による結果の差違なのかは明らかでない。実際、当科の症例10は原始卵胞が認められなかったにもかかわらず、排卵に至っており、

卵巣生検で原始卵胞が存在しなくても、挙児希望例においては、排卵誘発を断念すべきではないと思われる。このように卵巣生検の結果が治療方針決定の根拠にはならないが、現在当科におけるPOFの診断は、内分泌学的検査に加えて、基本的に腹腔鏡を行っており、その他の内性器の異常の有無の検索を行っている。著者が調べた限りにおいては、POF症例の卵巣が悪性転化を起こしたという症例は認められなかったが、卵巣の悪性所見の否定も含め、現在は卵巣生検を行っている。宮川¹¹⁾はPOFの全患者に病理組織学的検査を行うことは無理であり、手術による危険性や癒着が比較的多く生じること、組織学的に卵胞の存在が否定されてもその後、妊娠する症例があること、治療において両者を区別する必要がないことから、卵巣生検の是非について問題を提起している。

また、内分泌学的にも hypergonadotropic hypogonadism という概念は存在するも一定の診断基準は無く、宮川¹²⁾が提唱しているような (FSH は second IPR HPG 55mIU/ml, LH18mIU/ml 以上, E₂ 20pg/ml 以下) はっきりとした基準の設定が多施設および多症例で検討されるべきと思われる。また、本疾患の病因論の中で自己免疫疾患の関与が議論されており^{12, 13)}、当科でも SLE の合併症例が認められた。自己免疫疾患と POF との関係を考える場合、血中および卵巣中のゴナドトロピン抗体の存在や、抗卵巣抗体の存在が考慮されるべきであり、現在各種抗体の陽性率について検討中である。

治療については挙児希望がない症例については高脂血症予防、骨粗鬆症予防のための hormone replacement therapy (HRT) としての Kaufmann 療法を行っており、挙児希望患者に対しては Gn-RHa 療法で FSH の低下をはかり自然排卵に期待するか、Gn-RHa と hMG の併用療法を行っている。使用した Gn-RHa 製剤は酢酸ブセレリン (スプレキュア®)、酢酸ナファレリン (ナサニール®)、酢酸リユープロレリン (リユープリン®) であるが、製剤間の効果の検討は症例数の関係からまだ行っておらず、簡便性および調節性の点から点鼻薬を多く使用している。問題点として、排卵誘発に成功しても、当科においては妊娠に至った症例がなかったことや、継続的な排卵誘発成功がなし得なかったことが挙げられ、妊娠が目的の不妊症例に対しては今後の検討課題である。

また、今後の治療の展望としては、gonadotropin-releasing hormone antagonist (Nal-Glu)¹⁶⁾ の応用が期待される。

文 献

- 1) 望月真人, 荒木勤, 岩崎寛和 他 (1995) 教育・用語委員会報告 (「本邦婦人の閉経年齢について」に関する委員会提案理由). 日産婦誌 47:449-451
- 2) 日産婦用語集 (1995) 日本産科婦人科学会編, 金原出版, 東京, pp122
- 3) 白井孝昭, 高橋健太郎, 吉野和男 他 (1991) 乳癌合併症例を含む早発閉経の2症例. 日産婦中四会誌 39:201-206
- 4) 岡田正子, 高橋健太郎, 栗岡裕子 他 (1995) Gn-RH analogue 併用 hMG-hCG 療法で排卵に成功した早発閉経の一症例. 日不妊会誌 40:421-426
- 5) De Moraes-Ruehsen M and Jones GS (1967) Premature ovarian failure. Fertil Steril 18: 440-461
- 6) Van Campenhout J, Vauclair R, Maraghi K (1972) Gonadotropin-resistant ovaries in primary amenorrhea. Obstet Gynecol 40: 6-12
- 7) Koninckx PHR, Brosens IA (1977) The Gonadotropin-resistant ovary syndrome as a cause of secondary amenorrhea and infertility. Fertil Steril 28: 926-931
- 8) 宮川勇生, 田中哲二, 井上博 他 (1986) 早発閉経と妊娠. 産と婦 53:1137-1143
- 9) 宮川勇生, 小池弘幸, 金丸富士子 他 (1989) 早発閉経の臨床一分娩症例の卵巣所見と分娩後の gonadotropin 動態一. 産と婦 56:293-297
- 10) Shangold MM, Turksoy RN, Bashford RA, et al. (1977) Pregnancy following the Insensitive ovarian syndrome. Fertil Steril 28:1179-1181
- 11) 宮川勇生 (1996) POF (早発卵巣不全) の治療. 産婦治療 72:1-6
- 12) 宮川勇生 (1995) Premature ovarian failure (POF) の臨床. 日産婦誌 47:N173-176,
- 13) Tang VW and Faiman C (1983) Premature ovarian failure: A search for circulating factors against gonadotropin receptors. Am J Obstet Gynecol 68:816-821
- 14) Alper MM and Garner PR (1985) Premature ovarian failure: Its relationship to autoimmune disease. Obstet Gynecol 66:27-30
- 15) Kim JG, Moon SY, Chang YS, et al. (1995) Autoimmune premature ovarian failure. J Obstet Gynecol 21:59-66
- 16) Ditkoff EC, Cassidenti DL, Paulson RJ, et al. (1991) The gonadotropin-releasing hormone antagonist (Nal-Glu) acutely blocks the luteinizing hormone surge but allows for resumption of folliculogenesis in normal women. Am J Obstet Gynecol 165:1811-1817

(受付: 1998年1月25日)

(受理: 1998年3月10日)

Clinical Study on Premature Ovarian Failure

Hiroko Kurioka, Kentaro Takahashi, Maki Kohsaka,
Tomoya Ozaki, Toshiko Ueda and Kohji Miyazaki

Department of Obstetrics and Gynecology,
Shimane Medical University, Izumo 693-8501, Japan

Clinical study was performed on 13 patients with premature ovarian failure (21 to 38 years old) who consulted our University Hospital. Menarche ranged from 14 to 33 years old. Four cases suddenly happened menarche without abnormal episodes. There were 3 patients with pregnant history and 2 patients with delivery history. There was no relationship between this disease and body mass index. Only two patients had complications (systemic lupus erythematosus and breast cancer). Ten of 13 patients were performed on laparoscopic biopsy of ovaries. Only 3 patients had primary follicle. Two patients had ovulations by ovarian stimulation. A patient with SLE had ovulation by only Gn-RH analogue (Gn-RHa) or by the combined method with Gn-RHa and hMG. Though primary follicles were not detected on specimen of ovarian biopsy in another patient, the combined method with Gn-RHa and hMG resulted in only one ovulation without pregnancy. Therefore, we should study how to induce the continuous ovulation and to success pregnancy.

Key words: premature ovarian failure, clinical study, diagnosis, therapy

(Jpn J Fertil Steril 43:171-175 1998)

不妊症診療における経済的側面の検討

An Estimate of the Cost of Infertility Treatment.

セント・ルカ産婦人科

宇津宮 隆 史
Takafumi UTSUNOMIYA

渡 辺 多鶴子
Tazuko WTANABE

指 山 実千代
Michiyo SASHIYAMA

St.Luke Clinic,
Oita city, 870-0947, Japan

不妊症診療には健康保険が適用されていない部分が多く、とくに最近の生殖補助技術 (ART) は高額
の経費がかかるにもかかわらず、全額私費負担が現状である。そこで不妊患者の経済的負担の実体を
把握する目的で、当院に通院している患者を、不妊症一般外来診療とARTに分け、質問票による調査
を行った。その結果、月収は20～30万円がもっとも多く、ついで30～40万円であった。1カ月に支
払った金額は外来群で1～3万円、ART群で10～20万円で、外来診療といえども月収の1割程度を
費やしており、ARTを行う場合は月収に匹敵する金額が支払われていた。経済的な理由で治療を断念
することを考えたことのある患者は外来群で半数に、またART群では8割にものぼっていた。また、
治療費は大部分が自分たちで工面していたが、なかには親や金融機関から借りたり、治療のためにパート
で働いている深刻な例もみられた。今回の調査対象者全員が保険適用などの補助を望んでおり、補
助が得られれば大部分が妊娠するまで治療を続けると答えていた。少産少子時代において、また今後
は不妊症のカップルが増加することが予測されている一方で、不妊症診療は20～30代の若いカップル
の家計に深刻な影響を与えている。不妊症診療を考えるに当たっては、経済的側面からも考慮しな
ければならないし、とくにARTのように経費のかかる治療においては、何らかの補助が望まれる時期に
すでに入っていると思われる。

キーワード：ART、不妊症治療、経費、保険適用、経済的補助

(日不妊会誌 43:177-183 1998)

緒 言

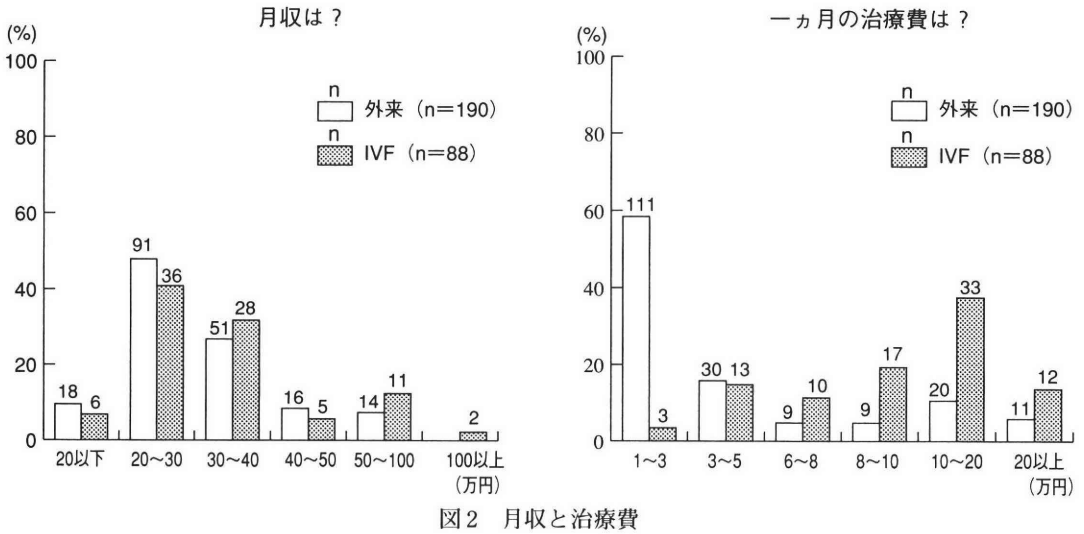
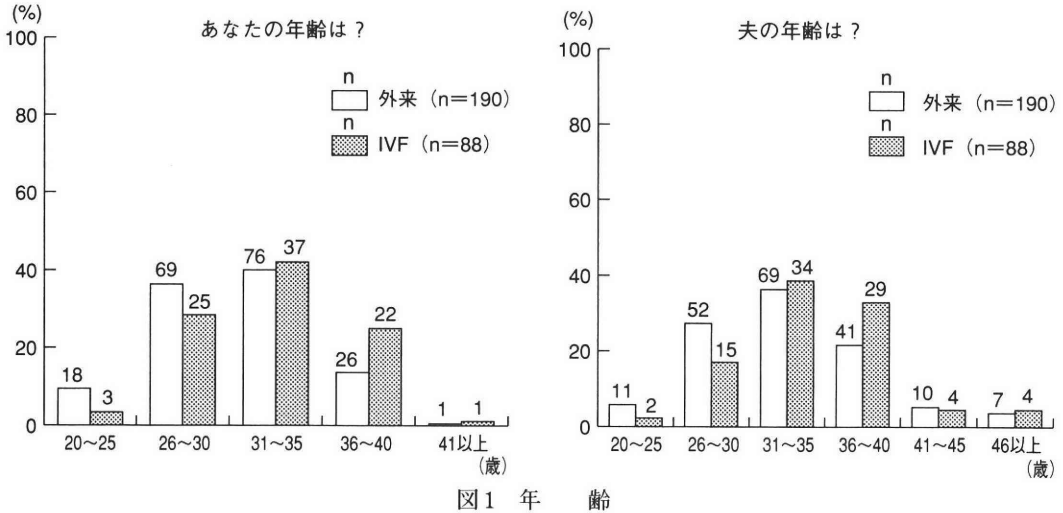
少産少子時代を迎えて、近い将来の人口問題が論
じられるようになってきた。しかしその議論の中に
不妊症について論及しているものは皆無に近い。か
なり古い統計と思われるが、不妊症カップルの頻度
は10組に1組、すなわち1割の夫婦が子どもが欲し
くてもできないといわれている。最近、欧米では6
組に1組が不妊カップルといわれ、不妊の頻度が
上がっていることが示唆されている。そのような現
状にもかかわらず、不妊症診療の多くの部分が保険
適用とならず、私費診療が多い。とくに最先端医療
といわれている生殖補助技術 (ART) は全額私費負
担であり、1回の体外受精 (IVF) に50万円ぐら

かかるのが一般的といわれている。若い30歳代の夫
婦にとって、この金額は膨大な出費であろう。それ
も成功するか否か不明なまま支払いを決心しなけれ
ばならない。

著者らは今回、それらの不妊症診療にかかる経費
について、患者の立場から考察するために、質問票
による調査を行った。

対象および方法

1996年12月から1997年3月までに当院に来院し
た不妊患者396例を対象とし、そのうち276例は一
般不妊外来治療を受け、また120例はIVFの治療目
的で来院した症例である。以上の症例に対して質問
票を手渡し、後日回収した。調査は無記名で行った。



回収率は外来患者 276 例のうち 190 例 (68.8%) であり、IVF 患者では 120 例のうち 88 例 (73.3%) であった。

結 果

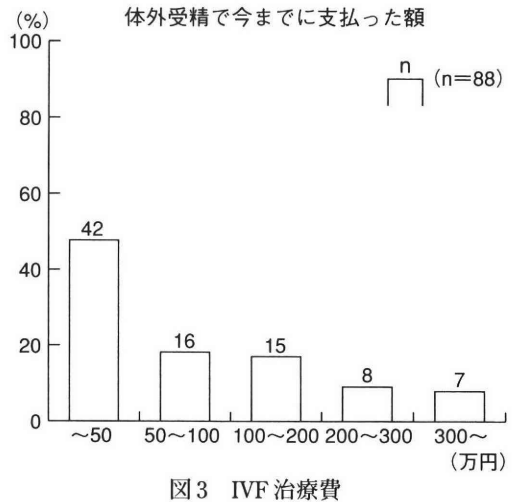
1. 年齢 (図1)

図1に対象の年齢分布を示した。外来群、IVF 群共に 26 歳～40 歳と広域に分布した。

2. 月収と治療費 (図2)

図2に各対象の月収と治療費について示した。大分県という地方であることを考慮しなければならないが、その平均月収は 20～40 万円がもっとも多く、またその前後は極端に少なかった。

1 か月間に支払った治療費は、保険の自己負担部分と私費診療部分を合計し、実際に当院に支払った



金額を示している。外来群では1～3万円がもっとも多く、次に3～5万円であった。また、IVF群では、10～20万円がもっとも多く、次が8～10万円であった。

3. IVF 治療費 (図3)

IVF群において、今までに当院に支払った治療費を調査してみると、図のように50万円までがもっとも多く、それ以上は徐々に少なくなっていた。しかし、300万円以上の例も見られた。

4. 治療費に対する印象 (図4)

治療費に対する印象を調査すると、図4に示すように、外来群でも「高い」と感じている例が78.4%であり、またIVF群では54.5%が「非常に高い」と感じていた。そしてその結果、外来群では半数以上が、またIVF群では大部分が、経済的な理由で治療を断念することを考えたことがあると回答していた。

5. 治療費の捻出 (図5)

治療費はどこから捻出しているかとの問いに対し

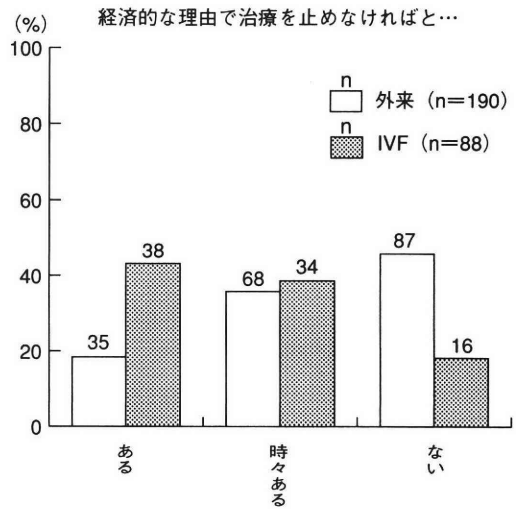
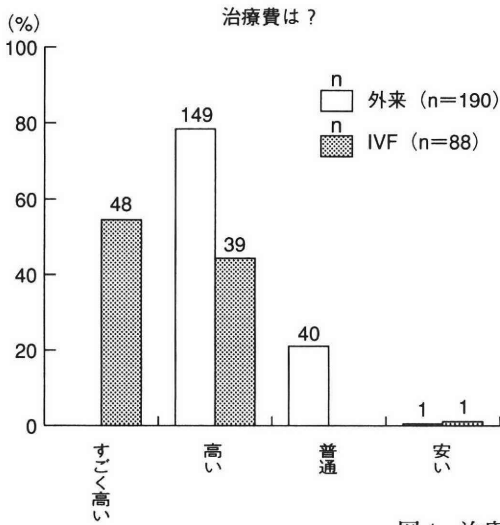


図4 治療費に対する印象

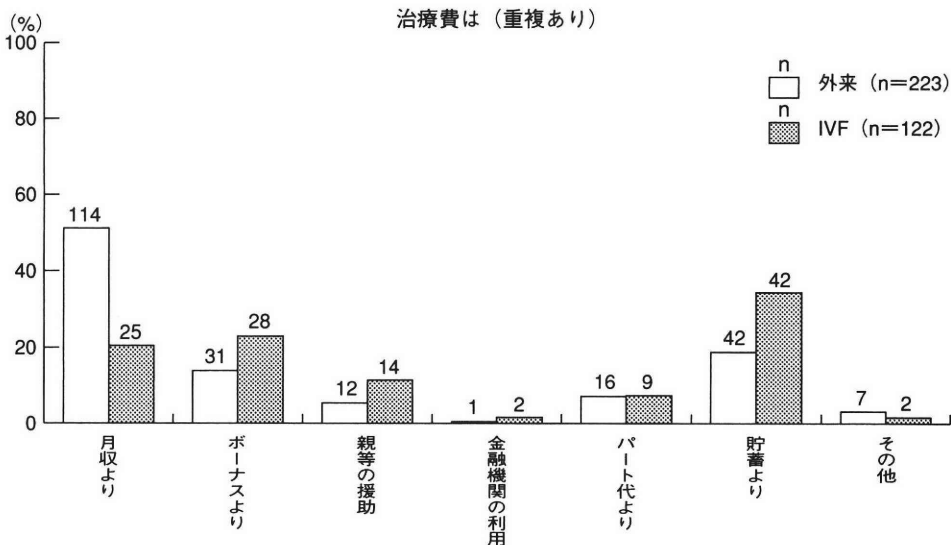


図5 治療費の捻出

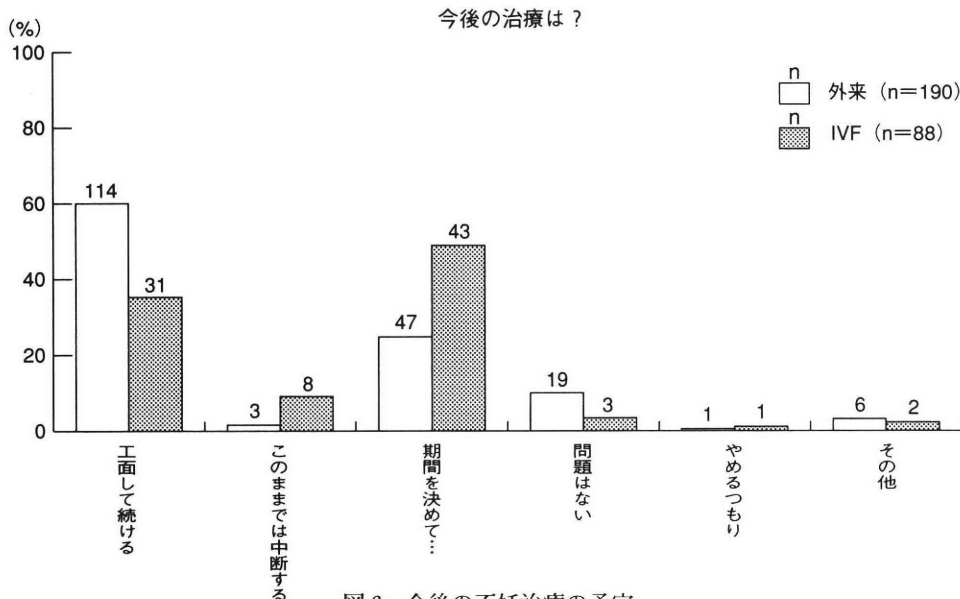


図6 今後の不妊治療の予定

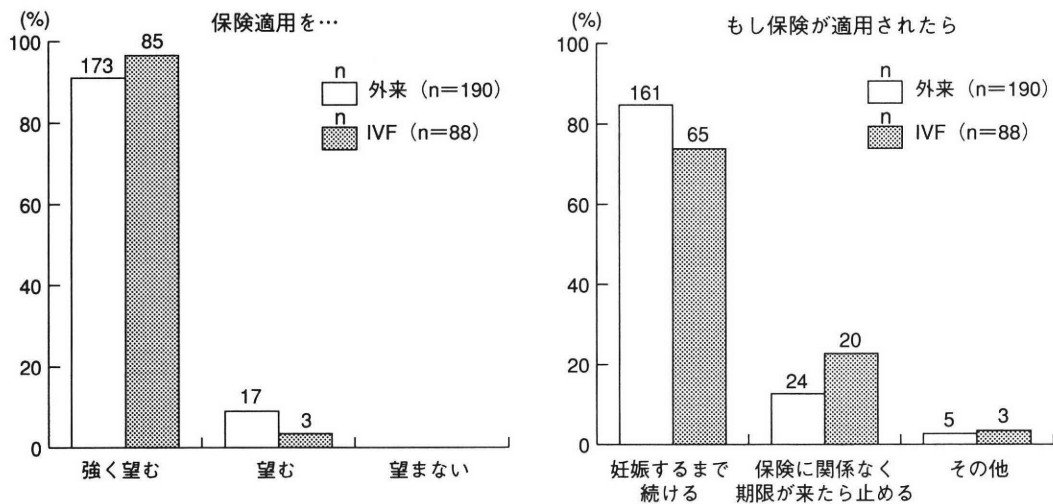


図7 経済的補助としての保険適用

て、ほとんどが貯蓄やボーナスを挙げていたが、なかには親からの援助やパート代、さらには金融機関から借金するという例も見られた。

6. 今後の予定 (図6)

今後の治療については、外来群では工面して続けたいという回答がもっとも多く、またIVF群では期間を決めてという回答がもっとも多かった。

7. 経済的補助 (図7)

IVFを中心とした不妊症診療に対する保険適用に関しては、当然ながら全員が実現を望み、またそれが実現したら妊娠するまで治療を続けたいと回答していた。

考 察

はじめに述べたように少産少子時代についての議論は各方面から行われており、新聞の社説においてもたびたび論じられるようになってきた。しかしその際に不妊症診療についての言及は皆無に等しい。

1997年度の厚生白書²⁾においても少産少子化が近い将来の人口構成に大きな影響を与えるであろうことを述べている。具体的には子供を持たない理由のうちの14%が、「子供を作りたくてもできない」不妊症であることを報告している。さらに厚生科学の推進を目的に、重点的に最先端医療を推進するための予算を計上している。また、子育て支援（エンゼルプラン）として95年度から毎年2000億円以上の予算を計上している。このように厚生白書においても、少産少子時代を迎えた現在、子供を持つために援助が必要であることを認識している。しかしながら不妊症の存在を把握しているにもかかわらず、本症に対する援助（保険適用や補助金）についてはまったく論じられていないのが現状である。

今回の調査では、不妊症治療のため、1か月間に支払った金額は、外来群では1～3万円がもっとも多く、これは月収の1割を占めていた。また、IVF群では、10～20万円がもっとも多かった。この金額は、当院ではIVFの料金は、薬品代を除いて基本料金を17万円とし、妊娠に成功した時点で、さらに追加料金を請求するシステムを取っていることを反映していると思われる。しかし、300万円以上の例も見られ、若いカップルの家計を圧迫していることが明らかとなった。治療費の捻出のため、親からの援助やパート代、さらには金融機関から借金するという深刻な例も見られた。

子供が生まれればエンゼルプランなどによっていろいろな補助が受けられる特典がある。しかしながら不妊症治療では、たとえ200年以上の歴史のある配偶者間人工授精ですらも保険適用になっていない。

その理由として、第1に、不妊症治療、とくにARTなどは、どの医療機関でも行えるものではなく、「特殊医療」であることが指摘されている。一方、心臓カテーテルや人工腎臓透析なども特殊技術でありながら保険適用になっている矛盾点がある。また第2に、ARTの妊娠成功率は低いことから治療とは認められないという意見もある。しかし一般に正常女性が1回の排卵において妊娠する確率は18～30%といわれ³⁾、これに比較して1回のARTによる妊娠率は15～20%と報告されている。すなわちARTによる

妊娠率は正常女性の自然妊娠率に匹敵するもので、これ以上のARTの成功率の改善は望めないとも言える。

また、不妊症という病気が「陰の疾患」といわれるように、昔から一般にはその存在を隠してきた事情がある。それがこの疾患に対する一般社会の認識が薄い原因とも考えられる。10組に1組のカップルが不妊症とすれば、20～30歳代に限られるが、その罹患率は10%といえる。もしこれがほかの疾患であれば大きな問題になる数字と思われる。不妊症に対する社会的評価の低さが保険適用を阻む大きな原因のひとつと推定される。

最近、不妊症の増加が指摘されている。またダイオキシンやPCB、DDTなどのホルモン環境攪乱物質の増加による環境汚染により、生殖機能が低下してきていることが報告されている⁴⁾。とくに精子数⁵⁾の減少している現象が注目される。著者の経験でも20年前の不妊外来での成績に比べ、かなり精液所見が劣化している⁶⁾。このように男性因子だけをとってみても今後、不妊症が増加することは明らかである。

一方では非婚率の上昇が少子化傾向の原因として挙げる意見⁷⁾も見られるが、それは社会の多様化に伴うものであり、自然な歴史の流れと理解され、それを防ぐ手だてはない。むしろ女性が子供を産み、育てやすい環境を整えるべきで、その点、エンゼルプランなどは評価される。さらにもう一步踏み込んで不妊症のカップルに対する援助が望まれる。

現在、年間約110～120万人の新生児が誕生しているが、ここでもし不妊症の全カップルに子供が授かると仮定すれば、毎年さらに30万人の子供が増加することになる。今回の調査で、不妊症のカップルは、ARTのように経費のかかる治療については回数を決めて受けるという経済的自衛策を講じざるを得ず、医療補助が得られれば、引き続き治療を続行したいと回答している。

Goldfarbら⁸⁾も、IVFを繰り返して受けない患者の調査を行った結果、その理由のなかでもっとも多かったのは経済的理由であり、次に精神的理由を挙げ、身体的負担を理由に挙げたのは少なかったと述べている。また、Collinsら⁹⁾も同様に何らかの経済的援助が、また、Halmanら¹⁰⁾は精神的援助も必要と報告している。

日本では、母子保健について、保健婦、看護婦に対する教育を目的としたテキスト^{11,12)}の中においても、不妊症についての記述はほとんど見られず、ただ、代理母などのような極端な例を挙げ、倫理的な

意見を述べているに過ぎない。

「不妊症」に関する研究は、単なる生殖医学にとどまらず、人類の存続、種の保存の本能に關与する重要な分野である。残念ながら一般的には、とくに専門外の医療関係者、政治家やマスコミ関係者などの間では、不妊症に対してかなり偏向した見方に片寄ることが多い。ひとつにはこの分野のなかに、遺伝子診断や核移植のような最先端医療の突出した部分が含まれるからであろう。しかし、それは不妊症診療のごく一部でしかなく、大部分のカップルは今回著者らの調査で述べたように、一般的な治療を必要とし、その治療費に苦勞しているのが現状である。

日本の医療費を国際的に比較した¹³⁾ 研究では、薬剤費、検査費の引き下げを行って医療費を下げたことに関しては評価されたとしているが、さらに技術料が諸外国に比べて著しく低廉であることが指摘されている。そのなかで、最先端医療に要する医療費は、全体の医療費に比較するとその件数が少ないことより、医療費を上昇させる原因にはならないことを指摘している。

医療の恩恵は誰でもが公平に受ける権利があるという視点¹³⁾ から、今こそが最先端医療であるARTに対して、何らかの援助がなされるべき時期であることを強く主張したい。

文 献

- 1) Mosher WD and Pratt WF(1991) Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertil Steril* 56:192
- 2) 厚生省 (1997) 平成9年版厚生白書. 厚生省, 財団法人厚生問題研究会, 東京, pp156-162
- 3) Guttmacher AF(1956) Factors affecting normal ex-

- pectancy of conception. *JAMA* 161:855
- 4) Pinchbeck D(1996) Downward mortality. *Esquire* 1225:79-84
- 5) Adamopoulos DA, Pappa A, Nicopoulou S, et al. (1996) Seminal volume and total sperm number trends in men attending subfertility clinics in the greater Athens area during the period 1977-1993. *Hum Reprod* 11:1936-1941
- 6) 宇津宮隆史, 指山実千代 (1997) 不妊症診療から見た医療の社会性について. *セミナー医療と社会* 11:13-21
- 7) 森田利つ子 (1997) 社会福祉概論. 最新介護福祉全書. 三友雅夫編, 1巻メジカルフレンド社, 東京, pp182-184
- 8) Gordfarb J, Austin C, Lisbona H, et al. (1997) Factors influencing patients' decision not to repeat IVF. *J Assist Reprod Genetic* 14:381-384
- 9) Collins JA, Bustillo M, Visscher RD, et al. (1995) An estimate of the cost of in vitro fertilization services in the United States in 1995. *Fertil Steril* 65: 538-545
- 10) Halman LJ and Abbey A(1993) Why are couples satisfied with infertility treatment. *Fertil Steril* 59: 1046-1054
- 11) 北村邦夫 (1997) 母子地域看護活動. 地域看護学講座. 久常節子編, 6巻, 医学書院, 東京, pp182-183
- 12) 三品照子 (1997) 母子地域看護活動論. 保健学講座. 三品照子編, 3巻, メジカルフレンド社, 東京, pp75-77
- 13) 二木 立 (1995) 日本の医療費. 医学書院, 東京, pp115-118

(受付: 1998年1月26日)

(受理: 1998年4月7日)

An Estimate of the Cost of Infertility Treatment.

Takafumi Utsunomiya, Tazuko Watanabe and Michiyo Sashiyama

St.Luke Clinic,
Oita city, 870-0947, Japan

There are many reasons for the decrease in birth rate in Japan. First, the general conditions of reproduction are becoming worse due to environmental pollution from dioxins, PCB's, DDT and other toxins. Also, we have a lot of data from infertility treatment indicating that there are other difficulties in conceiving. For example, the maternal age is rising, the incidence of endometriosis is increasing among women, the number of sperm is decreasing, and so on. It is a common fact that about 10% of all Japanese couples are infertile. Furthermore, in many western countries, the rate of infertility is estimated at more than 15%. If all infertile couples in Japan were able to have children, the number of births could increase by 300,000 per year. However, special and effective treatments for infertility, such as assisted reproductive technology, are not recognized as medically insurable

treatments. Therefore, infertile couples have to pay a lot of money for these treatments. To re-evaluate these problems of infertility treatment, we designed a study using a questionnaire to survey infertile couples. Our study indicated that they needed to use 10 to 15% of their monthly income to pay for infertility treatment. Many of them were forced to discontinue the treatments for economic reasons. For this reason, financial support for infertility treatments is needed immediately.

Key words: ART, infertility, cost, insurance

(Jpn J Fertil Steril 43:177-183 1998)

反復流産カップルにおける スクリーニング検査と治療成績の検討

Analysis of Recurrent Spontaneous Abortion and Subsequent Outcomes of Pregnancy in Couples with Recurrent Spontaneous Abortion

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科

斉藤 正博	石原 理	林 直樹
Masahiro SAITOH	Osamu ISHIHARA	Naoki HAYASHI
荒井 邦子	竹田 省	木下 勝之
Kuniko ARAI	Satoru TAKEDA	Katsuyuki KINOSHITA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Saitama Medical Center, Saitama Medical School, Saitama, 350-0844, Japan

埼玉医科大学総合医療センター輸血部

平田 蘭子	前田 平生
Ranko HIRATA	Hiroo MAEDA

Department of Blood Trans Service,
Saitama Medical Center, Saitama Medical School, Saitama, 350-0844, Japan

1988年12月より1996年10月までに2回以上の連続する流産歴を有する185例を対象に、系統的にその原因検索を行い、発見された異常により各種治療を行った。

症例の平均年齢は31.2±4.3歳、うち原発性不育症は83.2%、続発性16.8%であった。スクリーニング検査により、染色体異常3.8%、子宮奇形4.9%、高プロラクチン血症およびOHP10.3%、SLEや抗リン脂質抗体症候群などの自己免疫疾患7.0%、抗核抗体陽性29.7%、原因不明47.6%が発見された。これらに対して、抗核抗体陽性者やSLEなどの自己免疫疾患にはPSL/低用量アスピリン療法を、OHPおよび高プロラクチン血症に対してbromocriptine療法を、子宮奇形例に対して子宮形成術を行った。さらに、原因不明例に対して免疫療法を施行した。治療後の妊娠継続率は免疫療法71.0%、PSL/低用量アスピリン療法87.9%、bromocriptine療法81.8%、子宮形成術100%であった。一方、免疫療法後も流産を反復する原因不明症例が3例(1.6%)に認められた。

今回の検討により、不育症に対して系統的な原因検索を行い個別の治療を行うことの有用性が示唆された。しかし、治療後も流産を反復する原因不明症例があり、新たな視点からの原因検索が必要と思われた。

キーワード：反復流産、免疫療法、抗リン脂質抗体症候群、子宮形成術、高プロラクチン血症

(日不妊会誌 43:185-193 1998)

緒 言

不育症の原因は多岐にわたることが知られ、不育症の取り扱いが明らかとなった原因に対して適切な治療を行うことが重要と思われる。

しかし、現在、当科で行なわれているスクリーニング検査が充分であるかどうかを検証することが必要である。そこで、今回、当科で原因検索および治療を行った不育症のうち連続2回以上の流産歴を有する反復流産症例を対象とし、各症例に認められた流産の原因の可能性の高い異常と治療成績から反復流産症例の取り扱いにつき考察した。

対象および方法

1988年より1996年10月までに当科不育症外来に、連続した2回以上の流産歴のため精査を希望して受診した185例を対象にした。

各症例に対して、まず表1に示したスクリーニング検査を行い、流産の原因を追及した。抗リン脂質抗体症候群（ループスアンチコアグラントあるいは抗カルジオリピン抗体のいずれかが陽性の症例）または、SLEやシェーグレン症候群や甲状腺機能亢進症などの特定の原因が明らかになった場合はそれに

対する特異的な治療法を施行した。

抗リン脂質抗体症候群が疑われた症例や2回以上の流産歴を有する抗核抗体陽性者に対して妊娠確認後、たとえば、PSL(prednisolone)および低用量アスピリン療法を施行した。PSLは原則として20mg/日より開始し妊娠期間中に適宜、漸減し、アスピリンは81mg/日を妊娠36週まで内服投与した。

また、高プロラクチン血症あるいはTRHテストにより潜在性高プロラクチン血症(OHP)を呈した症例に対するBromocriptine療法は、プロラクチン値が正常化後も妊娠初期まで継続し、一日量2.5～5mgの投与を行った。なお、高プロラクチン血症およびOHPの診断は既報の基準値に従った。

子宮卵管造影より双角子宮や中隔子宮の症例には、さらに、子宮形成術を施行した。

一方、スクリーニング検査で原因不明な場合、免疫療法を行った。免疫療法の対象は、当初連続2回以上の流産歴を有する反復流産症例に対して行っていたが、1993年以降は原因不明の3回以上の流産歴を有する症例に対して施行している。夫リンパ球はファイコールにより血清分離して $2-4 \times 10^7$ 個/mlに調整し、放射線照射後に患者前腕に左右各ヶ所に0.1, 0.3, 0.3, 0.3mlを皮内注射した。

表1 反復流産カップルのスクリーニング検査

I. 妻側の検査
1. 内分泌検査
a) 耐糖能検査：空腹時血糖，HbA1c，HbA1c，フルクトサミン あるいは，75gOGTT
b) 甲状腺機能検査：T3，T4，TSH
c) 生殖内分泌検査：基礎体温測定， 間脳下垂体機能検査（LH-RHおよびTRH負荷試験）， 黄体機能検査（黄体中期の血中progesterone，estradiol）
2. 免疫学的検査：抗核抗体，LE test，抗SS-A，B抗体，RA test， C3，C4，CH50，IgG，IgM，ループスアンチコアグラント， 抗カルジオリピン抗体， β_2 GP I
3. 凝固系検査：aPTT，PT， α_2 PIC，TAT
4. 子宮形態検査：HSG，超音波断層法
5. 感染症検査：クラミジア，トキソプラズマ抗体，サイトメガロ ウイルス抗体，風疹，梅毒反応，HBs抗原，HCV抗体，HIV抗体， HTLV-I抗体等
II. 夫婦両者に行う検査
1. 染色体検査
2. HLA抗原検査

抗核抗体：蛍光抗体間接法により判定した。

表2 患者背景

1. 初診時平均年齢

	症例数	Mean	S. D
反復流産症例	185	31.2	± 4.3 歳 (range: 20 ~ 41)
習慣流産群	68	32.1	± 3.9 歳 (range: 22 ~ 41)
連続2回流産群	117	30.8	± 4.3 歳 (range: 20 ~ 40)

2. 初診時既往流産回数

既往流産回数	症例数	%
2	117	63.2
3	50	27.0
4	15	8.1
5	2	1.1
6	1	0.5

3. 不育症症例 185例

	症例数	%
原発性	154	83.2
続発性	31	16.8

結 果

有無により分類すると、原発性不育症は154例(83.2%)、続発性31例(16.8%)であった。

1. 症例の背景(表2)

対象とした症例の平均年齢は31.2±4.3歳で、20歳から40歳までの症例が含まれていた。平均流産回数(表2)は2.7±1.0回であり、このうち、連続2回の流産例が63.2%(117例)、3回以上の習慣流産症例は36.8%(68例)であった。また、6回連続する流産歴を有する症例が一例含まれていた。さらに、生児の

2. 反復流産の原因(表3, 4)

前述した検索により明らかとなった異常所見(表3)は、染色体異常が4.3%、子宮奇形は4.9%、OHPおよび高プロラクチン血症は10.3%、SLEや抗リン脂質抗体症候群などを含めた自己免疫疾患7.0%、抗核抗体陽性29.7%であり(重複あり)、検索した範囲で原因不

表3 反復流産症例に認められた異常所見

	全症例 (n=185)		習慣流産 (n=68)		連続2回流産 (n=117)	
	症例数	%	症例数	%	症例数	%
染色体異常	8	4.3	5	2.7	3	1.6
子宮奇形	9	4.9	2	1.1	7	3.8
OHP, 高プロラクチン血症	19	10.3	5	2.7	14	7.6
OHP	13	7.0	2	1.1	11	5.9
高プロラクチン血症	6	3.2	3	1.6	3	1.6
自己免疫疾患症候群	13	7.0	4	2.2	6	3.2
SLE	3	1.6	0	0.0	3	1.6
抗リン脂質抗体症候群	11	5.9	4	2.2	7	3.8
抗 SS-A 抗体陽性	1	0.5	1	0.5	0	0.0
抗核抗体陽性	55	29.7	13	7.0	42	22.7
原因不明	88	47.6	40	21.6	48	25.9

核抗体陽性は80倍以上を陽性とした。
検査法：蛍光抗体法使用

(重複例を含む)

OHP：潜在性高プロラクチン血症
SLE：全身性エリトマトーデス

表4 原発性および続発性反復流産に認められた異常所見

	原発性反復流産(n=154)		続発性反復流産(n=31)	
	症例数	%	症例数	%
染色体異常	6	3.9	2	6.5
子宮奇形	9	5.8	0	0.0
OHP, 高プロラクチン血症	17	11.0	2	6.5
OHP	12	7.8	1	3.2
高プロラクチン血症	5	3.2	1	3.2
自己免疫疾患	12	7.8	1	3.2
SLE	3	1.9	0	0.0
抗リン脂質抗体症候群	10	6.5	1	3.2
抗SS-A抗体陽性	1	0.6	0	0.0
抗核抗体陽性	45	29.2	10	32.3
原因不明	72	46.8	16	51.6

(重複例を含む)

表5 各種治療法と妊娠継続率の推移

治療法	症例数	%	妊娠者数	妊娠回数	妊娠継続例数	継続率(%)
1. 免疫療法	55	29.7	41	62	44	71.0
連続2回流産	17	9.2	10	19	18	94.7
習慣流産	38	20.5	31	43	26	60.5
2. PSL /low dose aspirin および low dose aspirin 療法	24	13.0	24	33	29	87.9
a) PSL /low dose aspirin 療法	23	12.4	23	23	21	91.3
b) low dose aspirin 療法	9	4.9	9	10	8	80.0
3. bromocriptine 療法	16	8.6	10	11	9	81.8
OHP	11	5.9	6	7	7	100.0
高プロラクチン血症	5	2.7	4	4	3	75.0
4. 子宮形成術	4	2.2	4	6	6	100.0

OHP: occult hyperprolactinemia, PSL: prednisolone

(重複例を含む)

明が47.6%あった。また、3回以上の習慣流産症例群と連続2回流産群の比較をすると、連続2回流産群でOHP、抗核抗体陽性者が比較的多く認められた以外は両者において差を認めなかった。

今回の検討で発見された染色体異常の核型は45,XX,inv(9)(p11q13),der(13;14)(q10;q10),45,X/46,XX/47,XXX,46,XX,add(19)(q13.3),46,XX,der(3),der(7),der(8),46,XX,t(1;14)(q42;q23),46,XX,inv(9)(p11q13),46,XX,t(14;15)(q24;q13),46,XX,t(6;8)(q24.2;p2.1)であった。

次に、原発性不妊症と続発性で認められる異常所

見を比較すると(表4)、子宮奇形で全例が原発性不妊症で、さらに、OHP、高プロラクチン血症や自己免疫疾患は原発性に多い傾向が認められた。

3. 反復流産症例に対する各種治療法と妊娠継続率の推移(表5)

以上に述べた異常所見に対する各種治療による成績を表5に示す。原因不明と考えられた流産患者55例(29.7%)に対して免疫療法を施行し、その後の妊娠継続率は71.0%であった。抗核抗体陽性者やSLE等の自己免疫疾患に対してPSLおよび低用量アスピリン療法あるいは低用量アスピリン療法を24例(13.0%)(重複例を含む)に施行後、妊娠継続率は87.9%であった。また、OHPあるいは高プロラクチン血症に対し

表6 各種異常所見による治療後の妊娠継続率の比較

		症例数	%	妊娠者数	妊娠回数	妊娠継続例数	継続率(%)
染色体異常	自然経過観察	8	4.3	6	6	5	83.3
子宮奇形	自然経過観察	5	2.7	1	1	1	100.0
	双角子宮	1					
	中隔子宮	2					
	弓状子宮	2					
	子宮形成術	4		4	6	6	100.0
	双角子宮	3					
	弓状子宮	1					
自己免疫疾	PSL/low dose aspirin	5	2.7	5	5	5	100.0
	SLE	1					
	抗リン脂質抗体症候群	4					
	抗SS-A抗体陽性	1					
	low dose aspirin	1		1	1	1	100.0
	抗リン脂質抗体症候群	1					

(重複例を含む)

表7 抗核抗体陽性者の治療後の妊娠継続率の比較

各種治療法	症例数	%	妊娠者数	妊娠回数	妊娠継続例数	継続率(%)
核抗体陽性	55	29.7	32	46	36	78.3
自然経過観察	35	18.9	12	15	12	80.0
連続2回流産群	26	14.1	12	15	12	80.0
習慣流産	9	4.9	0	0	0	0.0
PSL/low dose aspirin	18	9.7	18	18	16	88.9
low dose aspirin	8	4.3	8	9	7	77.8
免疫療法	9	4.9	8	9	5	55.6

(重複例を含む)

てbromocriptine療法を16例(8.6%)に行い、その妊娠継続率は81.8%であった。子宮奇形に対して施行した子宮形成術を4例に施行し、4例とも妊娠し全例で妊娠は継続した。

4. 反復流産の原因別による治療後の妊娠継続率(表6)

発見された各種異常の種類による治療後の妊娠継続率の比較を表6に示した。染色体異常のうち6例が妊娠し、その継続率は83.3%であった。子宮奇形を認めた症例では、自然経過観察した5例中1例と子宮形成術を施行した4例中4例が妊娠し、全例において妊娠は継続した。自己免疫疾患では、妊娠した5例に対してPSLおよび低用量アスピリン療法を施行し全例妊娠は継続した。また、抗リン脂質抗体症候群の治療として、PSLおよび低用量アスピリン療法を行った1例に対して、2回目の妊娠時には低用量アスピリ

ン療法を施行し、その妊娠も継続した。

5. 抗核抗体陽性者の治療法別の妊娠継続率の比較(表7)

抗核抗体が80倍以上で陽性であった反復流産症例の妊娠継続率を比較した(表7)。自然経過観察した35例中12例が15回妊娠し、その継続率は80.0%であった。PSLおよび低用量アスピリン療法を施行した18例において、その妊娠継続率は88.9%、低用量アスピリン療法を施行した8例では、その妊娠継続率は77.8%だった。また、抗核抗体が80倍である以外異常所見のない9例に免疫療法を施行したが、8妊娠のうち、妊娠継続率は55.6%で、その成績は良好とはいえなかった。

6. 反復流産難治症例(表8)

今回検討した症例の中に各種の治療後、流産を反

表8 難治症例の治療経過

	症例1	症例2	症例3
初診時年齢(歳)	32	31	34
初診時流産回数	3	3	2
流産の原因	原因不明	抗核抗体	抗核抗体
治療後の妊娠回数	2	2	3
妊娠継続例	0	0	1
1st pregnancy			
治療	免疫療法	PSL/low dose aspirin	自然経過観察
妊娠の推移	流産(妊娠11週)	稽留流産	稽留流産
2st pregnancy			
治療	追加免疫療法 (妊娠初期)	免疫療法	免疫療法
妊娠の推移	稽留流産	PSL/low dose aspirin 流産(妊娠10週)	稽留流産
3st pregnancy			
治療			免疫療法
妊娠の推移			PSL/low dose aspirin 継続中

PLS: prednisolone

復する難治症例が3例(1.6%)認められた(表8)。

症例1は、原因不明の習慣流産のため免疫療法を施行後妊娠し、胎児心拍が認められたものの妊娠11週に流産となった。2回目の妊娠時は妊娠5週に追加免疫療法を施行したが、胎児心拍は認められず、再び稽留流産となった。

症例2は、抗核抗体160倍のためPSLおよび低用量アスピリン療法を施行し妊娠したが、稽留流産となった。2回目妊娠ではPSLおよび低用量アスピリン療法に免疫療法を加えた後に妊娠した。しかし、胎児心拍が認められたものの妊娠10週に流産となった。

症例3は既往連続流産歴2回で抗核抗体80倍陽性のみの異常であるため、初回妊娠は自然経過観察したが、稽留流産となった。さらに、2回目妊娠前に、免疫療法を施行したが稽留流産となった。3回目妊娠では抗核抗体陽性を考慮し、PSLおよび低用量アピリン療法を追加し、妊娠は継続し生児を得ることに成功した。

しかし、以上3例全例において治療後の流産について児の染色体検査は行われていなかった。

考 察

自然流産は全妊娠の約10%に認められ、その原因として胎児側の要因が多いといわれている。初期流産組織の染色体分析では約50%もの高率に染色体異常が認められ、自然流産の多くは染色体異常などの

受精卵に対する自然淘汰現象と考えられている。ところが、流産が連続的に繰り返されるときは、散発性流産と異なる何らかの原因が夫婦間に潜んでいる可能性が考えられる。このため、当科では2回以上の反復流産症例185例を対象として、反復流産外来で流産原因を検索し、各種治療を試みた。

はじめに、流産原因の調査につき検討した。夫婦における染色体異常をG-band法により認めた症例は4.3%であり、諸家の報告4-8.5%^{2,5)}とほぼ同等であった。また、それらのその後の妊娠継続率は83.3%と他の報告(11%)⁵⁾より良好であった。

反復流産症例で発見された子宮奇形は4.3%で、諸家の報告の10-20%^{2,3,5)}と比較して少なかった。当科では、子宮卵管造影検査により明らかな双角子宮や中隔および高度の弓状子宮に対してトンプキンス手術を行っている。症例数は少ないが手術施行群4例において、次回妊娠は全例継続したと自然経過をみた場合、妊娠率が低く、不妊症との関連も強く疑われることから、子宮形成術の有用性はかなり高いと考えられる。

高プロラクチン血症や潜在性高プロラクチン血症は、10.3%に認められ、他の報告³⁾(約15%)とほぼ同等であった。これらの症例に対するbromocriptine療法は有効で、妊娠継続率は81.8%であった。しかし、高PRL血症やOHPと流産の直接的な関連性は現在のところ明らかとなっておらず、これらは黄体機能不

全や反復流産に関係せず治療の必要性を認めないという考え方もある。臨床的有用性の裏付けとなる基礎的検討が今後必要と思われた。

自己免疫疾患を合併した妊娠は、流産や子宮内胎児死亡、あるいは子宮内胎児発育遅延の発症頻度が高いこと^{6,7)}が知られている。最近、不育症の原因の一つとして、抗リン脂質抗体症候群を代表とする自己免疫異常が注目されている。今回の治療ではアスピリン単独療法^{8,21)}、プレドニゾロン-アスピリン併用療法を行ったが、ヘパリン単独、ヘパリン-アスピリン併用、免疫グロブリン大量静注療法等も試みられている^{9,21-25)}。これら治療法の有効性は63-93%と報告^{9,21-25)}され今回の報告と同様、良好な成績の報告が多く、これら症例に対する妊娠中の積極的加療の有効性が示唆された。

一方、抗核抗体をはじめとするその他の各種自己抗体が膠原病では出現するが、臨床症状が伴わなくとも検査所見より自己免疫異常が認められる、潜在的な自己免疫疾患(あるいはsubclinical autoimmune disease)の発見率が最近、上昇している⁷⁻¹⁰⁾。習慣流産患者における抗核抗体陽性率は諸家の報告^{9,10,26,27)}では10.7%, 21.6%, 26.3%, 18.7%とされいるが、我々の成績でも29.7%と高頻度で認められた。今回、抗核抗体80倍の弱陽性者に限定して免疫療法を施行したが、その妊娠継続率は55.6%と不良であった。しかし、膠原病に準じたプレドニゾロン-低用量アスピリン療法あるいは低用量アスピリン療法を行った場合、妊娠継続率は88.9%, 77.8%であった。すなわち、抗核抗体陽性者の治療法は前述した自己免疫疾患を合併する症例に準ずる治療が有効である可能性が高い^{13,14)}。同様の視点からこのような抗核抗体陽性者に対して柴苓湯のステロイド作用や抗凝固作用を用いた治療法^{9,11,12)}が報告されている。しかし、河野¹⁰⁾の報告によると抗核抗体のみ陽性と反復流産との関連は少なく、今後、抗核抗体陽性症例に対する他の自己抗体等のスクリーニングの定型化を行い、プレドニン療法などの適応につき再検討する必要があると思われる。

通常のスクリーニング検査により原因不明の習慣流産に対しては、1981年にTaylorら¹⁵⁾が第三者リンパ球を用いた免疫療法を、また、一方、Beerら¹⁶⁾は夫リンパ球を用いた免疫療法を施行し、その有用性を報告してから、免疫療法が多施設において行われている。

Carolynら¹⁷⁾によればその有効性(妊娠継続率)は40-86%, 平均73%で、その他の報告^{5, 18)}も同等であっ

た。当科の免疫療法の成績は、既報^{19,20)}のように80-100%である。しかし、抗核抗体80倍弱陽性者に限定して行った免疫療法の妊娠予後は55.6%と不良であった。従って、今後、抗核抗体陽性者に対する免疫療法の適応は再検討する必要がある、より限定された免疫療法の適応を示さねばならないと考えられる。

難治性反復流産症例の取り扱いでは、原因に応じた治療を積極的に行うことが重要である。それと同時に、その後も流産を反復する例においては絨毛染色体検査を積極的に行うことにより流産原因を検索することが重要と思われる。

以上のことより、不育症に対して系統的な原因検索を行い個別の治療を行うことの有用性が示唆された。しかし、このような方針による治療後も流産を反復する原因不明症例の存在し、異なる視点からの原因検索が必要であると思われる。今後さらなる検討の必要性が示唆された。

文 献

- 1) 石原理, 飯野好明, 斉藤正博 他(1994) 内分泌不妊外来受診患者に対するホルモンスクリーニング検査の有用性に関する検討. 日不妊会誌 39:32-36
- 2) 八神喜昭, 花田征治(1995) 不育症の治療法. 産婦治療 70: 62-66
- 3) 牧野恒久, 根本泰子, 細川知俊 他(1995) 不育症. Perinatal Care 14:23-28
- 4) 藤本征一郎(1987) 不育症(習慣性流死産)と染色体異常. 産婦世界 39:519-526
- 5) 牧野恒久, 酒井淳, 杉俊隆 他(1989) 不育症の総合的検索と治療. 産婦世界 41:963-968
- 6) 中塚幹也, 吉田信隆, 長谷川淳 他(1993) 不妊不育症例における抗核抗体スクリーニングの検討. 日産婦誌 45:431-436
- 7) Fraga A, Mintz G, Orzoro J, et al. (1974) Sterility and fertility rates, fetal wastage and maternal morbidity in systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1:293-295
- 8) Scott J R, Rote N S and Branch DW (1987) Immunologic aspects of recurrent abortion and fetal death. Obstet Gynecol 70:645-656
- 9) 山本弘, 金谷美加, 森悟子 他(1994) 反復流産患者の各種自己免疫抗体陽性率およびその治療成績. 日不妊会誌 39:387-392
- 10) 河野雅洋(1994) 不育症婦人における自己抗体に関する研究. 日産婦誌 46:1205-1212
- 11) 田中栄一, 高橋俊文, 大野勉 他(1995) 自己抗体陽性不育症患者に対する柴苓湯の有用性に関する

- 臨床検討. 日産婦誌 47:421-424
- 12) 田中栄一, 高橋俊文, 大野勉 他(1994) 柴苓湯内服により正期産に至った抗核抗体陽性不育症患者の一例. 山形県病医誌 28:62-65
 - 13) Saitoh M, Takeda S, Ishihara O (1992) Spontaneous recurrent fetal wastage and autoimmune abnormalities: Efficacy of prednisolone and low dose aspirin therapy. Proceedings of the 6th annual meeting in Tokyo of JSIR:194-197
 - 14) Saitoh M, Ishihara O, Takeda S (1992) The significance of antinuclear antibodies during pregnancy. Proceedings of the 7th annual meeting held in Kagoshima of JSIR 281-283
 - 15) Taylor CG and Faulk WP (1981) Prevention of recurrent abortion by leukocyte transfusions. Lancet 2: 142-149
 - 16) Beer AE, Quebbeman JF, Ayers JWT, et al. (1981) Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal immune responses, and chronic habitual abortions in humans. Am J Obstet Gynecol 141:987-999
 - 17) Carolyn CB, Coulam CH (1992) Update on immunotherapy for recurrent pregnancy loss. Am J Reprod Immunol 27:124-127
 - 18) 中野隆, 中島正雄, 石川博士 他(1997) 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. 日不妊会誌 42: 50-57
 - 19) 斉藤正博, 竹田 省, 関 博之, 木下勝之, 坂元正一(1990) 習慣流産に対する免疫療法について. 日産婦埼玉地方部会誌 20:87-89
 - 20) 斉藤正博, 石原理, 関博之, 竹田省, 木下勝之, 平田蘭子, 前田平生(1997) 反復流産症例に対する免疫療法と抗HLA抗体の産生について. 日不妊会誌 42:83-89
 - 21) Balasch J, Font J, Lopez-Soto A, et al. (1990) Antiphospholipid antibodies in unselected patients with repeated abortion. Hum Reprod 5:43
 - 22) Lubbe WF, Butler WS, Palmer SJ, et al. (1983) Fetal survival after prednisolone suppression of maternal lupus-anticoagulant. Lancet 1:1361
 - 23) Rosove MH, Tabsh K, Wasserstrum N, et al. (1990) Heparin therapy for pregnant women with lupus anticoagulant or anticardiolipin antibodies. Obstet Gynecol 76:630
 - 24) Cowchock FS, Reece EA, Balaban D, et al. (1992) Repeated fetal losses associated with antiphospholipid antibodies: A collaborative randomized trial comparing prednisolone with low dose heparin treatment. Am J Obstet Gynecol 166:1318-1323
 - 25) Branch DW, Scott JR, Kochenour NK, et al. (1985) Obstetric complications associated with the lupus anticoagulant. N Engl J Med 313:1322
 - 26) 牧野恒久, 豊島究, 飯塚理八(1990) 習慣流産のホルモン療法: 抗リン脂質抗体症候群を中心に. 産婦治療 60:286-290
 - 27) 平成3年度厚生省心身障害研究班報告(1990) 妊娠の異常発現予知と対策に関する研究: 反復流産の原因とその治療に関する研究-自己免疫異常の妊娠動態とその対策に関する研究. pp179

(受付: 1998年2月4日)

(受理: 1998年5月25日)

Analysis of Recurrent Spontaneous Abortion and Subsequent Outcomes of Pregnancy in Couples with Recurrent Spontaneous Abortion

Masahiro Saitoh, Osamu Ishihara, Naoki Hayashi,
Kuniko Arai, Satoru Takeda and Katsuyuki Kinoshita

Department of Obstetrics and Gynecology,
Saitama Medical Center, Saitama Medical School, Saitama, 350-0844, Japan

Ranko Hirata and Hiroo Maeda

Department of Blood Trans Service,
Saitama Medical Center, Saitama Medical School, Saitama, 350-0844, Japan

One-hundred and eighty-five cases of patients with recurrent miscarriages were screened thoroughly with examination and laboratory tests and then treated with the most promising methods in cause-specified cases. Of the cases, aged 31.2 ± 4.3 years old at the time of the first visit, 83.2% were the primary recurrent miscarriages.

Apparent factors that seemed to contribute recurrent miscarriages were chromosomal anomaly (3.8%), uterine anomaly (4.9%), hyperprolactinemia and occult hyperprolactinemia (10.3%), autoimmune diseases including

systemic lupus erythematoses (7.0%) and positive anti-nuclear antibodies (29.7%). Forty-seven percent of the patients presented totally negative results despite thorough investigation. We, therefore, adopted various therapeutic strategies including metroplasty, bromocriptine, predonisolone with low dose aspirin and besides immunotherapy for the patients with unknown origin.

Each specific therapy showed satisfactory results of successful continuation of pregnancy at the rate among 82 to 100%. The immunotherapy using husbands' lymphocytes were also effective in 71.0% of cases with unknown origin, though three cases resulted in repeated miscarriage after immunotherapy.

The study suggests that new screening methods are necessary to reveal unknown origin though most of the patients with repeated miscarriage were successfully treated with appropriate therapeutic strategy to specific known reasons.

Key Words: recurrent spontaneous abortion, immunotherapy, antiphospholipid syndrome, hyperprolactinemia, metroplasty

(Jpn J Fertil Steril 43:185-193 1998)

Metabolism of Exogenous Fatty Acids by Preimplantation Rabbit Embryos

M. A. M. Yahia KHANDOKER* and Hirotada TSUJII

Faculty of Agriculture, Shinshu University,
Nagano 399-4511, Japan

Abstract: The metabolism of exogenous fatty acids by preimplantation rabbit embryos was examined. Fatty acid oxidation was assessed by incubating embryos of various stages for 4h in a medium containing ^{14}C -palmitic acid and measuring the production of $^{14}\text{CO}_2$. The rate of fatty acid oxidation was relatively constant in the 1-cell and 2-cell stages, but increased significantly in the 4-cell stage and continued to increase up to the blastocyst stage. Incorporation of ^3H -palmitic acid into embryo lipids was examined by culturing morulae for 2h. Lipids were extracted and fractionated by thin-layer chromatography. Radioactivity was recovered in various neutral and polar lipid classes. Among the neutral lipid species, about 50% of the radioactivity was recovered in triacylglycerol while the proportion recovered in fatty alcohols and diacylglycerol was 19.0%, and 16.5%, respectively. Among the polar lipids, most of the radioactivity was recovered in choline phosphatides (77.5%). Radioactivity was also recovered in other neutral and polar lipid fractions. Mild alkaline methanolysis of embryo lipid extracts indicated that most of the radioactivity entered embryo lipids as fatty acid.

Key words: palmitic acid, incorporation of fatty acid, oxidation of fatty acid, rabbit embryo,

(Jpn J Fertil Steril 43:195-201 1998)

Introduction

Fatty acids, phospholipids, and glycerides are very important components of mammalian cells. In addition to their role in signal transduction as inositol conjugates, phospholipids are integral components of the cell membrane, and free fatty acids and triacylglycerols are an important source of energy for cellular metabolism^{1,2}. Changes in fatty acid and sterol compositions of the cell membrane have been shown to alter the permeability and fluidity properties of the lipid bilayer³. Thus any change in the types of fatty acids or lipids provided to cells may influence both the structure and metabolism of the cells^{4,5}.

Our previous work indicated that rabbit embryos and oviductal and uterine fluids contain several types of saturated and unsaturated fatty acids^{6,7}. It is reported that exogenously supplied fatty acids are beneficial for growth and continued development of rabbit ova^{8,9}. However, it remains to be determined how

the preimplantation rabbit embryo metabolizes exogenous fatty acids added to the culture medium. The present study was undertaken to assess the ability of rabbit embryos of various stages to metabolize exogenous fatty acids, relative to the preimplantation stage. The oxidation of palmitic acid to carbon dioxide and the incorporation of this fatty acid into embryo lipids were examined.

Materials and Methods

Animals and embryo collection: Reproductive ducts were collected from superovulated Japanese White does, which were maintained singly in metal cages. Superovulation was induced according to the method of Hafez¹⁰. Pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) (50 iu) was injected subcutaneously for 3 days followed 1 day later by simultaneous intravenous injection of human chorionic gonadotrophin (hCG) (50 iu). Immediately after the injection of hCG, the animals were allowed to mate with two fertile bucks. One,

*Present address: Bangladesh Agricultural Institute, Dhaka-1207, Bangladesh.

two- and four-cell embryos, morulae and blastocysts were collected from mated females by flushing of either the oviduct or the uterus with phosphate-buffered saline (PBS). The embryos collected were washed with PBS 3-4 times and with the appropriate culture medium before use in the experiments.

Experiment on fatty acid oxidation in embryos: Krebs Ringer bicarbonate (KRB) medium without carbohydrate substrates was prepared. Fatty acid-free BSA (FAF-BSA, Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) was used instead of BSA F-V and ^{14}C -palmitic acid was added as follows. About 740KBq of [^{14}C]palmitic acid (specific activity 1.85GBq/mmol; Moravak Biochemicals, Inc., California, USA) in ethyl alcohol and 0.4ml of a 1mM solution of unlabeled palmitic acid in benzene were placed in a sterile glass tube and mixed well. After removal of the organic solvents by evaporation, 4ml of culture medium was added. The tube was sealed and placed in a water bath at 37°C for 30min with gentle shaking. The concentration of palmitic acid in this medium was 0.1mM.

Carbon dioxide production from fatty acids by cultured embryos was measured according to the method of Brinster¹¹. Embryos of each stage, from the one-cell stage to the early blastocyst stage, were washed 3-4 times in carbohydrate-free medium. Ten embryos were put into a 100 μl drop of medium containing ^{14}C -palmitic acid placed in a culture tube and 2-3 drops of silicone oil were added as a covering. The tube was then placed in a scintillation vial together with a 2-ml empty bottle. A rubber stopper was used to close the vial. Each scintillation vial was flushed with 5% CO_2 in air through a stopper-penetrating needle and then incubated at 37°C for 4h. At the end of the 4-h incubation period, 0.1ml of 1 N H_2SO_4 was injected into the culture tube, and 1ml of 1M hyamine (Nacalai Tesque Inc, Kyoto, Japan) was injected into the empty bottle through the covering rubber stopper. The scintillation vials were left sealed at room temperature for 48h. Thereafter, the rubber stoppers and the culture tubes were removed. Ten milliliters of scintillation cocktail was added and mixed well with the hyamine. Radioactivity was then measured. Blank values were obtained from control incubations without embryos.

Experiment on the incorporation of exogenous fatty acid into embryo lipids: The experiment was performed

according to the method of Flynn and Hillman¹².

Culture medium: The culture medium used was KRB, containing essentially FAF-BSA (Sigma Chemical Co.). The culture medium containing radioactive fatty acid was prepared as follows: 0.2ml of a 1 mM solution of palmitic acid in benzene and 9.25MBq of [^3H]palmitic acid (specific activity 1.85 TBq/mmol; Moravak Biochemicals, Inc.) in ethyl alcohol were mixed in a sterile glass tube. The organic solvents were removed by evaporation and 2ml of culture medium was added. The tube was then placed in a water bath at 37°C and shaken gently for 30min. The concentration of palmitic acid in this medium was 0.1mM, and the molar ratio of palmitic acid to albumin was about 1.2.

Culture and extraction and fractionation of lipids: Morulae, 10 each in 100 μl drops of ^3H -palmitic acid-containing medium, were incubated for 2h and washed 3-4 times in non-radioactive medium after the incubation period. Seventy morulae were pooled as one sample and used for lipid extraction. Lipids were extracted from the embryos with chloroform-methanol according to the method of Bligh and Dyer¹³ as described elsewhere⁷. After separation from the alcoholic layer, the chloroform layer was collected and evaporated. The lipid extracted was re-dissolved in 1.0ml of hexane and aliquots of this extract were used for further analysis.

Thin-layer chromatography: Thin-layer chromatography (TLC) was carried out using aluminium sheet silica gel 60 thin-layer plates (2.5 \times 7.5cm; Merck, Darmstadt, Germany). For the fractionation of neutral lipids, the extracted lipid was developed in hexane/ diethyl ether/ glacial acetic acid (80:20:2 by volume) at room temperature. For characterization of the polar lipid fractions, development was done in methyl acetate/ propan-1-ol/ chloroform/ methanol/ 0.25% aqueous KCl (25:25:25:10:9 by volume)¹⁴. Appropriate non-labeled standard lipids (purchased from Supelco, Inc., Bellefonte, USA, Larodon Fine Chemicals, Malmo, Sweden or Nu-Chek Prep Inc., Minnesota, USA) were added to embryo lipids so as to provide enough material for detection on the thin-layer plates. Spots were visualized by spraying the plates with 0.7% $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ in 55% H_2SO_4 followed by heating at 100-110°C for 1h. Spots were scraped from the plates

Table 1. Carbon dioxide production from [1-¹⁴C] palmitic acid by preimplantation rabbit embryos

Stage of embryo development	Hours after ovulation	¹⁴ CO ₂ output, CPM/embryo/4h (Mean ± S. D.) ¹
One-cell	8	48.7 ± 2.78 ^a
Two-cell	32	55.8 ± 8.70 ^a
Four-cell	56	93.6 ± 9.66 ^b
Morula	84	128.4 ± 17.55 ^c
Blastocyst	108	174.3 ± 26.25 ^d

Embryos were cultured in FAF-BSA, carbohydrate free medium with [1-¹⁴C] palmitic acid for 4h.

¹Data were pooled from 4-5 replicates (10 embryos/replicate) at each stage of development. Means with different superscripts a, b, c or d: were significantly different from each other as indicated by Student's t-test (p<0.05).

and collected separately in scintillation vials containing 1ml of water and 10ml of scintillation cocktail and the radioactivity in each sample was measured. The scintillation cocktail contained 0.5% 2,5-diphenyloxazole and 0.03% 2,2-p-phenylene-bis-(5-phenyl oxazole) in toluene.

Mild alkaline methanolysis of lipids: In order to check whether the tritium in various lipid fractions could be attributed readily to the incorporation of ³H-palmitic acid into lipids in these fractions or whether it was the result of metabolic recycling of hydrogen in the acid, mild alkaline methanolysis of the extracted lipids was carried out according to the method of Flynn and Hillman¹². Briefly, a portion of each lipid extract sample was transferred to a test tube and dried by solvent evaporation. The residue was re-dissolved in 0.3ml of toluene-methanol (1:1, by volume). Then, 0.3ml of 0.2N KOH in methanol was added and the sample was incubated at 37°C for 20min. The reaction was stopped by the addition of 3 drops of ethylformate, and the reaction products were partitioned by the addition of 0.5ml of chloroform and 0.3ml of water. The radioactivity was determined in both the chloroform-soluble fraction and the aqueous fraction.

Measurement of radioactivity and statistical analyses: Radioactivity was measured by means of a liquid scintillation counter (LS 6500, Beckman Instruments, Inc., California, USA) as counts per minute (CPM). In the tritium experiment, the radioactivity in each fraction was converted to the percentage of total radioactivity recovered. All values presented in the tables

are the mean ± S.D. and Student's t-test was used for comparisons of the means.

Results

Carbon dioxide production from [1-¹⁴C]palmitic acid by embryos

Carbon dioxide production from exogenous ¹⁴C-palmitic acid was detected in assays with rabbit embryos at every developmental stage examined. The results obtained are shown in Table 1. The rate of fatty acid oxidation was relatively constant in the 1-cell and 2-cell stages, the rate increased significantly between the 4-cell and morula stages (p<0.05) and continued to increase up to the early blastocyst stage.

Incorporation of [9,10-³H]palmitic acid into embryo lipids

Total lipid extract: An average of 479 cpm/ embryo/

Table 2. Distribution of radioactivity in neutral lipid fractions from rabbit morulae cultured with [9, 10-³H] palmitic acid for 2h

Fraction	Radioactivity, % (Mean ± S.D.)
Triacylglycerols	50.5 ± 1.99
Diacylglycerols	16.5 ± 3.03
Monoacylglycerols	3.9 ± 1.67
Fatty acids	2.9 ± 1.98
Fatty alcohols	18.0 ± 3.75
Sterol esters	4.4 ± 2.96
Polar lipids at origin	3.8 ± 2.18

Results are expressed as the proportion of total radioactivity recovered in each neutral lipid class in terms of percentages. Values were obtained from three determinations.

2h was recovered in the total lipid extract.

Neutral lipids: The distribution of radioactivity among individual neutral lipid fractions is shown in Table 2. The major types of labeled neutral lipids were triacylglycerols and fatty alcohols, accounting for 50.5 and 18.0% of the total radioactivity recovered, respectively. Radioactivity was also found in diacylglycerol, monoacylglycerol, fatty acid and sterol ester fractions and the recovery percentages were 16.5, 3.9, 2.9 and 4.4, respectively. About 4% of the total radioactivity remained at the origin with the polar lipid fraction.

Polar lipids: The distribution of radioactivity among individual polar lipids is shown in Table 3. Radioactivity was recovered in both phospholipid and glycolipid classes. The major type of labeled polar lipid was choline phosphatides, accounting for 77.5% of the total radioactivity in polar lipids. Other labeled phospholipids included ethanolamine phosphatides, inositol phosphatides and choline lysophosphatides comprising 5.9, 4.1 and 3.6%, respectively. In addition, 9.0% of the total radioactivity in polar lipids was recovered in the glycolipid fractions. Around two thirds of this amount of radioactivity was found in the sulfatide fraction, and the remainder was in the cerebrosides.

The relative proportions of radioactivity recovered in the chloroform-soluble and aqueous products of alkaline methanolysis of embryo lipids are shown in Table 4. Most of the radioactivity, over 85 %, was recovered in the chloroform-soluble material, while 14.7% was recovered in the water-soluble material.

Table 3. Distribution of radioactivity in polar lipid fractions from rabbit morulae cultured with [9, 10-³H] palmitic acid for 2h

Fraction	Radioactivity, % (Mean \pm S.D.)
Phospholipids	
Choline phosphatides	77.5 \pm 2.15
Ethanolamine phosphatides	5.9 \pm 1.50
Inositol phosphatides	4.1 \pm 0.57
Choline lysophosphatides	3.6 \pm 1.05
Glycolipids	
Sulfatides	5.5 \pm 2.65
Cerebrosides	3.5 \pm 0.19

Results are expressed as the proportion of total radioactivity recovered in the polar lipid class in terms of percentages. Values were obtained from three determinations.

Table 4. Distribution of radioactivity among products of alkaline methanolysis of the lipids extracted from rabbit morulae cultured with [9, 10-³H] palmitic acid for 2h

CHCl ₃ -soluble products (%)	H ₂ O-soluble products (%)
Mean \pm S. D	Mean \pm S. D
85.3 \pm 2.88	14.7 \pm 2.88

Results are expressed as the proportion of radioactivity recovered in the chloroform-soluble and aqueous products in terms of mean percentages, in three determinations.

Discussion

Rabbit embryos can oxidize palmitic acid to carbon dioxide even at the 1-cell stage, although the rate of fatty acid oxidation was found to increase from the 4-cell stage onwards. In this experiment, no carbohydrate substrates were added to the culture medium. Under such conditions, the fatty acid supplied was undoubtedly used as an energy source. A large proportion of the ³H-palmitic acid entered triacylglycerols in the incorporation experiment with carbohydrate substrates added. When no other energy source is supplied, this fatty acid might be oxidized by the cells as a means of obtaining energy.

The finding that the ability of the rabbit embryo to oxidize palmitic acid increased during the period between the 4-cell and morula stages coincides with the time of entrance of the embryo into the uterus from the oviduct which occurs between these two stages¹⁵⁾. The change in the environment of the embryos may be associated with a change in their metabolic capabilities. The metabolic rate, whether judged by oxygen uptake or carbon dioxide output in vitro, remains relatively constant during the early cleavage divisions, but increases sharply between the morula and blastocyst stage¹⁵⁾. Thus, there is a close correlation between the changes in the rates of oxygen uptake and fatty acid oxidation.

Results of the incorporation experiment revealed that preimplantation rabbit embryos could utilize exogenous fatty acids by incorporating them into various kinds of lipids. The ³H-palmitic acid taken up from the culture medium was recovered in both the neutral and polar lipids. The major type of labeled neutral lipid was triacylglycerols and radioactivity was also

found in diacylglycerol, monoacylglycerol, fatty acid and sterol ester fractions. We have observed that when rat embryos are cultured with ^3H -palmitic acid, a large proportion of the tritium is incorporated into neutral lipids, and triacylglycerols are the major type of labeled neutral lipids in this case (unpublished data). The major biological function of triacylglycerols is to serve as a stored form of metabolic energy. It seems likely that preimplantation rabbit embryos synthesize and store this kind of lipid in preparation for specific developmental events such as hatching. This lipid may serve as the major metabolic energy source during the late blastocyst stage.

Our finding that the second highest level of radioactivity was recovered in fatty alcohols was unexpected. The rate of incorporation in the present study is consistent with our unpublished data on rats and suggests that preimplantation rabbit embryos can change fatty acids to the corresponding fatty alcohol. Fatty alcohols are necessary components of ether lipids. Ether phospholipids formed by addition of phosphoric acid and bases to ether lipids are known to be distributed widely in the brain and nervous tissues, bone marrow and leucocytes of higher vertebrates.

The distribution pattern of labeled palmitic acid incorporated into phospholipids of rabbit embryos was roughly in accord with the known relative abundance of these lipids in rats embryos (unpublished), mouse embryos^{12,16}, and autosomal cells of mammals¹⁷. The labeling of phospholipids was probably a reflection of the generation of new cellular membranes in the rabbit embryo. The proliferation of membranes and their integrity may be important factors controlling the growth of preimplantation embryos, and the functional differentiation of cells at each stage. Both the cellular changes associated with cleavage and the subsequent growth of the embryo require the assembly of new intracellular and plasma membranes^{18,19}. Striking changes in the properties of embryonic membranes also occur during crucial transitions in early development. Phospholipids are produced from triacylglycerols by the action of phospholipases^{20,21} and it is known that mammalian embryos have the ability to synthesize phospholipids²¹⁻²³.

The major glycolipid labeled by ^3H -palmitic acid was cerebroside. Cerebrosides are the precursors of acidic

gangliosides and neutral globosides of sphingoglycolipids which are necessary lipid components of cell surface membranes²⁴. The synthesis of cerebrosides by preimplantation rabbit embryos might be, therefore, a reflection of the generation of new cell membranes at this stage. Glycolipids are very important components of antigens, especially surface antigens, of preimplantation embryos¹⁶ as well as adult tissues²⁵⁻²⁷. Diacylglycerols are intermediates in the metabolism of triacylglycerol and glycolipids²⁸.

Alkaline methanolysis cleaves lipid-bound fatty acid esters from the parent lipid with the resultant formation of their corresponding fatty acid methyl esters and these esters are extracted with chloroform. More than 85% of the radioactivity from ^3H -palmitic acid was found in the chloroform-soluble products. This result seems to indicate that most of the radioactivity enters embryo lipids as the labeled fatty acid itself, not via metabolic recycling of tritium. On the other hand, the radioactivity detected in water-soluble products (14.70%) was also considerable. We obtained a similar value in the case of rats (unpublished results). The radioactivity of the water-soluble product is considered to be due to the incorporation of tritium into the polar moiety of lipids such as glycerol and phosphoric acid.

The results of the present study indicate that metabolism of lipids and fatty acids plays an important role in embryonic development even at the early preimplantation stage.

Acknowledgments

M. A. M. Yahia Khandoker gratefully acknowledges the financial assistance provided by the Ministry of Education, Science, and Culture of Japan in the form of a scholarship during the course of this study.

References

- 1) Pratt HPM (1978) Lipids and transitions in embryos. In: Johnson, MH (ed.) *Development in Mammals*, vol.3, North Holland publishing Co. Amsterdam, pp83-129
- 2) Spector AA and Yorek MA (1985) Membrane lipid composition and cellular function. *J Lipid Res* 26: 1015-1035
- 3) Yeagle PL (1991) Modulation of membrane function by cholesterol. *Biochimie* 73:1303-1310

- 4) Merrill AH Jr and Schroeder JJ (1993) Lipid modulation of cell function. *Annu Rev Nutr* 13: 539-559
- 5) Sumida C, Graber R, Nunez E (1993) Role of fatty acids in signal transduction: Modulators and messengers. *Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids* 48:117-122
- 6) Khandoker MAMY, Tsujii H, Karasawa D (1996) Fatty acid analysis of oocytes, oviductal and uterine fluids of Rabbit. *Anim Sci Technol* 67:549-553
- 7) Khandoker MAMY, Tsujii H, Karasawa D (1998) A kinetic study of fatty acid composition of embryos, oviductal and uterine fluids in the rabbit. *Asian-Australasian J Anim Sci* 11:60-64
- 8) Kane MT (1979) Fatty acids as energy sources for culture of one-cell rabbit ova to viable morulae. *Biol Reprod* 20:323-333
- 9) Kane MT and Headon DR (1980) The role of commercial bovine serum albumin preparations in the culture of one-cell rabbit embryos to blastocysts. *J Reprod Fert* 60:469-475
- 10) Hafez ESE (1970) Rabbits. In: Hafez ESE (ed.) *Reproduction and breeding techniques for laboratory animals*. Lea & Febiger Philadelphia pp. 273-315
- 11) Brinster RL (1967) Carbon dioxide production from glucose by the preimplantation mouse embryo. *Expl Cell Res* 47:271-277
- 12) Flynn TJ and Hillman N (1980) The metabolism of exogenous fatty acids by preimplantation mouse embryos in vitro. *J Embryol Exp Morphol* 56:57-168
- 13) Bligh EG and Dyer WJ (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37:911-917
- 14) Vitiello F and Zanetta JP (1978) Thin layer chromatography of phospholipids. *J Chromatogr* 166:637-640
- 15) Maclaren A (1990) The embryo. In: Austein CR, Short RV (eds.) *Reproduction in Mammals : Book 2. Embryonic and Fetal Development*, 2nd ed., Cambridge University Press, Cambridge. pp.1-25
- 16) Flynn TJ and Hillman NJ (1978) Lipid synthesis from U-14C glucose in preimplantation mouse embryos in culture. *Biol Reprod* 19:922-926
- 17) Bishop DG (1971) The distribution and function of lipids in cells. In: Johnson AR, Davenport JB (eds.) *Biochemistry and Methodology of Lipids*. Wiley Interscience, New York pp. 427-473
- 18) Calarco PG and Brown EA (1969) An ultrastructural and cytological study of preimplantation development of the mouse. *J Exp Zool* 171:253-284
- 19) Thompson GA (1989) Lipid molecular species retailoring and membrane fluidity. *Trans Biochem Soc* 17:286-289
- 20) Singleton CLK and Killian GJ (1983) A study of phospholipase in albumin and its role in inducing the acrosome reaction of guinea pig spermatozoa in vitro. *J Androl* 4:150-156
- 21) Waldman SA, Chepenik KP, Waite BM (1984) Acyl composition and phospholipase activities in plasma membranes isolated from rat embryos. *Int J Biochem* 16:593-599
- 22) Beall JR and Klein MF (1971) Lipid biosynthesis in vitro by rabbit embryos. *Int J Biochem* 2:441-447
- 23) Chepenik KP, Borst DE, Waite BM (1977) Cholinephospho-transferase activities in early rat embryos and their associated placentas. *Devl Biol* 60:463-472
- 24) Hakomori S (1975) Structures and organization of cell surface glycolipids: Dependence on cell growth and malignant transformation. *Biochim Biophys Acta* 417:55-89
- 25) Nagai Y, Hoshi M, Osawa T (1976) Glycolipids in fertilization and in early development. *Protein, Nucleic acid, Enzyme* 19: (Abst.) 128
- 26) Willison KR, Karol RA, Suzuki A, et al. (1982) Neutral glycolipid antigens as developmental markers of mouse teratocarcinoma and early embryos : An immunological and chemical analysis. *J Immunol* 129:603-609
- 27) Yamamoto M, Boyer AM, Schwarting GA (1985) Fucose containing glycolipids are stage-and region-specific antigens in developing embryonic brain of rodents. *Proc Nat Acad Sci (USA)* 82:3045-3045
- 28) Conn EE, Stumpf PK, Bruening G, et al. (1987) Lipid metabolism. In: Patricia B (ed.) *Outlines of Biochemistry*, 5th ed, John Wiley & Sons, New York, pp.413-446

(Received March 27 : 1998)

(Accepted May 27 : 1998)

着床前ウサギ胚における外因性脂肪酸の代謝

信州大学農学部

M.A.M. Yahia Khandoker, 辻井 弘忠

着床前ウサギ胚を用いて外因性脂肪酸の代謝を調べた。脂肪酸の酸化は、 ^{14}C -パルミチン酸を含む培養液で種々の段階の胚を4時間培養を行い、 $^{14}\text{CO}_2$ 生産量を定量した。脂肪酸の酸化の比率は、1および2細胞期は相対的に変わらなかった。4細胞期から有意に酸化が増加し、胚盤胞期まで連続的に増加した。桑実胚の培養2時間目において、取り込まれた ^3H -パルミチン酸が胚内の脂質に検出された。胚から脂質を抽出し、総脂質を薄層クロマトグラフィーで脂質を各種中性および極性脂質に分画した。その結果中性脂質において、放射能を有する約50%がトリグリセライド、次いで脂肪酸アルコール19%、ジグリセライド16.5%が存在した。極性脂質において、回収された放射能のほとんどはフォスファチジルコリン(77.5%)であった。他の回収された放射能は中性脂質と極性脂質中にも存在した。これらのことから胚脂質中の放射能にラベルされたパルミチン酸は胚脂質中で穏やかにアルカリメタノンクシスが行われていた。

キーワード：パルミチン酸、脂肪酸の取込み、脂肪酸の酸化、ウサギ胚

(日不妊会誌 43:195-201 1998)

20歳未満に発症した婦人科疾患， とくに卵巣腫瘍の臨床病理学的検討

A Clinicopathological Study of Ovarian Tumors Occurring in Patients under 20 Years of Age

熊本大学医学部産科婦人科学教室

小野田 親 片 渕 秀 隆 小 山 秀 樹
Chikashi ONODA Hidetaka KATABUCHI Hideki KOYAMA
松 浦 講 平 岡 村 均
Kohei MATSUURA Hitoshi OKAMURA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto 860-8556, Japan

熊本大学医学部附属病院婦人科において1986年から1996年までの11年間に入院にて治療を行った20歳未満の疾患の検討を行い，さらに卵巣腫瘍について臨床病理学的検討を加えた。

同期間の20歳未満の入院患者48例中，卵巣腫瘍は19例(39.6%)で，最も多い疾患であった。さらに，類卵巣腫瘍が10例(20.8%)で，その他に内性器異常，内分泌異常，骨盤内感染症，外陰部損傷，腔内異物，外陰部腫瘍，子宮筋腫，子宮頸管ポリープがみられた。全卵巣腫瘍における20歳未満の占める割合は良悪性を問わず5～6%であった。20歳未満の卵巣腫瘍では，20歳以上のそれと比べて境界悪性・悪性腫瘍の割合がやや高い傾向がみられた。また，境界悪性腫瘍が月経発来以前から認められるのに対して，良性および悪性腫瘍は月経発来前後から認められる傾向が示された。境界悪性・悪性腫瘍の組織型は，20歳未満では20歳以上に比して胚細胞腫瘍の占める割合が高く，表層上皮性・間質性腫瘍の占める割合は低かった。表層上皮性・間質性腫瘍は良悪性を問わず，全例月経発来後の症例で，性索間質性腫瘍の2例はいずれも初経のみられていない症例であった。胚細胞腫瘍の奇形腫では，月経発来以前の症例はいずれも未熟型で，成熟型は認められなかった。これら境界悪性・悪性腫瘍8例中7例に妊孕性温存手術を行い，小児2例を除いた5例にその後整順な月経がみられ，2例に妊娠が成立し，その1例は2児を得ている。

若年者に発症する卵巣腫瘍の頻度は高いものではないが，根治性と妊孕性温存の両面から治療方針の決定が必要であり，さらに予後の追跡とともに結婚などの社会的要素を含めた十分な対応が必要である。

キーワード：卵巣腫瘍，若年者，妊孕性温存手術，化学療法，妊孕能

(日不妊会誌 43:203-208 1998)

緒 言

乳幼児期から思春期にみられる婦人科領域の疾患は、成人に比較すると頻度は低いのが、この年齢に特徴的な内性器異常の他に胚細胞や性索間質性の卵巣腫瘍がある。若年者の卵巣腫瘍では根治性と妊孕性温存の両者を考慮する必要がある、その取り扱いには慎重な対応が求められる。今回、当教室において入院にて加療を行った20歳未満の症例について検討を行い、文献的考察を加え報告する。

対 象

対象は1986年から1996年までの11年間に熊本大学

表1 20歳未満入院患者の疾患
(1986~1996年; 熊本大学)

卵巣腫瘍	19例 (39.6%)
類卵巣腫瘍*	10例 (20.8%)
内性器異常	6例 (12.5%)
内分泌異常	4例 (8.3%)
骨盤内感染症	4例 (8.3%)
外陰部損傷	1例 (2.1%)
腔内異物	1例 (2.1%)
外陰部腫瘍	1例 (2.1%)
子宮筋腫	1例 (2.1%)
子宮頸管ポリープ	1例 (2.1%)
計	48例 (100.0%)

*類卵巣腫瘍には卵巣腫瘍茎捻転により壊死のために病理組織学的に腫瘍成分が確認されなかった症例もふくまれる。

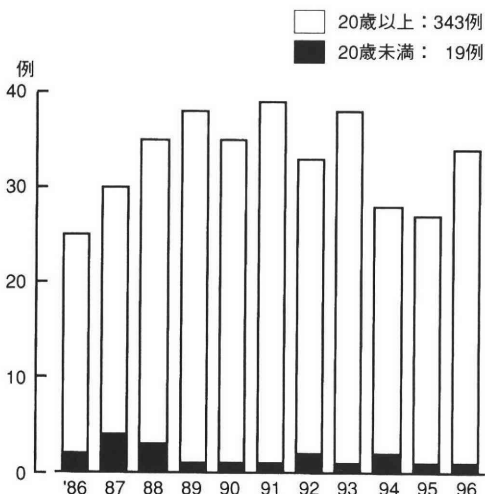


図1 全卵巣腫瘍症例に占める20歳未満の割合
(1986年~1996年; 熊本大学)

医学部附属病院婦人科に入院の上加療を行った20歳未満の48症例で、それらの疾患の内容と治療を解析し、つづいて卵巣腫瘍の19例について臨床病理学的検討を行った。

結 果

1. 20歳未満の入院患者の疾患

対象となる48症例は、同期間の当科の入院総数2,971例の1.6%を占めた。その内訳を表1に示すが、卵巣腫瘍が19例、39.6%で、類卵巣腫瘍の10例、20.8%を含めると全体の60%を超えていた。次に多い疾患は月経発来に伴って症状が出現した内性器異常の6例で、その中の4例は米国不妊学会の子宮奇形分類のクラスII(単角子宮)bの副角子宮との交通なしで、その他にRokitansky症候群と処女膜閉鎖が各1例であった。内分泌異常の4例は、子宮内膜増殖症、機能的出血、思春期早発症疑い、原発性無月経で、いずれも内分泌学的検査で異常が認められず、外来にて経過観察となった。

2. 卵巣腫瘍に占める20歳未満症例の割合

当科における先の期間の卵巣腫瘍は362例で、20歳未満の19例が全卵巣腫瘍に占める割合は5.2%で、過去11年間にわたってその占有率に変動はみられなかった(図1)。また、境界悪性ならびに悪性の卵巣腫瘍の総数は141例で、その中で20歳未満の症例は8例、5.7%を占め、全卵巣腫瘍に占める20歳未満の症例の割合とほぼ同様の数値を示した(図2)。

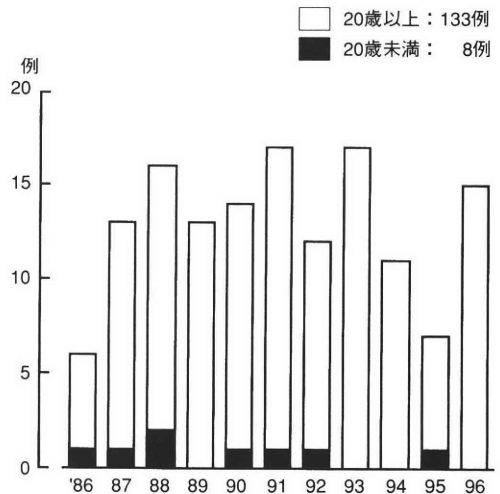


図2 境界悪性ならびに悪性卵巣腫瘍全症例に占める20歳未満の割合
(1986年~1996年; 熊本大学)

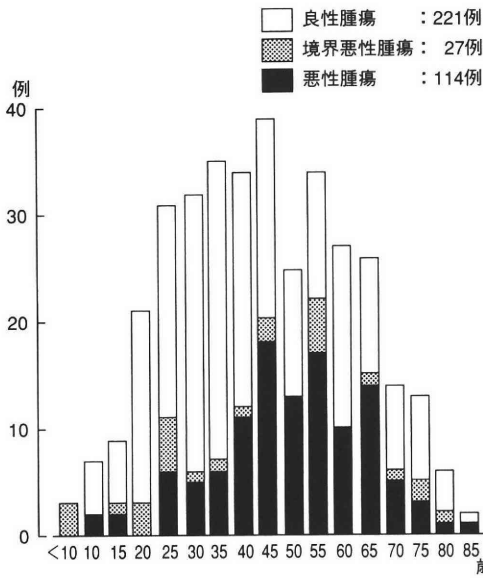


図3 卵巣腫瘍の年齢分布 (1986年～1996年；熊本大学)

3. 卵巣腫瘍の年齢分布

卵巣腫瘍を年齢別にみると、その数は20歳以降に増加し、70歳以降で減少する傾向がみられた(図3)。これらについて良性、境界悪性、悪性の3群に分けてみると、境界悪性および悪性卵巣腫瘍が40歳以降に増加し、70歳以降に減少する傾向が示された(図3)。

一方、20歳未満では、総数は少ないものの境界悪性および悪性腫瘍の割合が42.1%で、成人におけるその割合の38.8%と比較してわずかに高い値を示した。

20歳未満に発症した卵巣腫瘍の年齢分布をみると、境界悪性腫瘍の症例が月経発来以前からみられるのに対して、良性および悪性腫瘍は月経発来前後から認められた(表2)。

4. 20歳未満の卵巣腫瘍の組織型

20歳未満の卵巣腫瘍19例を病理組織学的に分類すると、胚細胞腫瘍が11例、58.0%と全体の半数を超え、その多くを良性である成熟嚢胞性奇形腫(8例)が占めるが、未熟奇形腫(2例)や卵黄嚢腫瘍(1例)もみられた(表3)。次に、表層上皮性・間質性腫瘍が6例、31.6%を占めるが、良・悪性を問わず、成人に比較して粘液性腫瘍が多い傾向が示された。性索間質性腫瘍は顆粒膜細胞腫と線維肉腫の2例で、顆粒膜細胞腫の症例では血中エストロゲン値が上昇(E2: 172pg/ml; 正常値10~20pg/ml)およびTanner stage 2の乳房発育が認められ、線維肉腫の症例では血中テストステロン値の上昇(98ng/dl; 正常値15~30ng/dl)がみられたが、とくに臨床症状は認められなかった。さらに、月経発来の有無を検討すると、表層上皮性・間質性腫瘍は良悪性を問わず、全例月経発来後の症例で、性索間質性腫瘍の2例はいずれも初経の

表2 20歳未満の卵巣腫瘍の年齢分布(1986年～1996年；熊本大学)

年齢	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	計
良性腫瘍							1	1	2	1	1	3	1	1	11
境界悪性腫瘍	1	1		1						1					4
悪性腫瘍							1		1			1		1	4
計	1	1		1			2	1	3	2	1	4	1	2	19

表3 20歳未満の卵巣腫瘍の組織型(1986年～1996年；熊本大学)

	良性(11例)	境界悪性(4例)	悪性(4例)
表層上皮性・ 間質性腫瘍 (6例)	粘液性嚢胞腺腫	2	粘液性嚢胞性腫瘍 1 漿液性嚢胞腺癌 1
	嚢胞腺腫*	1	粘液性嚢胞腺癌 1
性索間質性腫瘍 (2例)		顆粒膜細胞腫	1 線維肉腫 1
胚細胞腫瘍 (11例)	成熟嚢胞性奇形腫 8	未熟奇形腫 2	卵黄嚢腫瘍 1

*壊死のため上皮成分の組織型の判断が不可能であった。

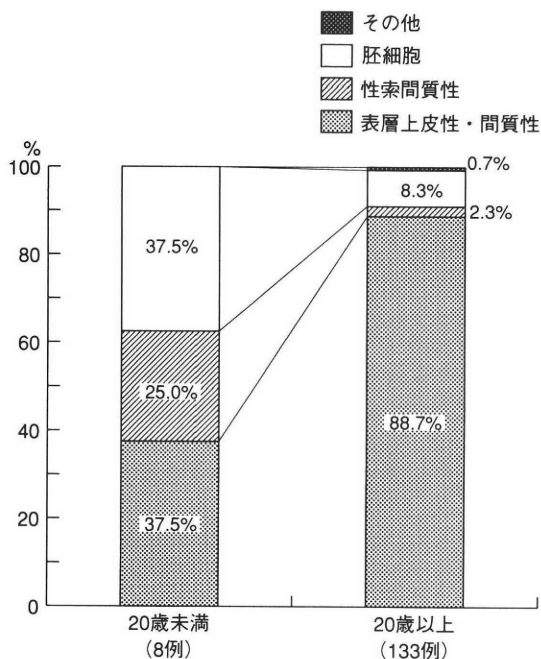


図4 境界悪性ならび悪性卵巣腫瘍の組織型 (1986年～1996年；熊本大学)

みられていない症例であった。胚細胞腫瘍の奇形腫では、月経発来以前はいずれも未熟型で、成熟型は認められなかった。

境界悪性ならびに悪性卵巣腫瘍の組織型について20歳未満と20歳以上に分けてみてみると、20歳以上で表層上皮性・間質性腫瘍、いわゆる卵巣癌が88.7%と圧倒的に多いのに対して、20歳未満では胚細胞腫瘍や性索間質性腫瘍の割合がそれぞれ37.5%、25.0%と高く、表層上皮性・間質性腫瘍は37.5%であった(図4)。

5. 20歳未満の境界悪性ならびに悪性卵巣腫瘍の予後ならびに妊孕性

境界悪性ならびに悪性卵巣腫瘍の全8症例の予後ならびに妊孕性を表4に示す。当科での妊孕性温存手術の方法とその選択基準は、Ia期では組織型に関係なく患側付属器摘出術を、Ic期では可能な症例に限って同様に患側付属器摘出術を行っている。また、片側卵巣に病巣のみられる胚細胞腫瘍については、健側の卵巣と子宮を残し、必要に応じて骨盤および傍大動脈リンパ節郭清を加えている。20歳未満の症例8例中7例に妊孕性温存手術を行い、行わなかった残りの1例は漿液性腺癌、IV期の症例であった。1998年3月現在、全例の生存が確認され、妊孕性を温存した7例中の2例は現在10歳と11歳で未だ初経をみていないが、他の5例はCAP(CPA+ADM+CDDP)療法3クール、PVP(PEP+VBL+CDDP)療法3クールをそれぞれ追加した各1例を含めて、すべて月経は順調にみら

表4 20歳未満の境界悪性ならびに悪性卵巣腫瘍症例(1986年～1996年；熊本大学)

症例	治療年齢 (現在の年齢)	組織型	進行期	妊孕性 温存手術	化学療法	予後	月経	結婚	妊娠
F.M.	15 (24)	粘液性囊胞性腫瘍 (低悪性度)	pT1aNXM0	○	—	生存	整順	○	○
I.Y.	17 (26)	粘液性囊胞腺癌	pT1cN0M0	○	○	生存	整順	—	—
I.R.	19 (26)	漿液性囊胞腺癌	pT3cN1M1	—	○	生存	—	—	—
A.M.	6 (11)	顆粒膜細胞腫	pT1aNXM0	○	—	生存	未発来	—	—
I.H.	12 (23)	線維肉腫	pT1aNXM0	○	—	生存	整順	—	—
T.Y.	7 (9)	未熟奇形腫G1	pT1aNXM0	○	—	生存	未発来	—	—
Y.Y.	9 (19)	未熟奇形腫G1	pT1aN0M0	○	—	生存	整順	○	○
H.K.	14 (20)	卵黄囊腫瘍	pT3cN1M0	○	○	生存	整順	—	—

れている。さらに、小児の2例を除いた5例中2例は既に結婚し、その1例は2児を得、1例は現在妊娠が進行中である。

考 察

幼児・小児期を経て、思春期や青年期に入ると内分泌環境の変化がみられ、女性では月経の異常や機能性出血等を来しやすく、産婦人科外来で対応する症例は少なからず認められる。しかし、この時期に入院を必要とする疾患となると、外来で診る疾患と比べてその内容は異なってくる。今回検討した20歳未満の入院患者全48例中卵巣腫瘍および類卵巣腫瘍が全体の約60%と最も多くを占め、つづいて月経発来に伴って症状が出現した内性器異常、内分泌異常の順であった。また、少ないながら外陰部腫瘍¹⁾や子宮筋腫も認められた。

全卵巣腫瘍症例に占める20歳未満の症例の割合は良性・悪性ともに5~6%であった。20歳未満の卵巣腫瘍に占める境界悪性および悪性の割合は、42.1%と成人におけるその割合と比較してわずかに高い値を示した。その年齢分布をみると、境界悪性腫瘍が月経発来以前からみられるのに対して、良性および悪性腫瘍は月経発来前後からみられるが、この傾向の指摘はこれまでみられていない。とくに、表層上皮性・間質性腫瘍は良悪性を問わず、全例月経発来後の症例で²⁾、この型の腫瘍の出現には下垂体性ゴナドトロピンや性ステロイドホルモンによる内分泌環境の変化や排卵という生理現象の関与が間接的に示唆される³⁾。一方、奇形腫では月経発来以前はいずれも未熟型で成熟型は認められない。今回の若年者での奇形腫の組織型の傾向から、奇形腫の成熟度は生体の成熟性や年齢と相関する可能性が考えられる。

卵巣腫瘍は不可視領域の疾患で、これらの摘出標本を術後に良性・悪性の判断のみならず、その組織型について十分に検討を加えることは次の方針を決定する上で重要であることはいうまでもない。20歳以上の症例では表層上皮性・間質性腫瘍が多いのに対して、20歳未満では、胚細胞腫瘍が多い特徴があり⁴⁾、このことが治療法の選択に大きく影響してくる。悪性胚細胞腫瘍では子宮や対側卵巣を温存する縮小手術を行い、術後に化学療法を行うのが現在の主流となっている⁵⁾。これは、近年の化学療法の進歩によりその奏効率が著しく改善したこと^{6,7)}、健側の付属器摘除が予後を左右しないことによるものである⁸⁾。そして、この腫瘍に対して行う化学療法の

内容は残された正常卵巣に対する毒性が比較的少ない。卵巣癌についても、妊孕性温存手術や術後の化学療法の適応が検討されている⁹⁾。当教室において20歳未満症例で唯一妊孕性温存手術を行っていない1例は漿液性囊胞腺癌Ⅳ期の症例で、他の2例は妊孕性温存手術を行った。この結果、現在までに卵巣癌3例全例に再発はみられていない。これら術式の選択に際し、正確な病期決定が必要であるが¹⁰⁾、機能温存を無視した拡大した手術は可能な限り避けるべきで、細やかな配慮が必要である¹¹⁾。一方、妊孕性温存手術を行った卵巣癌3例中の1例にはCAP療法を3クール追加したが、現在整順な月経がみられている。しかし、卵巣癌に対して主に行われているCAP療法の組み合わせでは胚細胞に対する毒性が大きく、化学療法を追加した場合に温存手術の意味が無くなってしまう可能性を考慮しておかなければならない¹²⁾。

今回の我々の検討では、妊孕性温存手術を行い、その後化学療法を施行した2例に整順な月経がみられている。しかし、2例ともに未だ結婚に至っておらず、妊孕性については今後の追跡が必要である。若年女性にみられる悪性卵巣腫瘍では、根治性と妊孕性温存の両面から治療方針を決定した後、予後の追跡に加え月経の状態や結婚などを含めた十分な観察と対応が必要と考えられる。

本論文の要旨は、第165回日本産科婦人科学会熊本地方部会学術講演会(1997年7月5日、熊本市)において発表した。

文 献

- 1) 片瀨秀隆, 間部訓章, 中村正也 他(1993) 女性外陰部にみられる良性腫瘍: 囊胞性腫瘍と充実性腫瘍. 産婦治療 63:362-367
- 2) Russell P(1994) Surface epithelial-stromal tumors of the ovary. In: Kurman RJ, ed. 4th edition, Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. Springer-Verlag, New York, pp707
- 3) Whittemore AS, Harris R, Itnyre J(1992) Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. IV. The pathogenesis of epithelial ovarian cancer. Collaborative Ovarian Cancer Group. Am J Epidemiol 136: 1212-1220
- 4) 岡村 均, 松浦講平(1989) 小児思春期婦人の腫瘍—卵巣腫瘍について—. 思春期学 7:161-163
- 5) 山田 学, 吉川裕之(1997) 卵巣癌化学療法の生殖機能への影響と対策. 産婦実際 46: 33-40
- 6) Gershenson DM(1993) Update on malignant ova-

- rian germ cell tumors. *Cancer* 71:1581-1590
- 7) 新田 愼, 迫田芳生, 本田賀裕 他(1993) 4種類の組織型からなる卵巣悪性混合性胚細胞腫瘍の1例. *日産婦誌* 45:669-702
 - 8) Kurman RJ and Norris HJ(1977) Malignant germ cell tumors of the ovary. *Hum Pathol* 8:551-564
 - 9) Colombo N, Chiari S, Maggioni A, et al. (1994) Controversial issue in the management of early epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 55:S47-S51
 - 10) Trimbos JB, Schueler JA, van der Burg M, et al. (1991) Watch and wait after careful treatment and staging in well-differentiated early ovarian cancer. *Cancer* 67:597-602
 - 11) Bahamondes L, Bueno JG, Hardy E, et al. (1994) Identification of main risk factors for tubal infertility. *Fertil Steril* 61:478-482
 - 12) 松本和紀, 川嶋正成, 佐々木寛 他(1993) 卵巣悪性腫瘍に対する妊孕性保存療法—とくに化学療法の生殖毒性について—. *産婦実際* 42:1245-1250
(受付: 1997年4月15日)
(受理: 1998年6月3日)

A Clinicopathological Study of Ovarian Tumors Occurring in Patients under 20 Years of Age

Chikashi Onoda, Hidetaka Katabuchi, Hideki Koyama, Kohei Matsuura and Hitoshi Okamura

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto 860-8556, Japan

The purpose of this study was to clinicopathologically review patients with ovarian tumors that occurred under 20 years of age in Kumamoto University Hospital from 1986 through 1996.

Of 48 inpatients younger than 20, 19 patients (39.6%) were diagnosed with ovarian tumors. They accounted for 5-6% of all ovarian tumors during the study period. The proportion of ovarian tumors of malignancy and borderline malignancy under 20 years (42.1%) was higher than that over 20 years (38.8%). Ovarian tumors of borderline malignancy usually occur in children before menarche, whereas benign and malignant ovarian tumors usually occur in patients around and after menarche. Histologically, under 20 years, the incidence of germ cell tumors was higher than that over 20 years. All epithelial-stromal tumors occurred in patients after menarche, and 2 patients demonstrated sex cord stromal tumors before menarche. Teratomas that occurred in patients before menarche were all immature. Conservative surgery was performed in 7 out of 8 patients with ovarian tumors of malignancy and borderline malignancy under age 20, and consequently regular menstruation resumed in 5 patients, but not yet in 2 children. In cases with possible parity, 2 patients subsequently conceived and 1 of them was delivered of 2 babies.

Treatment for young women with malignant ovarian tumors should be based on age, clinical stage, histologic type and grade. Conservative surgery and/or additional chemotherapy can be performed. Therefore, patients with or without conservative treatment require careful follow-up including mental care and marriage as well as routine examinations of the disease.

Key word: ovarian tumor, children and adolescents, conservative surgery, chemotherapy, fertility

(*Jpn J Fertil Steril* 43:203-208 1998)

妊孕性温存手術を施行した悪性卵巣腫瘍 (1986年～1995年)の予後と卵巣機能

Prognosis and Ovarian Function in Patients with Malignant Ovarian Tumors after Fertility Conserving Surgery and Chemotherapy

熊本大学医学部産科婦人科学教室

小山 秀 樹 片 瀧 秀 隆

Hideki KOYAMA Hidetaka KATABUCHI

田 中 信 幸 松 浦 講 平 岡 村 均
Nobuyuki TANAKA Kohei MATSUURA Hitoshi OKAMURA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto 860-8556, Japan

生命予後と生殖能力の両者に及ぼす抗癌剤の影響を検討する目的で、過去10年間に当教室で治療を行った40歳未満の悪性卵巣腫瘍症例31例の臨床病理学的検討を行った。年齢は6歳から38歳で、平均25.3歳であった。31例中、表層上皮性・間質性腫瘍は18例(17歳～38歳、平均27.9歳)で、10例(I a期4例、I c期6例)に妊孕性温存手術を行い、その6例にCAP(CPA+ADM+CDDP)療法を追加した。性索間質性腫瘍は6歳と9歳のI a期2例で、ともに妊孕性温存手術を行った。胚細胞腫瘍は11例(7歳～36歳：平均23.8歳)で、その9例(I a期6例、I c期1例、II b期1例、III c期1例)に妊孕性温存手術を行い、4例にPVP(CDDP+VBL+PEP)療法あるいはVAC(VCR+Act-D+CPA)療法を行った。CAP療法を行った6例の中で、月経が再開したのは1例のみであったが、PVP療法あるいはVAC療法では4例すべてに月経が開始あるいは再開した。妊孕性温存手術を行った21症例中原病死は粘液性腺癌I c期の1例であった。表層上皮性・間質性腫瘍のI c期でも組織型により妊孕性を温存することは可能であるが、CAP療法を追加した場合にはPVP療法やVAC療法に比べて卵巣機能の障害がより顕著になることが示された。

キーワード：卵巣癌、悪性胚細胞腫瘍、妊孕性温存手術、抗癌化学療法、卵巣機能

(日不妊会誌 43:209-214 1998)

緒 言

悪性卵巣腫瘍は、今日の代表的な抗癌剤のひとつである白金製剤が登場するまではきわめて予後不良の疾患であった。しかし、CDDPやCBDCAを中心とした抗癌化学療法(化学療法)の進歩と積極的な手術療法の導入により、表層上皮性・間質性の悪性腫瘍、いわゆる卵巣癌の予後は改善し、とくにI期の5年生存率は90%を越えり、また進行症例を含めた悪性胚細胞腫瘍の長期生存が期待できるようになった²⁾。これに伴って、若年者に発症した悪性卵巣腫瘍に対

して妊孕性を温存した治療も可能となり、治療後の妊娠・分娩例も報告されるようになってきた^{3,4)}。

しかし、妊孕性温存手術(以下、温存手術)の症例が増える一方で、追加する化学療法が温存した妊孕性を破壊することが懸念される。抗癌剤はひとつたび投与されれば全身の細胞に影響を及ぼす。大部分の細胞は再生・増殖し、組織の再構築がなされるのでひとつの臓器としての機能は維持されるが、神経細胞や胚細胞は分裂能力がないか乏しいために、永久的あるいは半永久的にその機能を失うことになる。卵巣癌で温存手術を行う適応はI a期で組織分化度の

高いものとされている^{5,6)}が、化学療法の進歩とともに患者の女性としてのquality of lifeが重要視され、I c期での妊孕性温存の可能性も探られている^{5,6)}。しかし、温存手術が施行された症例に化学療法が追加された場合、先に述べた理由から抗癌剤の卵巣機能への影響に留意する必要がある。

今回我々は、抗癌剤の卵巣機能に与える影響を知る目的で、過去10年間に当教室で治療を行った40歳未満の悪性卵巣腫瘍症例の治療内容と予後、さらにその後の月経の状態や妊娠・分娩歴について検討したので報告する。

対 象

1986年から1995年の10年間に熊本大学医学部附属病院婦人科で加療した40歳未満の悪性卵巣腫瘍症例31例を対象とした(観察期間：2年10カ月～11年7カ月)。年齢は6歳から38歳で、平均25.3歳であった。31例中表層上皮性・間質性腫瘍は18例(17歳～38歳、平均27.9歳)、性索間質性腫瘍は6歳と9歳の2例で、胚細胞腫瘍は11例(7歳～36歳：平均23.8歳)であった。全症例の臨床進行期ならびに組織分類を表1に示した。1988年の国際臨床進行期の改訂⁷⁾に伴い、当教室では1989年以降、肉眼的にI期と考えられる症例を含めて、悪性卵巣腫瘍症例に対して、準広汎子宮全摘出術 modified radical hysterectomy (mRH)、両側付属器摘出術 bilateral salpingo-

oophorectomy (BSO)、骨盤リンパ節郭清術 pelvic lymph node dissection (PeLND)、大網切除術 omentectomy (Om)、さらに症例によっては傍大動脈リンパ節郭清術 paraaortic lymph node dissection (PaLND)を基本術式として行っているが、臨床進行期の決定に必要な臓器の摘出のなされない温存手術症例では、術前の画像所見や術中の視診・触診によって病巣がないと判断した上で進行期を決定している。組織学的診断では、術中の凍結標本による迅速診断を必ず行い、最終的に術後の摘出標本の詳細な検討によって『卵巣腫瘍取扱い規約⁸⁾に従っている。

妊孕性温存の治療選択にあたっては、その内容および予後についての十分な説明の上でインフォームドコンセントを得た。

結 果

対象とした40歳未満の表層上皮性・間質性腫瘍18例のうち、温存手術を10例(17歳～34歳)に行い、臨床進行期はI a期4例とI c期6例であった(表1)。温存手術の内容は9例に対して患側の付属器摘出術 unilateral salpingo-oophorectomy (USO)を行い、その中の2例にOm、1例に患側のPeLNDを追加した。残りの1例には両側卵巣嚢腫核出術を行った。I a期の4例(粘液性腺癌2例、境界悪性粘液性腫瘍2例)には手術のみを行い、I c期の6例中4例(境界悪性漿液性腫瘍1例、粘液性腺癌1例、漿液性腺癌と粘液性腺癌の混合型1例、類内膜腺癌と明細胞腺癌の混合型1例)に化学療法としてCAP療法(CPA 400mg/m²+ADM 40mg/m²+CCDP 70mg/m²)を3コース追加し、2例(ともに境界悪性粘液性腫瘍)には行わなかった(表2)。1998年3月現在、9例は再発の徴候なく順調に経過し(観察期間：2年10カ月～11年7カ月)、再発・死亡例は化学療法を追加したI c期の粘液性腺癌の1例のみで、この症例は結婚を控えた未婚婦人で、患者と家族の強い希望により根治術を行えなかった。

表1 40歳未満の悪性卵巣腫瘍(1986～1995年)

	表層上皮性・性索間質性腫瘍		胚細胞腫瘍	
	間質性腫瘍			
	18例	2例	11例	
	温存	非温存	温存	非温存
	10例	8例	2例	9例 2例
I a	4		2	6
I b				
I c	6			1
II a				
II b				1
II c		3		1
III a				
III b		1		
III c		2		1 1
IV		2		
再発	1*	1	0	0 1*
原病死	1*	0	0	0 1*

* , * : 同一症例

表2 妊孕性を温存した40歳未満の表層上皮性・間質性腫瘍(1986～1995年)

進行期(例数)	化学療法の有無	月経再開	無月経	妊娠/分娩
I a(4例)	(-) 4例	4	0	1/1
	(+) 0例	—	—	—
I c(6例)	(-) 2例	2	0	0/0
	(+) 4例	1	3	0/0

(-) : 化学療法未施行, (+) 化学療法施行

表3 妊孕性を温存した40歳未満の性索間質性腫瘍 (1986~1995年)

進行期(例数)	化学療法の有無	月経開始	未初経	妊娠/分娩
I a(2例)	(-) 2例	1	1	0/0
	(+) 0例	—	—	—

(-)：化学療法未施行，(+)化学療法施行

一方，表層上皮性・間質性腫瘍で妊孕性を温存できなかったのは8例で，II c期3例(27歳未婚，0回経妊0回経産，漿液性腺癌，他施設にてBSO；37歳既婚，0回経妊0回経産，類内膜腺癌，単純子宮全摘出術 abdominal total hysterectomy (AT)+ BSO；37歳既婚，3回経妊1回経産，粘液性腺癌，AT+BSO)，III b期の1例(38歳既婚，2回経妊2回経産，漿液性腺癌，初回にmRH+BSO+PeLND+PaLND+Om，2回目にセカンドルック手術 second look operation (SLO))，III c期の2例(27歳未婚，0回経妊0回経産，漿液性腺癌，初回にmRH+BSO+PeLND+PaLND，2回目に第2次腫瘍縮小術 secondary cytoreductive surgery (SCS)；37歳既婚，0回経妊0回経産，類内膜腺癌，初回にAT+BSO+Om，2回目にSCS)，IV期2例(19歳未婚，0回経妊0回経産，漿液性腺癌：mRH+BSO+PeLND+Om，CDDPの肝内選択的動注化学療法を追加，30歳既婚，3回経妊2回経産，漿液性腺癌，初回にmRH+BSO+PeLND+腸管部分切除術，2回目にPaLND)であった(表1)。これらすべての症例にCAP療法を追加し，現在原病死はみられていない(観察期間：6年2カ月~10年0カ月)。

性索間質性腫瘍の2例はともにI a期(6歳初経前，顆粒膜細胞腫，USO；12歳初経前，線維肉腫，USO)で(表1)，温存手術のみで追加治療を施行せずに，それぞれ現在までに5年3カ月，11年7カ月経過して再発の徴候はない(表3)。

胚細胞腫瘍の11例中9例に対して温存手術を行い，その内訳はI a期6例，I c期1例，II b期1例，III c期1例であった(表1)。組織型別にみると，未分化胚細胞腫2例(25歳未婚，0回経妊0回経産，I a期，USO；29歳未婚，0回経妊0回経産，I c期，USO)，未熟奇形腫5例(7歳，初経前，I a期，分化度第1度，USO；9歳，初経前，I a期，分化度第1度，USO；21歳未婚，0回経妊0回経産，I a期，分化度第2度，USO；27歳未婚，0回経妊0回経産，I a期，分化度第1度，卵巣囊腫核出術；25歳既婚，1回経妊0回経産，II b期，分化度第2度，初回に他施設にてUSO，2回目に当科にてSCS)，悪性転化を伴う成熟奇形腫1例(35歳未婚，0回経妊0回経産，I a期，USO)，卵

表4 妊孕性を温存した40歳未満の胚細胞腫瘍 (1986~1995年)

進行期(例数)	化学療法の有無	月経開始・再開	無月経・未初経	妊娠/分娩
I a(6例)	(-) 4例	3	1	1/0
	(+) 2例	2	0	0/0
I c(1例)	(-) 1例	1	0	0/0
	(+) 0例	—	—	—
II b(1例)	(-) 0例	—	—	—
	(+) 1例	1	0	0/0
II c(1例)	(-) 0例	—	—	—
	(+) 1例	1	0	0/0

(-)：化学療法未施行，(+)化学療法施行

黄囊腫瘍1例(14歳，0回経妊0回経産，III c期，USO+患側のPeLND/PaLND)である。この中の4例(21歳，未熟奇形腫，I a期，分化度第2度；25歳，未熟奇形腫，II b期，分化度第2度；35歳，悪性転化を伴う成熟奇形腫1例，I a期；14歳，卵黄囊腫瘍，III c期)に対して化学療法としてPVP療法(CDDP 70mg/m²+VBL 0.15mg/kg+ PEP 30mg/course)を3例に，VAC療法(VCR 1.5mg/m²+Act-D 2mg/course+ CPA 400mg/m²)を1例に3から4コース追加した(表4)。温存手術を行えなかったのは未分化胚細胞腫(36歳未婚，0回経妊0回経産，II c期，mRH+BSO+ PLND，放射線療法を追加)，未熟奇形腫(34歳既婚，4回経妊1回経産，III c期，分化度第1度，mRH+BSO+PeLND+Om)の2例であった(表1)。再発・原病死は11例の中で非温存症例の未分化胚細胞腫の1例のみであった(観察期間：1年2カ月~11年1カ月)。

妊孕性温存手術後の卵巣機能を組織型別にみると，表層上皮性・間質性腫瘍の10例中，I a期の化学療法を追加していない4例は，手術後平均1.5カ月で月経が再開し，挙児希望のあった1例が妊娠・分娩に至っている(表2)。I c期6例中化学療法を追加していない2例は平均2カ月で月経が再開し，その後も整順に発来しているが，ともに未婚で，現在まで挙児希望がなく，妊娠・分娩には至っていない。化学療法を追加したI c期4例のうち，月経が再開したのは化学療法終了後5カ月に再開した1例のみで，この症例には挙児希望がなく現在まで妊娠・分娩には至っていない。他の3例のうち1例は3年5カ月後に再発・死亡した症例で，その間に月経の再開はみられなかった。残りの2例はそれぞれ4年6カ月，6年11カ月経過し，現在もお無月経で，両者ともにFSH，LHの高値，E₂の低値という閉経期の内分泌パターンを示し

ている。

性索間質性腫瘍の2例はともに月経の未発来の症例で、化学療法の追加は行われず、1例はその後月経が発来し、1例は現在11歳8カ月になるが、未だ初経はみられていない(表3)。

胚細胞腫瘍で温存手術を行った9例の中で、初経前の2例を除いた7例全例に治療終了後(平均3.2カ月:1カ月~5カ月)に月経が再開しているが(表4)、その時期は化学療法追加の有無やその内容とは無関係であった。また、治療時初経前であったI a期9歳の症例はその後月経が発来し、妊娠の成立もみているが、I a期7歳の症例は現在10歳3カ月になるが、月経の発来は未だない。

考 察

Munnell et al.は肉眼的に片側に限局した卵巣癌症例に対して、根治術を行った場合と肉眼的に正常な対側卵巣を温存した場合での予後を比較し、粘液性腺癌では両者に予後の差はないが、その他の組織型では対側卵巣温存症例の予後が不良で、その原因は温存卵巣のoccult cancerによる可能性があるとして報告している⁹⁾。温存手術を行えば、残された臓器にoccult cancerが存在する可能性は皆無とは言えず、これが化学療法の追加の必要な理由である。

悪性卵巣腫瘍は白金製剤の有効な活用により、とくに胚細胞腫瘍においては長期予後が著しく改善した。実際、胚細胞腫瘍に対する化学療法は、1970年代のVAC療法に始まり、PVP療法やBEP(BLM+VP-16+CDDP)療法に変遷をみているが、Gershensonの報告によれば、I期からIV期の35例にBEP療法を施行し、その中の34例が長期にわたり再発をみていない²⁾。今回の我々の胚細胞腫瘍症例でも11例中原病死は1例のみで、妊孕性を温存した9例は現在まで再発の徴候なく経過している。

一方、表層上皮性・間質性の悪性腫瘍では、白金製剤の登場によって進行例を含めて短期予後の改善は認められているが^{1,10)}、長期予後の改善は薬剤耐性の観点からはかばかしくなく¹¹⁾、この分類に属する腫瘍が依然として予後不良の疾患であることに変わりはなく、温存手術はその適応を十分に検討して施行する必要がある。現在、表層上皮性・間質性の悪性腫瘍で温存手術が行えるのは原則としてI a期¹²⁾、さらに組織学的に高分化型であることが条件とされ^{5,6)}、I c期の妊孕性温存については様々な議論があり未だ結論をみていない。このことから、I c期の初回手術で温存手術を行った場合でも、術後の組織型、組織

分化度、腹水や腹腔洗浄液中の悪性細胞の有無等の詳細な検討の結果によっては再開腹して根治術を行う決断が必要である。我々は、I c期6例に対して妊孕性温存手術を行っているが、再発・死亡例が1例認められた。これは粘液性腺癌の症例で、上述したように根治手術を勧めたが、患者や家族の妊孕性温存の希望によって行えなかった。他の5例は、1例が漿液性腺癌と粘液性腺癌との混合型、1例が類内膜型腺癌と明細胞腺癌の混合型で、残りの3例は境界悪性腫瘍であった。これらの症例については、化学療法の追加の有無に関係なく今後も厳重な経過観察が必要である。

妊孕性を温存する手術を行い、さらに抗癌剤の投与が必要な場合、抗癌剤は腫瘍細胞だけでなく正常細胞、とくに胚細胞にも影響を与え、時に不可逆的に卵巣機能を失わせてしまう可能性があることを十分に考慮して投与する必要がある。抗癌剤は薬剤ごとに胚細胞への影響が異なることが知られている¹³⁻¹⁶⁾。表層上皮性・間質性腫瘍に対する多剤併用化学療法では現在のところCAP療法が一般的で、その効果は投与量と間隔の指標であるdose intensity(D.I.)に依存し、D.I.を上げることが予後の改善につながるとされている¹⁷⁾。最近では、rhG-CSFの使用が、大量の抗癌剤をより効果的な投与間隔で投与することを可能にし、D.I.の上昇に寄与している。その反面、胚細胞に対する抗癌剤の影響は容量依存性であり、このことは抗癌剤の投与量を増加させれば、胚細胞に対する影響が増大することを意味する¹⁶⁾。当教室で従来より行っているCAP療法はCDDP70mg/m²のhigh-dose CAP療法であるが¹⁰⁾、この化学療法を3コースずつ行ったI c期4症例の中で月経が再開したのは1例のみであった。このことから、CDDP投与量の増加が胚細胞に対してより大きな影響を与える可能性がある。しかし、胚細胞腫瘍に対してPVP療法あるいはVAC療法を3から4コース行ったが、いずれの症例でも化学療法終了後平均3.4カ月で月経が再開している。PVP療法のCDDP投与量はCAP療法のそれと同じであることから、胚細胞への影響はCDDPの投与量のみならず、CPAやADM等の他の抗癌剤との組み合わせが、胚細胞に対して影響を与えることが示唆される^{13,18)}。また、表層上皮性・間質性腫瘍に対して用いられるCAP療法の組み合わせが、他の抗癌剤の組み合わせに比して卵細胞により攻撃的なものであることは、動物実験で知られている^{15,16)}。その一方で、卵巣機能の保護のために、臨床的にエストロゲンとプロゲステロン合剤の投与や

Gn-RHアゴニストを投与する試みもあるが、いずれも十分な効果は得られていない¹⁹⁾。

卵巣腫瘍、とりわけ表層上皮性・間質性の悪性腫瘍は未だ難治性の疾患のひとつであることから、生命予後に影響を与えるような症例に温存手術を行ってはならないことは当然である。しかし、今回我々が示した様に、患者背景や臨床病理学的所見を判断材料に症例ごとに個別化していくことで、Ia期症例のみならずIc期症例でも温存手術を行うことは可能である。温存手術を行う条件は今後多施設における多数例の集積によって検討され、提示されていくだろうが、その決定的な条件を見いだすことは難しく、実際に手術を担当する医師の判断に委ねられるところが大きいと考えられる。

生命予後を改善し、且つ胚細胞への影響の少ない化学療法の組み合わせや投与方法のさらなる検討が必要であるとともに、胚細胞への障害の少ない新たな抗癌剤の登場が待たれる。

本論文の要旨は、第6回九州婦人科がん懇話会(1996年11月9日、福岡市)で発表した。

文 献

- 須川 俊, 梅咲直彦, 矢島 聡 他(1992) 本邦における卵巣癌の予後因子に関する検討—多施設による共同研究—. 日産婦誌 44:827-832
- Gershenson DM(1993) Update on malignant ovarian germ cell tumors. *Cancer Suppl* 71: 1581-1590
- Shiromizu K, Kawana T, Sugase M, et al.(1987) Pregnancies following conservative treatment of malignant ovarian tumors. *Arch Gynecol Obstet* 241: 57-62
- 東 政弘, 佐久本薫, 佐久本哲郎 他(1992) 悪性卵巣腫瘍の妊孕力温存治療. *産婦治療* 65:1-7
- 薬師寺道明(1994) 卵巣表層上皮性・間質性腫瘍臨床進行期からみた治療法の選択. 図説産婦人科VIEW-10 腫瘍 治療法の選択 臨床進行期ならびに予後因子からみた治療法. 薬師寺道明, 寺島芳輝編, メジカルビュー社, 東京, pp62-75
- 東 政弘(1995) 妊娠合併症の取り扱い 卵巣腫瘍, 日産婦誌 47:N197-N200
- 日本産科婦人科学会(1992) 卵巣腫瘍取扱い規約第2部 金原出版, 東京
- 日本産科婦人科学会, 日本病理学会(1990) 卵巣腫瘍取扱い規約 第1部 組織分類ならびにカラーアトラス. 金原出版, 東京
- Munnell EW(1969) Is conservative therapy ever justified in Stage I (I A) cancer of the ovary? *Am J Obstet Gynecol* 103:641-653
- 宮崎康二, 東矢俊光, 荒尾慎治 他(1994) シスプラチンを含む併用化学療法と卵巣癌の長期予後. *日産婦誌* 29:696-702
- 片淵秀隆, 荒尾慎治, 松浦講平 他(1997) 多剤併用療法を行った卵巣癌の臨床ならびに薬剤耐性に関する遺伝子の発現. *日産婦九州連合会誌* 110-114
- Young RC(1987) Initial therapy for early ovarian carcinoma. *Cancer* 60:2042-2049
- Koyama H, Wada T, Nishizawa Y, et al.(1977) Cyclophosphamide-induced ovarian failure and its therapeutic significance in patients with breast cancer. *Cancer* 39:1403-1409
- Maneschi F, Benedetti-Panici P, Scambia G, et al.(1994) Menstrual and hormone patterns in women treated with high-dose cisplatin and bleomycin. *Gynecol Oncol* 54:345-348
- 島 由美子(1994) 抗癌剤が妊孕能に及ぼす影響の定量的研究. *日産婦誌* 46: 589-596
- 滝沢 憲(1994) 副作用対策 性機能障害. 図説産婦人科VIEW-12 腫瘍 薬物療法 最新の癌化学療法を中心に. 工藤隆一, 寺島芳輝編, メジカルビュー社, 東京, pp194-200
- Hainsworth JD, Burnett LS, Jones HW, et al.(1990) High-dose cisplatin combination chemotherapy in the treatment of advanced epithelial ovarian carcinoma. *J Clin Oncol* 8:502-508
- Wallace WH, Shalet SM, Crowne EC, et al.(1989) Gonadal dysfunction due to cis-platinum. *Med Pediat Oncol* 17:409-413
- Waxman JH, Ahmed R, Smith D, et al.(1987) Failure to preserve fertility in patients with Hodgkin's disease. *Cancer Chemo Pharmacol* 19:159-162

(受付: 1998年4月15日)

(受理: 1998年6月15日)

Prognosis and Ovarian Function in Patients with Malignant Ovarian Tumors after Fertility Conserving Surgery and Chemotherapy

Hideki Koyama, Hidetaka Katabuchi, Nobuyuki Tanaka, Kohei Matsuura and Hitoshi Okamura

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto 860-8556, Japan

Platinum anti-tumor agents have improved the prognosis of patients with malignant ovarian tumors. This innovation has allowed conservative treatment for early stage ovarian cancer and advanced malignant germ cell tumors. However, it is controversial whether or not conservative treatment should be performed in young women with early stage ovarian cancer, particularly Stage Ic, who wish to have children. This study was undertaken to search for an indication for conservative treatment of Stage Ic ovarian cancer, and to investigate ovarian function and fertility in patients with ovarian cancer treated by conservative surgery and combination chemotherapy. In 18 patients with ovarian cancer, we treated 10 patients (Stage Ia; 4 cases, Stage Ic; 6 cases) by preserving the apparently normal ovary and uterus, and only 1 Stage Ic patient died of the recurrent disease. Six patients (Stage Ia; 2 cases, Stage Ic; 4 cases) were treated with additional adjuvant chemotherapy using high-dose cisplatin (CDDP, 70mg/m²) in combination with CPA and ADM (CAP). Three patients were still amenorrheic and showed evidence of ovarian damage after chemotherapy but 1 was not. Among the 11 patients with malignant germ cell tumors, 9 patients were conservatively treated. Of these, 4 patients were treated with combination chemotherapy (VAC:VCR+Act-D+CPA or PVP:CDDP+VBL+PEP). No patient demonstrated recurrent tumors and ovarian function was normal after conservative surgery and chemotherapy. These results indicate that CAP therapy is more toxic to gonads than PVP or VAC therapy, although conservative surgery may be justified in Stage Ic ovarian cancer.

Key word: ovarian cancer, ovarian germ cell tumor, conservative surgery, cisplatin-based chemotherapy, ovarian function

(Jpn J Fertil Steril 43:209-214 1998)

膠原病感受性 HLA 抗原の子宮内膜症に対する感受性

Sensitivity of Collagen Disease-Sensitive HLA Antigen to Endometriosis

医療法人假野クリニック

假野 隆 司 古 殿 正 子
Takashi KANO Masako FURUDONO
加 納 万 里 子 石 井 み さ 子
Mariko KANO Misako ISHII

Medical Corporation Kano Clinic,
Osaka 542-0073, Japan

国立大阪南病院産婦人科

神 田 隆 善

Takayoshi KANDA

Department of Obstetrics and Gynecology,
National Osaka Minami Hospital, Osaka 586-0008, Japan

大阪医科大学産科婦人科学教室

植 木 實

Minoru UEKI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Osaka Medical College, Osaka 569-0801, Japan

膠原病感受性HLA抗原の子宮内膜症ならびに子宮腺筋症に対する感受性を検討する目的で、原発性不妊症103例および原発性不妊症71例総計174例を対象としてHLA typingを行い、同種免疫異常不妊症と診断した症例には夫リンパ球移植術を施行した。また自己免疫異常不妊症としては抗核抗体(ANA)、抗cardiolipin抗体(ACA IgG, ACA IgM)を調べた。子宮内膜症と子宮腺筋症は超音波断層法およびMRIにより、腹腔内癒着は子宮卵管造影法によってスクリーニングをしたうえで腹腔鏡で診断した。膠原病感受性HLA抗原B27, B51, B52, DR2, DR4保有者の全例、不妊症群、リンパ球移植無効群、ANA陽性群、ACA陽性群の子宮内膜症診断率を解析した結果、以下の結論を得た。

- 1) B27・B51・DR2・DR4は子宮内膜症、とりわけ腹腔内癒着に感受性が高い。
- 2) 同種免疫異常ならびに自己免疫異常に大別される不妊症の免疫異常的免疫異常は、前記HLA抗原保有を前提として子宮内膜症ならびに子宮腺筋症発症の病因ないし素因になっている。とりわけ前者は癒着(DR2, DR4)・子宮腺筋症(DR4)に、後者についてはANAは癒着(B51)・子宮腺筋症(DR4)に、ACA IgMはチョコレート嚢腫(DR2)に感受性が高い。
- 3) B27・B51・DR2・DR4抗原はANA、B52抗原保有例はACA IgM産生を通じて子宮内膜症発症に直接関与している可能性もあるが、他の遺伝子や環境因子など複数の因子の相互作用によって発病すると考えられる。

キーワード：子宮内膜症、子宮腺筋症、膠原病、HLA抗原、抗核抗体

(日不妊会誌 43:215-221 1998)

緒 言

我々は子宮内膜症ならびに子宮腺筋症と免疫不育症の関係を、不育症的視点から免疫学的に解析することにより、子宮内膜症と子宮腺筋症の病因に宿主免疫異常である不育症と共通した免疫因子が関与していることを報告した¹⁾。一方で著者は、膠原病感受性HLA抗原保有習慣流産が自己免疫異常不育症であることを診断治療学的に明らかにした²⁾。ここで膠原病感受性HLA抗原と子宮内膜症がリンクすることとなった。

膠原病感受性HLA抗原と子宮内膜症との関連を検討した報告は未だにみられない。本稿では、同抗原の子宮内膜症ならびに子宮腺筋症に対する感受性を、不育症的視点から臨床統計学的に検討した。

対象および方法

対 象

1. 原発性不育症患者

1990年から1998年にかけて当院に挙児希望で来院した22歳から44歳の分娩の既往がなく3回以上の初期流産の既往を有し、子宮筋腫、子宮奇形、頸管無力症、甲状腺機能障害を合併しない夫婦とも染色体(末梢血液培養G染色体法)正常の103例を対象とした。

2. 原発性不妊症患者

同時期に来院した25歳から46歳の無月経・無排卵、両側卵管完全閉鎖および無精子症が否定され、一年以上の治療のなかで過去最低2周期は各種不妊症治療によって各種不妊症因子が正常範囲にあるため機能性不妊症の可能性が高いと考えられた、実質不妊期間3年以上の、夫婦とも染色体正常の原発性不妊症患者71例。

方 法

1. HLA抗原typing, 抗核抗体, 抗cardiolipin IgG, IgM抗体測定

以上の対象に対して、不育症患者には同種免疫異常の、不妊症患者には機能性不妊症の検査³⁾を行うことを説明して同意を得たうえで、HLA抗原typing(リンパ球細胞毒試験法, 夫婦)と抗核抗体(A NA: FA法, cut off; 40倍), 抗cardiolipin IgG, IgM抗体(ACA IgG, ACA IgM: ERISA法, cut off; 1.0OD)検査を行った(株ファルコバイオシステムに委託)。

2. リンパ球移植無効群

HLAクラスII抗原sharing 2個以上^{4,5)}ないし夫固有同抗原2個以下⁶⁾の基準で、同種免疫異常不育症と診断され自己抗体が陰性の症例⁶⁾に夫リンパ球移植⁷⁾を

行ったにもかかわらず、流産を繰り返すか不妊であった症例をリンパ球移植無効群とした。

3. 子宮内膜症および腹腔内癒着の診断法

子宮腺筋症およびチョコレート嚢腫の診断は腔式超音波断層法あるいはMRIで、腹腔内癒着は子宮卵管造影法でスクリーニングを行い、その中で卵管采部癒着と診断された症例について腹腔鏡を実施し確定診断した¹⁾。その際、重軽症度は問わなかった。他施設で系統的な不妊症検査の一環として診断された症例も加えた腹腔鏡施行は116例(施行率66.7%)であった。腹腔鏡未施行例は子宮卵管造影, 通気, 通水, 内診ですべて異常を認めず, CA-125は35U/ml未満であった。超音波断層法はすべての症例に施行した。

有意性の検定は χ^2 -testで行った。

結 果

1. 膠原病感受性HLA抗原

膠原病あるいは膠原病類似疾患との感受性が報告されているのはB27(強直性脊椎炎・ライター症候群), B51(パーチェット病), B52(大動脈炎症候群), DR2(SLE), DR4(慢性関節リュウマチ・重症筋無力症・インスリン依存性糖尿病)である^{8,9)}。

2. 不妊症および不育症の膠原病感受性HLA抗原保有率

それらの全例, 不妊症, 不育症の保有率はB27(全例; 1.1%, 不妊症; 0.0%, 不育症; 1.9%), B51(16.1%, 15.5%, 16.5%), B52(18.4%, 21.1%, 16.5%), DR2(32.2%, 29.6%, 34.0%), DR4(37.4%, 32.4%, 40.8%)であった。重複保有例は不妊症で19例(26.8%), 不育症は29例(28.2%)存在した。組み合わせはB51・B52; 1例, B51・DR2; 3例, B51・DR4; 8例, B52・DR2; 20例, B52・DR4; 1例, DR2・DR4; 5例, B27・B52・DR2; 1例, B51・DR2・DR4; 4例, B52・DR2・DR4; 1例, B51・B52・DR4; 1例, B51・B52・DR2・DR4; 2例の11型であった。A24ともに人種差があるハプロタイプ(一染色体に連鎖する遺伝子の組み合わせ)で日本人に8.38%と最も高率に認められるB52とDR2の組み合わせ¹⁰⁾が23例(13.2%)と最も多く、ついでB51とDR4の組み合わせが15例(8.6%)であった。

3. 子宮内膜症と子宮腺筋症の診断率

全例・不妊症・不育症の診断率は、癒着(17.8%・14.1%・20.4%), チョコレート嚢腫(16.7%・15.5%・17.5%), 子宮腺筋症(9.2%・2.8%・13.6%)と

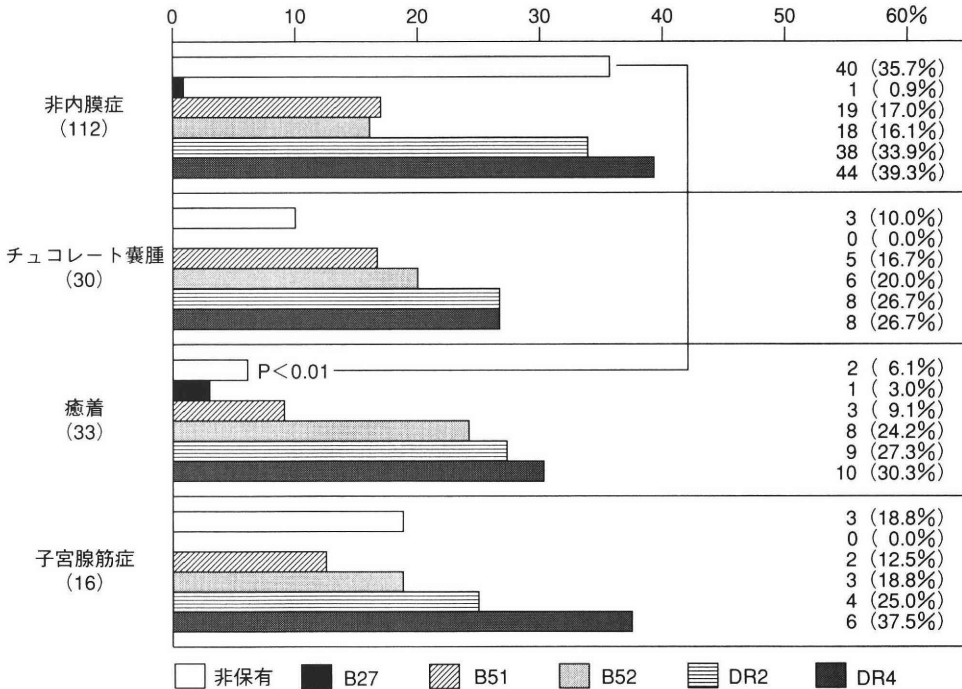


図1 子宮内膜症非診断群、チョコレート嚢腫、腹腔内癒着、子宮腺筋症診断群における膠原病感受性HLA抗原保有率

なりいずれも不育症に高率で、とりわけ子宮腺筋症では不妊症の4.85倍であった。

非子宮内膜症例ならびに各病型の膠原病感受性HLA抗原保有率を図1に示す。子宮内膜症および子宮腺筋症の膠原病感受性HLA抗原の非保有率は非内膜症より低く、癒着群は1%以下の危険率で有意であったが、各病型間には有意差は認められなかった。

次に抗原保有例の子宮内膜症ならびに子宮腺筋症診断率を検討した。コントロールとしての膠原病感受性HLA抗原非保有例の診断率は非内膜症85.1%、癒着6.4%、チョコレート嚢腫6.4%、子宮腺筋症4.3%であった。逆に非内膜症の抗原保有例は低率であったが子宮内膜症ならびに子宮腺筋症の抗体保有率は高率であった(表1)。

非保有例の診断率に対して抗原保有例が3倍以上を示したのは、B27、B51、DR2、DR4と癒着であった。それらのなかで不育症因子が加わることで診断率が上昇したのは、B51のANA陽性、DR2のリンパ球移植無効、DR4のANA陽性、ACAIGM陽性例であった。

Cut offをダウンして2倍にした場合はB51、B52、DR2のチョコレート嚢腫、DR4の子宮腺筋症となった。不育症因子の合併によって高率化したのは、チョコレート嚢腫におけるB51のACAIGM陽性、B52のリンパ球移植無効、ACAIGG陽性、DR2のACAIGM陽性例、子宮腺筋症のリンパ球移植無効、ANA陽性、ACAIGG陽性例であった。2倍未満で不育症因子合併によって診断倍率が3倍以上に高率化したのは、チョコレート嚢腫におけるDR4のリンパ球移植

表1 膠原病感受性HLA抗原非保有、保有例の癒着、チョコレート嚢腫、子宮腺筋症の診断率

	非内膜症	癒着	チョコレート嚢腫	子宮腺筋症
非保有	40(85.1%)	2(6.4%)	3(6.4%)	2(4.3%)
B27	1(50.0%)	1(50.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)
B51	19(67.8%)	3(10.7%)	5(10.7%)	2(7.1%)
B52	18(16.1%)	8(25.0%)	6(18.7%)	2(6.3%)
DR2	38(33.9%)	9(16.1%)	8(14.3%)	4(7.1%)
DR4	44(39.3%)	11(16.9%)	8(12.3%)	6(9.2%)

表2 膠原病感受性HLA抗原非保有例の診断率に対する保有例の癒着, チョコレート嚢腫, 子宮腺筋症の診断倍率

不育症分類	B27	B51	B52	DR2	DR4
癒着					
全例	11.6	5.8	—	3.7	3.9
不妊	—	—	4.7	3.3	3.0
不育	11.6	—	6.8	★4.0	3.9
リンパ球無効	—	—	7.7	★7.7	★5.2
ANA	—	★6.6	—	—	★5.0
ACA IgG	—	—	—	—	3.9
ACA IgM	—	—	3.3	—	★6.7
チョコレート嚢腫					
全例	—	2.8	2.9	2.2	—
不妊	—	—	—	—	—
不育	—	—	★3.7	—	—
リンパ球無効	—	—	★5.2	—	3.5
ANA	—	—	—	—	—
ACA IgG	—	—	★4.5	—	—
ACA IgM	—	★10.4	—	★6.7	6.7
子宮腺筋症					
全例	—	—	—	—	2.1
不妊	—	—	—	—	—
不育	—	—	—	—	—
リンパ球無効	—	3.9	—	—	★5.2
ANA	—	3.3	—	—	★5.0
ACA IgG	—	—	—	—	★3.9
ACA IgM	—	—	—	—	—

★；保有例の3倍以上の診断倍率が不育症因子が合併することで高率化した症例あるいは2倍台の診断倍率が3倍以上になった症例

無効, ACA IgM陽性例と子宮腺筋症におけるB51のリンパ球移植無効とANA陽性例であった(表2)。

考 察

現在までに膠原病ないし膠原病関連疾患との感受性が明らかになっているHLA抗原保有者の非保有者に対する発症倍率から計算される相対危険率はB27(強直性脊椎炎; 192.0倍, ライター症候群; 37.0倍), B51(ベーチェット病; 9.4倍), B52(大動脈炎症候群; 5.5倍), DR2(SLE; 5.5倍), DR4(慢性関節リュウマチ; 2.8倍)^{8,9)}と報告されている。一般にクラスⅠと関連する疾患は男性に多く, クラスⅡに関連する疾患は女性に多い。しかし, 例えばDR4保有の一卵性双生児のインスリン依存性糖尿病の一致率は30~70%程度であり, ハプロタイプが一致した同胞間でも10~20%程度と報告⁸⁾されている。またB27が発症者の90%以上を占める強直性脊椎炎にしても同保有者の一部が罹患するに過ぎない¹¹⁾。従ってHLA抗原以外にも関与する遺伝子が存在し, さらに環境因子との相互作用で発症に至ると考えられるが, 前記抗原が発病を規定する最も重要な因子であ

ることは間違いないと考えられている^{8,9)}。

以上の各抗原の日本人を対象とした保有率はB27; 1%未満, B51; 7.0~17.0%, B52; 11.0~20.3%, DR2; 17.0~31.8%, DR4; 22.8~40.4%と報告¹²⁻¹⁴⁾されている。今回の全例, 不妊症, 不育症の保有率は不育症でDR2, DR4が若干高率であったが, 有意差は認められなかった。

今回の全例の子宮内膜症診断率を共同研究者の植木の広範な研究結果¹⁵⁾と比較すると, 外来患者に比べて3から6倍高率であったが, 開腹症例よりやや低率であった。しかし, 不育症との関連を検討した我々の研究¹⁾よりすべての病型で高率であり, 不妊症群でその傾向が著明であった。この理由は腹腔鏡の施行率が高くなったことと, HLA typingと染色体検査の同意を得るにあたって不育症と共通した免疫的着床障害の可能性が高い機能性不妊症を選別したためと思われる³⁾。しかし, それらの要因を勘案してもなお不育症でいずれの病型も診断率が高率であった事実は, 子宮内膜症が宿主免疫異常である不育症と同根の疾患であることを強く示唆している。

以上の論考から, 各抗原と子宮内膜症ならびに子

宮腺筋症の診断率に有意差がなかったことから、一部有意差を認めた非保有者の診断率をネガティブコントロールとして保有者の全例、不妊群、不育群、リンパ球移植無効群、ANA陽性群、ACAIG陽性群ならびにACAIG陽性群のそれと比較検討することで不育症因子の関与を検討した。以上の検討方法を採用した理由は、我々が免疫不育症と子宮内膜症との関係を検討した研究¹⁾で、子宮内膜症は不育症、とりわけANA・ACAIGMI陽性群で診断率が高く、さらにANAと癒着、ACAIG陽性とチョコレート嚢腫の組み合わせで自己抗体特異性を明らかにしたからである。さらにリンパ球移植無効同種免疫異常不育症に子宮内膜症が高率に診断されたことより、子宮内膜症の発症には組織破壊と子宮内膜の異所性生着にかかわる少なくとも2種類の免疫異常が存在する可能性が高い。さらにB51・B52・DR2・DR4とANA陽性、B52とACAIG陽性の間に抗原特異性を認めたため²⁾、膠原病感受性HLA抗原が子宮内膜症発病に関係するとすれば、それは不育症的同種免疫異常や自己免疫異常であろうと考えたからである。

各抗原の子宮内膜症ならびに子宮腺筋症に対する感受性の診断基準は、DR4と慢性関節リュウマチとの相対危険率を2.8倍とした報告⁹⁾を根拠に全例での診断倍率を3倍に規定すると、B27、B51、DR2、DR4抗原保有と腹腔内癒着は感受性ありと結論した。また2倍以上のB51、B52、DR2とチョコレート嚢腫、DR4と子宮腺筋症も感受性を否定できないと考えられる。しかし、我々はもとより以上の抗原の保有が膠原病と同じく子宮内膜症発症の単独の素因となっているとは考えてはならず、他の遺伝子や環境因子との相互作用によって発症に至る⁸⁾と考えている。そこで以上の抗原保有者に不育症因子が合併することで診断倍率が高率化するか、2倍以上が3倍以上になった症例は、各抗原保有に不育症的免疫異常が合併(抗原保有が素因になっている可能性がある)することが発症の可能性を高めると考えた。以上の条件に合致したのは、B52とチョコレート嚢腫・癒着、DR4と癒着であった。

仮に不育症因子が関与しているとするれば、同種免疫異常あるいは自己免疫異常のいずれかであるかを知るために、リンパ球移植無効例同種免疫異常例とANA、ACA陽性例での診断倍率を検討した。リンパ球移植無効群で以上の条件を満たしたのはB51と癒着・子宮腺筋症、B52とチョコレート嚢腫・癒着、DR2の癒着、DR4と癒着・子宮腺筋症であった。以上の症例は低応答性に起因する拒絶反応の低下のた

めに、子宮内膜の異所性生着増殖を寛容する宿主免疫異常の存在する可能性が高い¹⁾。一方、自己免疫異常であるANA陽性例で前記の条件を満たしたのは、B51と癒着、B52と癒着、DR4と癒着・子宮腺筋症であり、ACAIG陽性例ではDR4と癒着・子宮腺筋症、ACAIG陽性ではB51とチョコレート嚢腫、B52とチョコレート嚢腫・癒着、DR2とチョコレート嚢腫、DR4と癒着ならびにチョコレート嚢腫であった。以上の症例では自己抗体による局所組織の破壊が、内膜組織の移動に関与している可能性がある¹⁾と推察された¹⁾。いずれにしても全例で診断倍率が2倍未満であり、抗原と感受性が否定されたB51やDR4で認められたようにANAと癒着、ACAIG陽とチョコレート嚢腫では、抗原特異性が高いと¹⁾推定された。

以上の論考で明かになった膠原病感受性HLA抗原の子宮内膜症感受性は、B27(癒着)、B51(癒着、リンパ球移植無効;癒着、ANA陽性;癒着・子宮腺筋症、ACAIG陽性;チョコレート嚢腫)、B52(癒着、リンパ球移植無効;チョコレート嚢腫・癒着、ANA陽性;癒着、ACAIG陽性;チョコレート嚢腫)、DR2(癒着、リンパ球移植無効;癒着、ACAIG陽性;チョコレート嚢腫)、DR4(癒着、リンパ球移植無効;チョコレート嚢腫・癒着・子宮腺筋症、ANA陽性;癒着・子宮腺筋症、ACAIG陽性;チョコレート嚢腫・癒着)であった。

最後に今回の研究で得られた結果から子宮内膜症の人種差と治療について考えてみたい。子宮内膜症の人種差についての研究は遅れているが、本症に感受性が高いB52、DR2両抗原がパプロタイプとして重複保有率が高い日本人は、子宮内膜症の先天発症素因が高い民族と考えられよう。また、すでに猿で確認されている¹⁶⁾ダイオキシンを代表とする外因性内分泌攪乱化学物質が環境因子の一因¹⁷⁾であるとすれば、それらの物質を大量に排出するその国の経済開発状況が後天的因子として大いに関係するであろう。無論日本もその例外ではない。

治療に関しては、従来のホルモン療法のみ立場から子宮内膜症の発病が膠原病や不育症と共通しているという視点に立った、例えば免疫抑制療法あるいはリンパ球移植による免疫刺激療法といった新しい発想に基づいた治療法の検討が必要と考えられた。

文 献

1) Kano T, Furudono M, Nabetani H, et al. (1997) The

- incidence of endometriosis and adenomyosis in patients with habitual abortion in relation to immunological abnormalities. *Jap J Fertil Steril* 42:113-118
- 2) 假野隆司(1998) 反復流産(不育症)と漢方療法. *産婦世界* 50:31-38
 - 3) 假野隆司, 古殿正子, 奥山恵子 他(1994) 機能性不妊症の不育症因子の検討. *日不妊会誌* 39:23-31
 - 4) Komlos L, Zamir R, Joshua H, et al.(1977) Common HLA antigens in couples with repeated abortion. *Clin Immunol Immunopathol* 17:330-335
 - 5) Aoki K(1982) HLA-DR compatibility in couples with recurrent spontaneous abortions. *Acta Obst Gynaec Jpn* 34:1773-1780
 - 6) 假野隆司(1997) 反復流産228例の不育症因子の解析と治療成績. *大阪医大産婦医誌* 15-20
 - 7) Taylor C and Faulk, WO(1981) Prevention of recurrent abortion with leucocyte transfusions. *Lancet* 2:68-71
 - 8) 坂根剛, 岳野光洋(1995) HLAと自己免疫. *臨床検査増刊* 35:50-52
 - 9) 長沢浩平(1995) 膠原病へのアプローチ, その1, 膠原病の病因・病態とその臨床への応用. *Medical Practice* 12:1238-1245
 - 10) 前田平生(1996) HLAタイピング. *臨床検査ガイド* '96. 和田攻, 大久保昭行, 永田直一, 矢崎義雄編, 第1版, 文光堂, 東京, pp724-727
 - 11) David TYY, Choo SY, Terry S(1989) Molecular mimicry in HLA-B27-related arthritis. *Ann Int Med* 111:581-591
 - 12) 泰美暢, 関口進(1994) HLA抗原と抗白血球抗体. *Medical Technology* 22:587-596
 - 13) 渡部嘉久, 徳永勝士(1995) 人類集団と血液型. *日常診療と血液* 5:787-792
 - 14) 柏瀬真一, 田中秀則(1996) HLAタイピング法. *検査と技術* 24:901-908
 - 15) 植木實(1995) 最新の子宮内膜症・子宮筋腫の診断と治療, 第1版, 医科学出版社. 東京, pp21-23, pp44-48,
 - 16) Rier SE, Martin DC, Bowman RE, et al.(1993) Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fund Appl Toxicol* 21:433-441
 - 17) 青木康展(1996) 環境エストロジェンとその作用機構. *化学と工業* 49:707
- (受付:1998年4月21日)
(受理:1998年6月16日)

Sensitivity of Collagen Disease-sensitive HLA Antigen to Endometriosis

Takashi Kano, Masako Furudono, Mariko Kano and Misako Ishii
Medical Corporation Kano Clinic, Osaka 542-0073, Japan

Takayoshi Kanda

Department of Obstetrics and Gynecology,
National Osaka Mimani Hospital, Osaka 586-0008, Japan

Minoru Ueki

Department Obstetrics and Gynecology,
Osaka Medical College, Osaka 569-0801, Japan

In order to investigate sensitivity of collagen disease-sensitive HLA antigen to endometriosis and adenomyosis, HLA typing was performed in a total of 174 cases consisting of 103 cases with primary habitual abortion and 71 cases with primary sterility. In the cases diagnosed as isoimmune abnormal habitual abortion, lymphocyte grafting from husbands was performed. Antinuclear antibody (ANA), anticardiolipin antibody (ACA IgG, ACA IgM) were also examined as a test for autoimmune abnormal habitual abortion. For diagnosis of endometriosis and adenomyosis, chocolate cyst, abdominal adhesions and adenomyosis were examined by the ultrasonic tomography, MRI and laparoscopy. Following conclusion were obtained when the diagnostic rate of endometriosis was analyzed in all carriers of collagen disease-sensitive HLA antigens, B27, B51, B52, DR2 and DR4, in habitual abortion group, lymphocyte graft ineffective group, positive ANA group and positive ACA group.

- 1) B27, B51, DR2 and DR4 were highly sensitive to endometriosis and particularly to abdominal adhesions.
- 2) Immune abnormality resembling to habitual abortion immune abnormality, which is roughly divided into isoimmune abnormality and autoimmune abnormality, could be a cause for occurrence of endometriosis and adenomyosis on the assumption of carrying HLA antigens mentioned previously. The former is particularly

sensitive to adhesion (DR2,DR4) or adenomyosis (DR4) , the later is particularly sensitive to adhesion (B51) and adenomyosis (DR4) if ANA is positive and to chocolate cyst(DR2) if ACA IgM is positive.

3) It is highly possible that B27, B51, B52, DR2 and DR4 antigens are directly associated with occurrence of endometriosis through production of ANA and B52 antigen through production of ACAIgM. In other cases, it is often induced by transaction of several factors including genes and environmental factors.

Key Words: endometriosis, adenomyosis, collagen disease, HLA antigen, ANA.

(Jpn J Fertil Steril 43:215-221 1998)

子宮内膜症を伴った不妊症に対する 腹腔鏡下治療の検討

Laparoscopic Treatment for Endometriosis Associated with Infertility

相模原協同病院産婦人科

宮崎 千恵子 河内谷 敏
Chieko MIYAZAKI Satoshi KAWACHIYA
大野 勉 佐藤 芳昭
Tsutomu OHNO Yoshiaki SATO

Department of Obstetrics and Gynecology,
Sagamihara Kyodo Hospital,
Sagamihara 229-1188, Japan

みやけウイメンズクリニック

三宅 崇雄
Takao MIYAKE

Miyake Women's Clinic,
Chiba 206-0013, Japan

腹腔鏡により子宮内膜症と診断しえた不妊症例68例について、子宮内膜症重症度、腹腔鏡下処置の違いによる妊娠率(最長follow up期間6年)と術後2年間の再発率を比較検討した。対象はthe revised Amerikan Fertility Society 分類Ⅰ期13例、Ⅱ期10例、Ⅲ期16例、Ⅳ期29例で、68例中43例に卵巣チョコレート嚢胞を認めた。子宮腺筋症を合併した症例は除外した。術後軽症例の一部を除き薬物療法施行後、不妊治療を行った。

重症度別の妊娠率はⅠ期84.6%、Ⅱ期80.0%、Ⅲ期62.5%、Ⅳ期51.7%、全体で64.7%であった。Ⅰ期、Ⅱ期の軽症例とⅢ期、Ⅳ期の重症例の妊娠率には有意差があった(χ^2 検定 $p<0.05$)。卵巣チョコレート嚢胞についてはエタノール固定のみでも、核出術に匹敵する妊娠率が得られた。腹腔鏡下処置後2年以内の再発率は全例の平均で20.6%であった。Ⅰ期に再発症例はなかった。Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ期の再発率はほぼ同等で差はみられなかった。核出術とエタノール固定の間にも差はなかった。

以上のことより、不妊症に伴う子宮内膜症においては、手術時間が長くなり、術後癒着の可能性の大きくなる核出術を行わなくても、エタノール固定のみで、不妊治療としては十分であり、腹腔鏡下処置に加え、徹底した薬物療法と積極的な不妊治療を行うことによって、重症例でも軽症例と同等の妊娠が期待できるものと考えられる。

キーワード：腹腔鏡下治療、子宮内膜症、不妊症、卵巣チョコレート嚢胞

(日不妊会誌 43:223-228 1998)

緒 言

子宮内膜症は生殖年齢婦人の1~5%と推定され¹⁾、さらに不妊症においてはその頻度が高く、日常診療にてしばしばみられるにもかかわらずその原因など不明な点が多い。患者を最も悩ませるのは月経困難症であるが、挙児希望の夫婦にとっては不妊症は重大な問題である。

不妊に悩む子宮内膜症患者に対する治療方針はさまざまな考え方があり、近年腹腔鏡下手術の発達に伴い、急激に変化しつつある。

当院の不妊外来受診者について、子宮卵管造影検査異常例、原因不明長期不妊例に加え、少しでも子宮内膜症が疑われる患者に対しては、the revised American Fertility Society の分類(以下rAFS分類)に基づき腹腔鏡による診断を行うことを前提としている。腹腔鏡により、不妊に伴う子宮内膜症と診断し得た症例についてその治療効果(妊娠率)と、2年後の再発率について検討を試みた。

対象と方法

1991年1月から1995年10月まで当院にて腹腔鏡をうけた挙児希望症例のうち子宮内膜症と診断しえた

表1 対象症例

rAFS分類	症例数	平均年齢(歳)
I	13(19.1%)	31.0±3.3
II	10(14.7%)	32.1±3.3
III	16(23.5%)	30.5±4.8
IV	29(42.6%)	29.8±4.1
合計	68	30.5±3.9

表2 腹腔鏡下治療後の妊娠率

治療法	I	II	III	IV	妊娠率(%)
焼灼	10/12	2/2	—	—	12/14 (85.7%)
癒着剥離	1/1	2/2	—	—	3/3 (100.0%)
核出	—	—	2/3	—	2/3 (66.7%)
エタノール固定	—	0/1	8/10	8/14	16/25 (64.0%)
内腔レーザー焼灼	—	1/1	0/2	1/1	2/4 (50.0%)
洗浄開口	—	3/4	0/1	1/6	4/11 (36.4%)
通水のみ	—	—	—	5/8	5/8 (62.5%)
妊娠率(%)	11/13 (84.6%)	8/10 (80.0%)	10/16 (62.5%)	15/29 (51.7%)	44/68 (64.7%)

分子/分母=妊娠症例数/該当症例数

68例を対象とした。腹腔鏡下にrAFS分類に基づき重症度を分類し、腹膜子宮内膜症病変の焼灼、癒着剥離、卵巣チョコレート嚢胞においてはエタノール固定、核出など、できるだけ処置を試みた。症例の内訳はrAFS分類I期13例(19.1%)、II期10例(14.7%)、III期16例(23.5%)、IV期29例(42.6%)であった。平均年齢(平均±SD)は全体で30.5±3.9歳、rAFS分類I期31.0±3.3歳、II期32.1±3.3歳、III期30.5±4.8歳、IV期29.8±4.1歳であった(表1)。卵巣チョコレート嚢胞は、I期0/13例、II期6/10例(60%)、III期16/16例(100%)、IV期21/29例(72.4%)、全体で43/68例(63.2%)にみられた。子宮腺筋症を合併した症例は除外した。

腹腔鏡施行後、rAFS分類I期とII期の1例を除き、4~6カ月の薬物療法(Buserelin 900 μ g/日あるいはDanazol 200~400mg/日)を加えた。その後症例に応じて、待期療法、あるいは積極的な不妊治療を行った。外来療法を一年以上行ったにもかかわらず妊娠成立しない症例に対しては、積極的にIVF-ETを行った。なお68例中には、腹腔鏡下にて子宮筋腫を認め、術後3カ月の薬物療法(Buserelin 900 μ g/日)後、開腹し筋腫を核出した5例(I期1例、II期3例、IV期1例)が含まれている。さらに男性因子8例(I期2例、II期2例、III期2例、IV期2例)、抗精子抗体陽性例1例(IV期)が含まれている。両側卵管通過障害例はなかった。

腹腔鏡下処置に加え、薬物療法、不妊治療を行い、子宮内膜症重症度、腹腔鏡下処置の違いによる妊娠率(最長follow up期間6年)と術後2年の再発率を比較検討した。月経困難症などの自覚症状、内診による癒着、硬結の所見、超音波断層による卵巣チョコレート嚢胞の再増大の所見をもとに、再度薬物療

法、あるいは手術療法を行ったものを再発症例とした。今回は子宮内膜症を合併した不妊症例に対し、その他の不妊因子も含めてできる限りの治療を行った結果として検討した。

統計処理は χ^2 検定により行った。

結 果

rAFS分類別の妊娠率を表2に示した。I期84.6%、II期80.0%、III期62.5%、IV期51.7%、全体で68例中44例(64.7%)であった。I期、II期の軽症例(23例中19例妊娠)とIII期、IV期の重症例(45例中25例妊娠)の妊娠率には有意差があった($p<0.05$)。

腹腔鏡下の治療は表のように7つに分類した。焼灼、癒着剥離のみ行ったもの、卵巣チョコレート嚢胞に対しては核出、エタノール固定、固定が不可能であったものに対しては、内容液排出し洗浄後嚢腫内腔をレーザー焼灼したもの、洗浄開口のみ行ったものにわけた。またfrozen pelvisのため通水以外何の処理も行わなかった症例もあった。

焼灼のみを行った症例の妊娠率は85.7%であった。またエタノール固定でも64.0%と、核出の66.7%とほぼ同等の妊娠率が得られた。内腔レーザー焼灼では50.0%、洗浄開口では36.4%であった。通水しか行えなかった症例もその後の薬物療法、不妊治療で62.5%の妊娠率が得られた。

図1にrAFS分類別の腹腔鏡下手術後の累積妊娠率を示した。I期では薬物療法を行っていないため、術後3カ月までに30.8%、1年後で53.8%が妊娠した。1年以上不妊治療を行ったにもかかわらず妊娠しない症例に対しては積極的にAIHやIVF-ETを行った。その結果累積妊娠率は84.6%となった。II期ではほとん

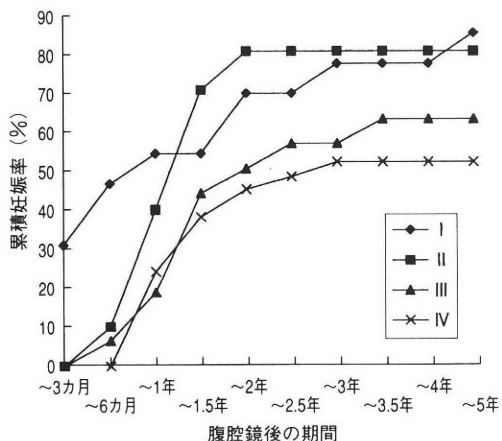


図1 rAFS分類別の腹腔鏡下手術後の累積妊娠率

どの症例に後療法を行っているため、6カ月後は10%だったが1年6カ月後には妊娠症例8例中7例が妊娠に至った。III期では1年6カ月まで43.8%、3年6カ月後には62.5%が妊娠した。IV期は1年6カ月後に37.9%、3年後に51.7%となった。II、III、IV期ともに薬物療法終了1年後までには妊娠症例の7割以上が妊娠した。各期の妊娠成立までの平均期間はI期14.4±16.6カ月、II期12.6±6.7カ月、III期17.6±9.9カ月、IV期15.1±7.2カ月であった。

図2に腹腔鏡後どのような方法で妊娠に至ったかを示した。全く無治療で妊娠した自然妊娠、排卵誘発剤を投与し排卵のタイミングを計って妊娠したものの、AIH妊娠、IVF-ET妊娠の4法に分類した。I期、II期では、排卵誘発やAIHで1年以上治療しても妊娠しないものに積極的にIVF-ETを行い、最終的には妊娠症例に占めるIVF-ETの割合がIII期、IV期より多くなった。III期、IV期では薬物療法直後に自然妊娠、あるいは積極的な不妊治療後の待期待期間に自然妊娠した症例が多い傾向にあった。

表3に腹腔鏡下手術後2年までの再発率を示した。68例全体の再発率は20.6%であった。2年以内に妊娠した症例は再発なしとした。rAFS分類別の再発率は、I期0%、II期20.0%、III期25.0%、IV期27.6%と重症例になるほど高くなるものの、II、III、IV期に大きな差はみられなかった。治療法別の再発率は、焼灼や癒着剥離では0%、核出33.3%、エタノール固定

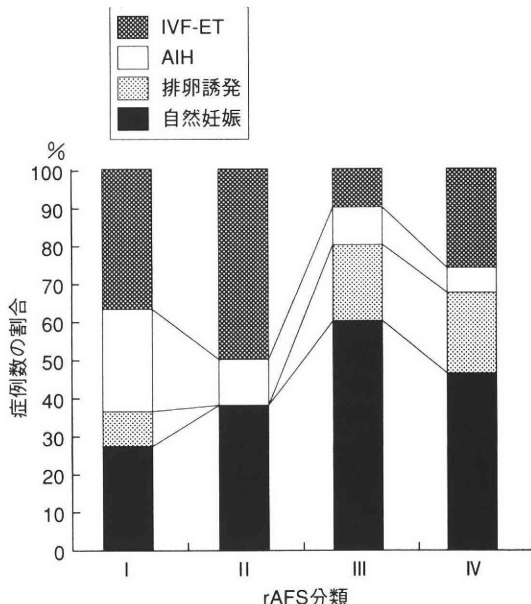


図2 腹腔鏡施行後妊娠成立までの経過

表3 腹腔鏡下手術後の再発率

治療法	I	II	III	IV	再発率(%)
焼灼	0/12	0/2	—	—	0/14 (0.0%)
癒着剥離	0/1	0/2	—	—	0/3 (0.0%)
核出	—	—	1/3	—	1/3 (33.3%)
エタノール固定	—	1/1	2/10	3/14	6/25 (24.0%)
内腔レーザー焼灼	—	1/1	1/2	0/1	2/4 (50.0%)
洗浄開口	—	0/4	0/1	1/6	1/11 (9.1%)
通水のみ	—	—	—	4/8	4/8 (50.0%)
再発率 (%)	0/13 (0.0%)	2/10 (20.0%)	4/16 (25.0%)	8/29 (27.6%)	14/68 (20.6%)

分子/分母=再発症例数/該当症例数

24.0%、内腔レーザー焼灼50.0%、洗浄開口9.1%であった。症例数に差はあるが、少なくともエタノール固定の再発率は核出に比べ高くなかった。通水のみ行った症例でも8例中4例、50%しか再発しなかった。再発後、子宮内膜症に対する治療を再度加え、妊娠に至った症例が5例(Ⅱ期1例、Ⅲ期2例、Ⅳ期2例)あった。この5例に行った腹腔鏡下治療は、卵巣子宮内膜症に対して、エタノール固定、レーザー焼灼、核出それぞれ1例ずつ、frozen pelvisのため通水のみ行った症例が2例であった。徹底した薬物療法と妊娠成立が約20%という低い再発率の要因と思われた。

考 察

子宮内膜症の治療法、そして子宮内膜症と不妊症の関連性については様々な意見がある。不妊症は子宮内膜症を原因とするものではない²⁾という報告もあるが、現実には子宮内膜症は不妊婦人に高頻度に見られ、その関連性は否定できない。不妊原因として骨盤内癒着、卵巣チョコレート嚢胞をはじめ、腹腔内環境の変化など様々な要因が指摘されている³⁾。

GuzickらはrAFS分類のstage間で内視鏡下治療と薬物療法後の積算妊娠率の差はないとしている²⁾。しかし我々の症例ではstageが重症化するほど妊娠率は低下し、子宮内膜症は不妊のひとつの原因であると考えている。

治療法は近年の腹腔鏡下手術の進歩により、大きく変化しつつある⁴⁾。不妊症や月経困難症に対する腹腔鏡下手術と開腹術の治療成績を比較した報告では、軽症のみでなく重症内膜症においても腹腔鏡下手術は開腹術と差がないという効果をあげている^{5,6)}。

不妊症患者の場合、術後の再癒着防止の意味からも、我々は腹腔鏡下手術を第1選択にしている。

軽症子宮内膜症に対しては、積極的に電気メスによる焼灼や癒着剥離を行っている。rAFS分類Ⅰ期とⅡ期の不妊症患者の腹腔鏡下手術で、病巣を焼灼、切除した場合、診断的腹腔鏡下手術のみで終わった症例に比べ、有意に妊娠率が向上することが報告されており⁷⁻⁹⁾、妊孕能向上に有効な方法と考えている。一方、rAFS分類Ⅰ期では妊娠率の低下は認めず¹⁰⁾、子宮内膜症の微小病変には病的意義はない¹¹⁾とする考えかたもある。今回の検討では、Ⅰ期では他に合併症がないにもかかわらず2年以上の不妊治療後によく妊娠した症例もあり、結果的にⅡ、Ⅲ、Ⅳ期に比べて平均妊娠成立期間が長くなった。肉眼的にはⅠ期の軽症子宮内膜症でも、他に妊孕能を妨げる因子が存在することを疑わせる結果である。

近年、卵巣チョコレート嚢胞に対して腹腔鏡下での核出術が盛んに行われるようになったが^{12,13)}、我々の症例では、エタノール注入固定のみでも核出と同等の妊娠率が得られ、再発率も差がなかった。同様に腹腔鏡下の吸引洗浄とGnRHaの使用のみで核出術に匹敵する妊娠率と再発率を得たとする報告がある¹⁴⁾。加えて子宮内膜細胞の存在する嚢胞内腔の焼灼も勧めている。また同報告では同時に行った嚢胞壁のbiopsyで異型組織は4%、癌は1例もなく、また核出によって正常卵胞を含む卵巣皮質も除去してしまう可能性もあり、必ずしも全例に核出を行わなくてもよいとしている。Nezahtらは、卵巣チョコレート嚢胞をその発生機序によって一次的なタイプと二次的なタイプに分類し、後者には嚢胞のカプセルに内膜症組織が深く浸潤し、完全に核出できない

タイプが存在することを指摘している¹⁵⁾。我々も核出後の再癒着、後の不妊治療における排卵誘発に対する反応の低下を考えると、不妊に伴う子宮内膜症には腹腔鏡下であえて核出を行わなくても、エタノール固定のみで不妊治療としては十分と考えている。

一方、卵巣チョコレート嚢胞とは別の重症型としてdeeply infiltrating endometriosis(以下DPE)が指摘されてきている¹⁶⁾。これは深在性の内膜症ではあるが、必ずしも強い癒着を伴わないため、I期やII期の症例でも頻回に認められるという。主症状は疼痛であり、治療はCO₂レーザーによる切除が有効とされている。我々は、子宮内膜症患者を悩ませている月経困難症や不妊治療において、チョコレート嚢胞よりもDPEが予後を左右するのではないかと考えている。実際、卵巣チョコレート嚢胞の存在はあまり妊娠の妨げにならないのではないかと報告もある¹⁷⁾。

再発率については、Dmowskiらは薬物療法では約3分の1が再発すると述べているが¹⁸⁾、今回の検討では約5分の1の再発率であった。腹腔鏡下の治療を併用することにより、その再発率を低下させることのできる可能性があり、これも治療上有用なポイントのひとつであろう。

子宮内膜症の原因はいまだに不明であって、腹腔鏡下治療も薬物療法も原因を取り除く治療にはなっていない。妊孕能回復のために、他の不妊因子も含め、現在行える可能な限りの治療を行うべきである。また常に再発の危険性をもっているため限られた期間内で妊娠をはからなければならない。よって徹底した薬物療法、一定期間の不妊治療後のIVF-ETの試みが重要である。

不妊を訴える子宮内膜症において、腹腔鏡下の診断処置に加え、薬物療法を徹底的に行うことにより、重症例でも妊娠の期待がもてるものと思われる。

文 献

- 1) 杉並洋(1993) 子宮内膜症の年齢別発生頻度。産と婦 60:185-188
- 2) Guzick DS, Canis M, Silliman NP, et al.(1997) Prediction of pregnancy in infertile women based on the American Society for Reproductive Medicine's revised classification of endometriosis. Fertil Steril 67:822-829
- 3) 深谷孝夫(1996) 子宮内膜症と不妊。産婦治療 72: 942-947
- 4) Wood C(1994) Endoscopy in the management of endometriosis. Baillieres Clin Obstet Gynaecol 8: 735-757
- 5) Crosignani PG, Costantini W, Vercellini P, et al. (1996) Laparoscopy versus laparotomy in conservative surgical treatment for severe endometriosis. Fertil Steril 66:706-711
- 6) Fayes JA and Collazo LM(1990) Comparison between laparotomy and operative laparoscopy in the treatment of moderate and severe stages of endometriosis. Int J Fertil 35:272-279
- 7) Tulandi T and Mouchawar M(1991) Treatment-dependent and treatment-independent pregnancy in women with minimal and mild endometriosis. Fertil Steril 56:790-791
- 8) Murphy AA, Schlaff WD, Hassiakos D, et al.(1991) Laparoscopic cauterization in the treatment of endometriosis-related infertility. Fertil Steril 55:246-251
- 9) Marcoux S, Maheux R, Berube S(1997) Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. N Engl J Med 337:217-222
- 10) D'Hooghe TM, Riday AM, Bambra CS, et al.(1996) The cycle pregnancy rate is normal in baboons with stage I endometriosis but decrease in primates with stage II and stage III-IV disease. Fertil Steril 66:809-813
- 11) Koninckx PR(1994) Is mild endometriosis a condition occurring intermittently in all women? Hum Reprod 9:2202-2205
- 12) Bateman BG, Kolp LA, Mills S(1994) Endoscopic versus laparotomy management of endometriomas. Fertil Steril 62:690-695
- 13) Gurgun T, Urman B, Yarali H(1996) Adhesion formation and reformation after laparoscopic removal of ovarian endometriomas. J Am Assoc Gynecol Laparosc 3:389-392
- 14) Donnez J, Nisolle M, Gillet N, et al.(1996) Large ovarian endometriosis. Hum Reprod 11:641-646
- 15) Nezhat C, Nezhat F, Nezhat C, et al.(1994) Classification of endometriosis. Improving the classification of endometriotic ovarian cyst. Hum Reprod 9: 2212-2213
- 16) Koninckx PR and Martin D(1994) Treatment of deeply infiltrating endometriosis. Curr Opin Obst Gynecol 6:231-241
- 17) Ishimaru T, Masuzaki H, Samejima T, et al.(1994) Influence of ovarian endometrioma on fertility. Am J Obstet Gynecol 171:541-545
- 18) Dmowski WP and Cohen MR(1978) Antigonado-

tropin (danazol) in the treatment of endometriosis :
Evaluation of post-treatment fertility and three-year
follow-up data. Am J Obstet Gynecol 130:41-45

(受付: 1998年 4月22日)

(受理: 1998年 6月 8日)

Laparoscopic Treatment for Endometriosis Associated with Infertility

Chieko Miyazaki, Satoshi Kawachiya, Tsutomu Ohno and Yoshiaki Sato

Department of Obstetrics and Gynecology,
Sagamihara Kyodo Hospital, Sagamihara 229-1188, Japan

Takao Miyake

Miyake Women's Clinic, Chiba 206-0013, Japan

To assess the effectiveness of laparoscopic treatment of infertile women complicated with endometriosis, we studied 68 women confirmed with the disease laparoscopically. Pregnancy and recurrent rates 2 years after laparoscopy were compared with respect to the revised American Fertility Society classification, and differences in laparoscopic treatment.

The subjects were 13 cases in stage I, 10 cases in stage II, 16 cases in stage III and 29 cases in stage IV. Ovarian endometrioma was present in 43 cases. Treatment for infertility was performed after medication except for minimal endometriosis and some patients with mild endometriosis. Pregnancy rates were 84.6% (stage I), 80.0% (stage II), 62.5% (stage III), 51.7% (stage IV) and 64.7% overall. Pregnancy rates of stages I and II (82.6%) were significantly different from those of stages III and IV (53.3%) ($p < 0.05$). There was no difference in pregnancy rate between cystectomy of ovarian endometrioma and ethanol fixation of the internal wall of the cyst. Recurrence rate 2 years after laparoscopy was 20.6% overall. In cases of endometriosis accompanied with infertility, ethanol fixation was sufficient to treat ovarian endometrioma. Even in cases of severe endometriosis, a high pregnancy rate is expected following laparoscopic treatment, appropriate medication and effective treatment for infertility.

Key words: laparoscopy, endometriosis, infertility, ovarian endometrioma

(Jpn J Fertil Steril 43:223-228 1998)

体外受精および顕微授精症例における胚移植数と 多胎妊娠に関する検討

Embryo Number for Transfer and Occurrence of Multiple Pregnancies in the *In Vitro* Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection Programmes.

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科

石 原 理	五十嵐 健 治	斉 藤 正 博
Osamu ISHIHARA	Kenji IGARASHI	Masahiro SAITOH
林 直 樹	田 谷 順 子	堀 籠 邦 子
Naoki HAYASHI	Junko TAYA	Kuniko HORIGOME
平 手 ひとみ	木 下 勝 之	
Hitomi HIRATE	Katsuyuki KINOSHITA	

Department of Obstetrics and Gynaecology, Saitama Medical Centre,
Saitama Medical School, Kawagoe 350-0844, Japan.

補助生殖技術の進歩による問題点のひとつに、これら治療による多胎妊娠例の急増がある。これまで、当科では体外受精(IVF)および顕微授精(ICSI)症例における胚移植数を、原則として3個としてきたが、1997年に胚移植(ET)を施行した178症例中、15例の双胎および4例の品胎妊娠例を経験した。そこで、これらの症例において、症例の年齢や施行回数などの背景因子、胚移植数および胚の質などのパラメーターと多胎妊娠との関連を検討した。

1997年に施行したIVFおよびICSI症例において、ETあたりの妊娠率は34%であった。また、妊娠例のうち双胎妊娠率および品胎妊娠率はそれぞれ29%および8%であった。単胎妊娠症例群および多胎妊娠症例群において、年齢、不妊期間、採卵数、移植胚のGrade、移植胚数などに差は認められなかった。しかし、品胎妊娠となった症例は全例、35歳未満の初回治療で3個の良好胚をETした症例であった。

今回の調査結果を見ると、症例の背景から多胎妊娠を予見することは困難であり、移植胚数を2個としても双胎防止は難しいことが示唆された。しかし、品胎妊娠の発生を防止するためには、35歳未満の初回治療症例において、移植胚数を2個に制限することが有用と思われた。

キーワード：体外受精，顕微授精，胚移植数，多胎妊娠，品胎

(日不妊会誌 43:229-234 1998)

緒 言

体外受精(IVF)など補助生殖技術の進歩は、これまで困難であった難治性不妊症の治療を可能とし、これらの治療は多くの不妊症カップルにとって大きな福音となった。しかし、その反面、諸外国と同様、

本邦でも多胎妊娠例が増加し、その妊婦管理および新生児管理に大きな影響を及ぼしていることが報告されている^{1,2)}。

当センターにおいては1990年からIVFを、1995年から顕微授精(ICSI)を臨床応用しているが、1996年2月の日本産科婦人科学会の会告に先行して、いずれ

の場合も移植胚数を原則として3個に制限してきた。しかし、IVFおよびICSIによる多胎妊娠例を少なからず経験し、従来の原則を今後も継続することは不適切となった。多胎妊娠多発の防止のためには、移植胚数をさらに制限すればよいことは自明であるが、全体の妊娠率を低下させないためには、すべての症例において、移植胚数を一律に削減するのではなく、移植胚数を制限すべき症例の選択を行うことが妥当と考えられる^{3,4)}。

そこで本研究では、一定の条件のもとに胚移植数を決定した1997年一年間の症例について、症例の年齢、不妊期間、経妊産など背景因子、採卵数、移植胚のVeek分類によるGrade、移植胚数などと、多胎発生の関連を検討し、多胎妊娠発生のリスク因子を抽出し、当センターにおける胚移植数決定の基準を見直すことを試みた。

対象および方法

1997年一年間に埼玉医科大学総合医療センター産婦人科において施行したIVFおよびICSI症例を対象とした。症例数は154例、採卵周期数は188周期である。これらのうち、受精卵が得られず胚移植(ET)に至らなかった9例10周期を除外し、145例、178周期を今回の検討の対象とした。IVFによる治療を行った症例の適応は、卵管因子54例、男性因子6例、子宮内膜症24例、原因不明長期不妊15例など(重複あり)である。また、ICSI症例の適応は、高度乏精子症または精子無力症81例、閉塞性無精子症例1例、IVFによる受精障害例6例、ハムスターテスト陰性例39例など(重複あり)である。

排卵誘発法およびその後のIVFおよびICSIに用いた器具や操作の詳細は、既報^{5,6)}のごとくであり、原則として酢酸ブセレリン(スプレキア、ヘキストマリオンセル)のlong protocolによる内因性性腺刺激ホルモンの抑制後、FSH(フェルティノームP、セローノジャパン)およびhMG(ヒュメゴン、日本オルガノン)を投与し、主席卵胞径が18mmを越えた時点で、

hCG(持田製薬)10,000 IUを投与した。また、一部のpoor responderの症例においてはshort protocolによる排卵誘発を用いた。hCG投与後、約35時間後に経腔採卵し、前培養後、原則として二層Percoll(Pharmacia)法により調製した精子を用いて、IVFにおいては媒精、ICSIにおいては卵丘細胞の除去後、顕微授精操作を行なった。

約45時間後、Veekの方法に基づく形態学的評価を行ない、Grade II以上の良好受精卵のみを1ないし4個、経腹の超音波断層法下で子宮内へ胚移植した。1997年中、移植胚数は原則として3個までとし、反復不成功例(3回目以後の治療)および高齢者では、本人の希望により最大4個までETした。なお、今回の検討では、全例において新鮮胚を採卵周期に胚移植した。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。

表1 IVFおよびICSIの臨床成績(1997.1-1997.12)

症例数	154
採卵周期数	188
胚移植施行周期数	178
胚移植率(採卵あたり)(%)	94.7
全胚移植数	519
平均胚移植数(胚移植あたり)	2.9
妊娠周期数	61
妊娠率(採卵あたり)(%)	32.4
妊娠率(胚移植あたり)(%)	34.3
流産周期数(子宮外妊娠を含む)	9
流産率(妊娠あたり)(%)	14.8
拳児およびon-going妊娠数	52
拳児率(on-goingを含む)(%)	27.7
多胎妊娠数	19
多胎妊娠率(on-going妊娠あたり)(%)	36.5
双胎妊娠数	15
双胎妊娠率(on-going妊娠あたり)(%)	28.8
品胎妊娠数	4
品胎妊娠率(on-going妊娠あたり)(%)	7.7

表2 単胎妊娠と多胎妊娠周期の比較(IVFおよびICSI)

	例数	経妊例	経産例	年齢 (歳)	不妊期間 (年)	採卵数 (個)	移植胚数 (個)	施行回数 (回)	有意差
単胎妊娠	33	12	4	31.7±3.6	4.8±3.1	12.0±6.1	3.1±0.7	2.1±1.3	N.S.
多胎妊娠	19	5	1	32.4±2.6	4.5±2.5	9.3±4.8	3.1±0.5	2.1±1.1	
(非妊娠)	117	35	5	32.9±4.4	4.9±2.9	8.1±4.7	2.7±1.1	2.3±1.8	

流産例子宮外妊娠例9例は除く N.S.: not significant (経妊例数、経産例数は χ^2 検定、その他はt検定)(mean±S.D.)

妊娠判定は、ET後14日にまず施行し、尿中hCG50IU/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50mgを14日間投与した。また、胎囊の確認されたものを妊娠と評価し、胎児数は、初期

妊娠の段階で多胎から単胎となった例があるため、少なくとも妊娠中期まで継続された数を胎児数とした。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。

表3 妊娠率および多胎妊娠率に及ぼす年齢の影響(IVFおよびICSI)

年齢(歳)	30未満	30-34	35-39	40以上
胚移植周期数	44	80	45	9
妊娠数	18	30	12	1
妊娠率(胚移植あたり)(%)	40.9	37.5	26.7	11.1
流産数(子宮外妊娠を含む)	3	5	1	0
流産率(妊娠あたり)(%)	16.7	16.7	8.3	0
拳児およびon-going妊娠数	15	25	11	1
拳児率(on-goingを含む)(%)	34.1	31.2	24.4	11.1
多胎妊娠数	3	12	4	0
多胎率(on-going妊娠あたり)(%)	20.0	48.0	36.4	0
双胎妊娠数	3	8	4	0
双胎率(on-going妊娠あたり)(%)	20.0	32.0	36.4	0
品胎妊娠数	0	4	0	0
品胎率(%)	0	16.0	0	0
年齢(歳)	27.4± 1.8	32.1± 1.8	36.2± 1.4	41.3± 1.5
不妊期間(年)	3.5± 1.9	4.8± 2.7	5.6± 3.2	7.2± 4.2
IVF・ICSI施行回数	1.6± 0.7	2.0± 1.3	2.8± 2.3	1.8± 1.3
FSH基礎値(mIU/ml)	6.9± 2.6	6.3± 1.7	7.3± 2.8	8.6± 4.9
hCG切替時E ₂ (pg/ml)	1584± 836	1661± 1065	1358± 988	840± 556
採卵個数	10.8± 5.6	9.4± 5.3	8.3± 4.7	5.3± 4.2
胚移植個数	2.8± 0.7	3.0± 1.0	2.8± 2.3	1.8± 1.1

表4 妊娠率および多胎妊娠率に及ぼす施行回数の影響(IVFおよびICSI)

施行回数	1	2	3	4以上
胚移植周期数	93	39	21	25
妊娠数	37	15	4	5
妊娠率(胚移植あたり)(%)	39.8	38.5	19.0	20.0
流産数(子宮外妊娠を含む)	5	1	1	2
流産率(妊娠あたり)(%)	13.5	20.0	25.0	40.0
拳児およびon-going妊娠数	32	14	3	3
拳児率(on-goingを含む)(%)	34.4	35.9	14.3	12.0
多胎妊娠数	15	2	1	1
多胎率(on-going妊娠あたり)(%)	46.9	14.3	33.3	33.3
双胎妊娠数	11	2	1	1
双胎率(on-going妊娠あたり)(%)	34.4	14.3	33.3	33.3
品胎妊娠数	4	0	0	0
品胎率(on-going妊娠あたり)(%)	12.5	0	0	0
年齢(歳)	32.1± 4.2	30.9± 4.0	32.6± 3.6	34.7± 2.7
不妊期間(年)	4.6± 2.7	5.1± 2.7	3.8± 3.0	6.3± 3.2
FSH基礎値(mIU/ml)	6.6± 2.6	7.0± 2.8	6.3± 1.6	7.7± 2.4
hCG切替時E ₂ (pg/ml)	1526± 1025	1330± 905	1513± 853	1795± 1196
採卵個数	9.5± 5.9	8.3± 4.6	9.3± 5.1	9.2± 4.9
胚移植個数	2.6± 0.9	2.9± 0.8	3.2± 1.0	3.3± 1.4

表5 妊娠率および多胎妊娠率に及ぼす移植胚数の影響(IVFおよびICSI)

移植胚数	1	2	3	4以上
胚移植周期数	21	19	95	43
妊娠数	1	3	42	15
妊娠率(胚移植あたり)(%)	4.8	15.8	44.2	34.9
流産数(子宮外妊娠を含む)	0	0	6	3
流産率(妊娠あたり)(%)	0	0	14.3	20.0
拳児およびon-going妊娠数	1	3	36	12
拳児率(on-goingを含む)(%)	4.8	15.8	37.9	27.9
多胎妊娠数	0	1	15	3
多胎率(on-going妊娠あたり)(%)	0	33.3	41.7	25.0
双胎妊娠数	0	1	11	3
双胎率(on-going妊娠あたり)(%)	0	33.3	30.6	25.0
品胎妊娠数	0	0	4	0
品胎率(on-going妊娠あたり)(%)	0	0	11.1	0
年齢(歳)	33.9±5.3	34.2±4.9	31.3±3.5	33.5±3.5
不妊期間(年)	5.1±2.9	5.7±3.5	4.2±2.4	5.6±3.2
IVF・ICSI施行回数	2.0±1.5	1.7±1.3	1.6±1.2	3.2±1.9
FSH基礎値(mIU/ml)	8.5±4.1	6.9±2.7	6.4±1.9	6.8±2.4
hCG切替時E ₂ (pg/ml)	578±516	1297±918	1615±949	1935±966
採卵個数	3.0±2.3	5.9±3.2	10.4±5.2	11.3±4.4

結 果

1997年一年間の当科におけるIVFとICSIの臨床成績を表1に示す。1997年の多胎妊娠率は、on-going妊娠となった症例52例中19例(36.5%)を占めた。

今回の主目的である多胎妊娠となるリスク因子を明らかとするため、単胎妊娠と多胎妊娠の各症例群の背景因子を比較検討した。表2に示すように、非妊娠周期においては経産婦の比率が妊娠周期よりも低い。単胎と多胎妊娠の群では、いずれの要因についても、両群間に有意な差を認めない。さらに症例の年齢別階層化(表3)を行うと、40歳以上の症例数が少ないため除外すると、少なくとも40歳未満では多胎率に差はない。また、施行回数別階層化(表4)においては、初回の多胎妊娠率が高値であることが明らかとなった。Veekの分類による獲得良好胚数による階層化を試みたが、Grade II以上の良好胚のみを移植しているため、多胎妊娠率に差は認められなかった。しかし、品胎妊娠症例のみについて注目すると、品胎妊娠は、4例すべてが35歳未満の症例であり、しかも初回のIVFあるいはICSIによる治療周期であることが明らかとなった。

さらに移植胚数と多胎率の関係を表5に示す。品胎妊娠は3個移植群にのみ認められ、双胎妊娠の発生率

は2から4個移植群において有意差を認めなかった。

考 察

多胎妊娠の防止のためには、移植胚数を制限することがもっとも有効であることはいうまでもない。しかし、IVF・ETやICSIの臨床成績を、科学的評価の対象として耐え得るものにすると同時に、妊娠率の低下を最小限度にするためには、各施設における妊娠率を勘案して移植胚数を制限する基準を作成し運用することが必要である⁷⁻¹²⁾。このひとつとして、多胎妊娠防止のために、移植胚の形態学的評価を行ない、その評価に基づいて移植胚数を決定することが有用であるとする報告がある^{8,9)}。すなわち移植胚のqualityのよい場合は少数を、あまりよくない場合は比較的多数を胚移植するというものである。しかし、当科では、すでに形態学的評価に基づき、良好胚のみを移植することを原則としており、形態学的評価以外に受精卵そのものの評価のできない現状では、他のパラメーターを参考とせざるを得ない。

そこで、従来報告されているパラメーターである、年齢、既往妊娠分娩歴、不妊期間、採卵数、移植胚数などについて、多胎妊娠を予見するための情報となり得るかどうかを検討した。しかし、前述したように、当科においては、これらの情報により多

胎妊娠の発生を防止することは困難と思われた。

しかしながら、多胎妊娠のなかでも品胎妊娠は、双胎妊娠と比較して明らかに在胎週数が短く、出生児の体重および予後が劣ることは明らかとされている²⁾。従って、品胎妊娠と双胎妊娠の母児双方に対するリスクは異なり、品胎妊娠を防止することが重要と思われる。今回のデータから、35歳未満の初回治療の場合に限って、移植胚数を2個に制限すれば、妊娠率を減ずることなく、品胎の発生は防止できると思われる。本来、補助生殖技術による人工的な多胎は、双胎を含め可能な限り防止するべきである。しかし、ここでは今回の検討に基づき、まず品胎を防止するために以下の基準を作成した。[1]35歳未満で、初回のIVFまたはICSI治療周期の場合、原則として移植胚数を2個とする。[2]上記以外の症例においては、原則として移植胚数を3個までとする。

しかし、過去のIVFおよびICSIにおいて、良好卵を2回以上ETしているにもかかわらず、妊娠の成立していない症例や、転座などの染色体異常をとまうなど、着床率が通常より低いことが予想される特殊な例では、例外として移植胚数を個別に検討することが必要と思われる。すなわち、IVFおよびICSIの品質管理が厳密に行なわれている限り、その施設の過去の成績から、多胎防止と、妊娠率の維持について施設基準として妥当な基準を作成することが可能と考えられるからである。

当科では今後2年間、この基準により体外受精胚移植と顕微授精を行ない、その間の成績を踏まえて、本方針は再検討する必要がある。

文 献

- 1) 寺尾俊彦(1997) 多胎妊娠の増加とその背景. 日新生児会誌 33:485-489
- 2) 関博之, 黒牧謙一, 竹田省 他(1993) 品胎と四胎の胎児発育と単胎の胎児発育の比較検討. 日新生児会誌 30:346-350
- 3) Alikani M and Wiemer K(1997) Embryo number for transfer should not be strictly regulated. Fertil Steril 68:782-783
- 4) Bronson R(1997) How should the number of embryos transferred to the uterus following in-vitro fertilization be determined to avoid the risk of multiple gestation? Hum Reprod 12:1605-1618
- 5) 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.
- 6) 田谷順子, 石原理, 齊藤正博 他(1997) 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. 日不妊会誌 42:265-270
- 7) 松井俊彦, 児玉英也, 福田淳 他(1994) IVF-ETにおける品胎以上の多胎妊娠の発生頻度を低下させるための至適移植胚数の検討. 日産婦誌 46:1255-1258
- 8) 正岡薫, 根本央, 河津剛 他(1997) 胚の形態的Gradingからみた多胎妊娠防止のための至適移植胚数の検討. 日本受精着床学会誌 14:152-155
- 9) Staessen C, Devroey P, Camus M, et al.(1992) The relationship between embryo quality and the occurrence of multiple pregnancies. Fertil Steril 57:626-630
- 10) Staessen C, Janssenswillen C, VanDenabbeel E, et al.(1993) Avoidance of triplet pregnancies by elective transfer of two good quality embryos. Hum Reprod 8:1650-1653
- 11) Staessen C, Nagy ZP, Liu J, et al.(1995) One year's experience with elective transfer of two good quality embryos in the human in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection programmes. Hum Reprod 10:3305-3312
- 12) Roest J, Mous HVH, VanHeusden AM, et al.(1997) A Triplet pregnancy after in vitro fertilization is a procedure-related complication that should be prevented by replacement of two embryos only. Fertil Steril 67:290-295

(受付: 1998年5月6日)

(受理: 1998年6月2日)

**Embryo Number for Transfer and Occurrence of Multiple Pregnancies
in the *In Vitro* Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection Programmes.**

Osamu Ishihara, Kenji Igarashi, Masahiro Saitoh, Naoki Hayashi, Junko Taya,
Kuniko Horigome, Hitomi Hirate and Katsuyuki Kinoshita

Department of Obstetrics and Gynaecology, Saitama Medical Centre,
Saitama Medical School, Kawagoe 350-0844, Japan

It is widely concerned that the number of multiple pregnancies has been steadily growing after introduction of assisted reproductive technology including in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI). As we experienced 15 cases of twin and 4 cases of triplet pregnancies out of 178 embryo transfer (ET) cycles in 1997, we have reviewed the record of all the cases during that period in order to introduce possible reduction of embryos for transfer from three to two. While the overall pregnancy rate was 34 % per ET during that period, twin and triplet pregnancies were 29% and 8 % out of all pregnant cases, respectively. There was no positive risk factor observed in terms of occurrence of multiple pregnancies, i.e., age, duration of infertility therapy, number of collected oocytes, grading of transferred embryos and number of transferred embryos. However, all the triplet cases occurred in the cases of less than 35 years old with the first ET using three good quality embryos. These results suggest that two-embryo-transfer in these specific cases prevent triplet pregnancies after IVF and ICSI, although the number of twin pregnancies might increase.

Key words: In vitro fertilization, Intracytoplasmic sperm injection,

(Jpn J Fertil Steril 43:229-234 1998)

機能性不妊における子宮内膜日付診と子宮内膜 Estrogen Receptor および Progesterone Receptor 発現との関係

Relationship between Endometrial Histology, Estrogen Receptor and Progesterone Receptor in Patients with Unexplained Infertility

昭和大学医学部産科婦人科学教室

小田 力	田原 隆三	藤間 芳郎
Chikara ODA	Ryuzo TAHARA	Yoshiro TOMA
岩崎 信爾	平 峰子	
Shinji IWASAKI	Mineko TAIRA	
齋藤 裕	矢内原 巧	
Hiroshi SAITO	Takumi YANAIHARA	

Department of Obstetrics and Gynecology,
Showa University School of Medicine, Tokyo142-8666, Japan

機能性不妊の一因と考えられている子宮内膜の異常に着目し、機能性不妊患者の自然周期(25例)に対し黄体期7日目に子宮内膜日付診を施行し、血中estradiol値、progesterone値、さらに子宮内膜腺上皮(G)、間質(S)のestrogen receptor (ER)、progesterone receptor (PR)の発現率について検討した。さらに、上記症例のうち4例については黄体期2日目と7日目の2回に子宮内膜日付診を施行し、ER、PR発現率の経日的変化についても検討した。

1) 子宮内膜日付診は、正常群が15例、遅延群が10例であり、機能性不妊の40%に子宮内膜日付診の遅延が認められた。

2) 黄体期7日目の血中estradiol値、progesterone値は子宮内膜日付診の正常群と遅延群の間に有意差は認めなかったが、遅延群は正常群に比し低estradiol、高progesteroneの傾向を示した。

3) 黄体期7日目の子宮内膜日付診で、遅延群は正常群に比しER(G)が有意に高値を示し($p < 0.05$)、PR(S)は有意に低値を示した($p < 0.05$)。

4) 黄体期7日目で子宮内膜日付診が遅延している症例は黄体期2日目ですでに遅延しており、高ERの傾向を示した。

機能性不妊患者の40%に子宮内膜日付診の遅延がみられ、高ER(G)、低PR(S)であったことから、これらの症例ではestrogenの作用が強く現れ、progesteroneの作用が発現されにくいため子宮内膜日付診の遅延を起したと考えられる。

黄体期7日目の子宮内膜日付診が遅延している症例は黄体期2日目ですでに遅延していたことから、子宮内膜日付診の遅延は排卵期周辺から分泌期初期にかけてすでに始まっていることが示唆された。

キーワード：機能性不妊、子宮内膜日付診、estrogen receptor, progesterone receptor

(日不妊会誌 43:235-241 1998)

緒 言

器質的および内分泌学的に異常を認めない機能性不妊の一因として、子宮内膜の異常が考えられている。Noyesら¹⁾によって報告された子宮内膜日付診は、子宮内膜の経日的変化を詳細に記しているが、従来より子宮内膜日付診の異常はprogesterone分泌不全に起因する黄体機能不全に認められることが知られている。日常の臨床において機能性不妊患者の中にしばしば子宮内膜日付診の異常を示す症例が認められ、これらの患者の不妊の原因としては、子宮内膜の性steroidに対する感受性の異常、とくにsteroid receptor (stR) 発現の異常が考えられる。子宮内膜に存在するstR発現量は性steroidの影響を受け月経周期内で変動する事が知られており、ERとPRはestrogenにより発現が促進され、progesteroneにより発現が抑制される²⁻⁴⁾。しかし、血中hormone値と子宮内膜日付診の異常、さらにER, PRの発現率の関係についての研究は少ない。

そこで今回、機能性不妊患者を対象に、自然周期群におけるsteroid hormoneの子宮内膜への影響を検討する目的で、黄体期7日目に子宮内膜日付診を施行し、子宮内膜日付診の異常と血中hormone値、さらにER, PR発現率との関係について検討した。さらに、上記症例のうち4例については黄体期2日目と7日目の2回に子宮内膜日付診を施行し、ER, PR発現率の経日的変化についても検討した。

対象および方法

対 象

当院不妊外来通院中の患者のうち、一般的検査(基礎体温測定、内分泌学的検査、子宮卵管造影、精液検査)において異常を認めない機能性不妊患者25例の自然周期を対象とした。年齢は 28.6 ± 6.3 歳(Mean \pm S.D.)、不妊期間は 13.8 ± 5.5 ヶ月である。

方 法

排卵後7日目に本人の同意を得て一掻き搔爬により子宮内膜を採取し、Noyesらの分類に従い子宮内膜日付診を施行した。子宮内膜日付診の正常群は日付診所見(histological dating)が内膜の実際の採取日(chronological dating)として ± 2 日未満の範囲で一致する群、遅延群は ± 2 日以上遅延する群とした。排卵の確認は、基礎体温、血中hormone値、さらに経膈超音波による卵胞の消失および腹腔内への卵胞液の貯留により確認した。同日、血中estradiol値およびprogesterone値をEIA法にて測定した。採取した子宮内膜組織は1%ホルマリンにて固定し、パラフィン包埋後、 $10\mu\text{m}$ に薄切した。脱パラフィン後、Microwave処理(クエン酸Buffer使用、電子レンジ：出力500W、3分 \times 7回)し、室温で冷却後3% H_2O_2 にて30分間処理し、さらに正常ヤギ血清にて30分間処理した後、抗ヒトER, PR抗体(ER1D5, IgG1およびPR10A9, IgG2a; IMMUNOTECH S.A)を 4°C にて一晩反応させた。PBSで洗浄し、2次抗体を室温にて30分

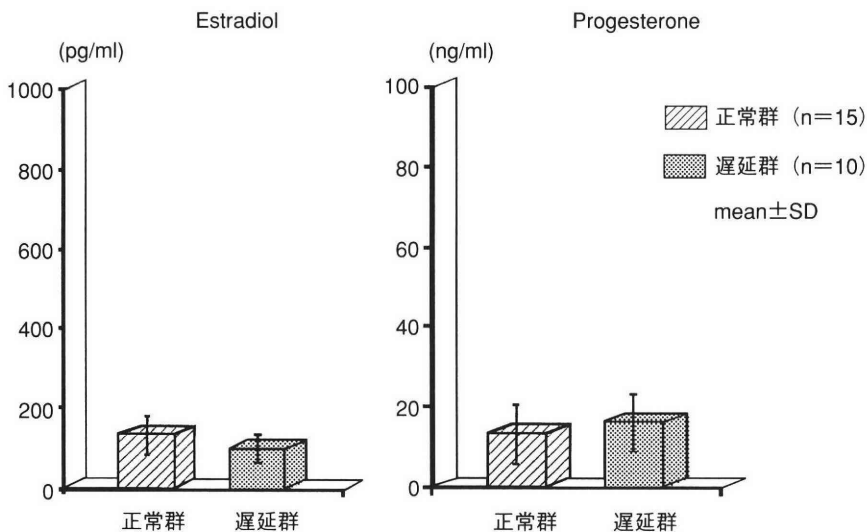


図1 黄体期7日目の血中 steroid hormone値

間反応させた後abidin biotin complex(ABC)を室温にて30分間反応させ、DAB-H₂O₂にて発色させた。H₂Oにて反応を止め、ヘマトキシリン染色し、検鏡に供した。腺上皮(G)、間質(S)、各々300個の細胞のうち染色された細胞数の割合を子宮内膜ER、PRの発現率とした。測定は二人の病理学者と一人の産婦人科医が行った。測定内変動は10%以内であった。さらに、上記症例のうち4例については黄体期2日目および7日目に子宮内膜を採取し、同様の測定を行い、ER、PR発現率の経日的変化について検討した。統

計学的処理についてはt検定による。

結 果

1. 子宮内膜日付診

正常群は15例、遅延群は10例であり、機能性不妊の40%に子宮内膜日付診の遅延がみられた。遅延日数の平均は2.3日であった。

2. 黄体期7日目の血中steroid hormone値

血中estradiol値は、正常群が129.0±49.5pg/ml (Mean±S.D.)、遅延群が96.1±34.2pg/mlであっ

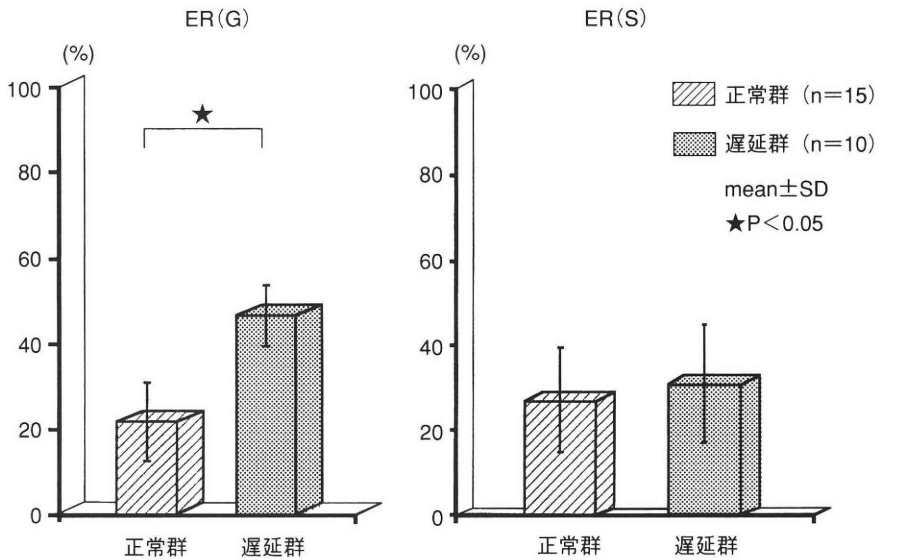


図2 黄体期7日目のER発現率

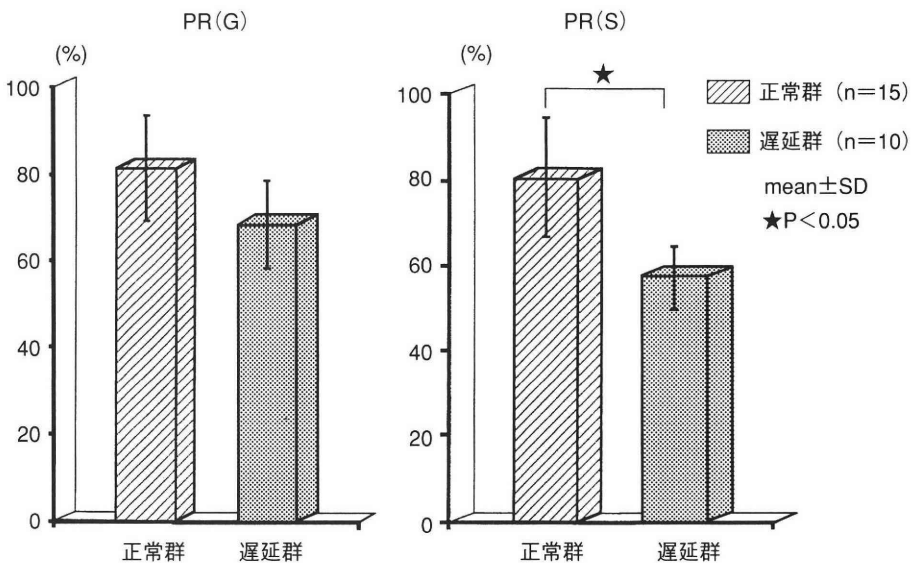


図3 黄体期7日目のPR発現率

た。血中progesterone値は、正常群が $13.4 \pm 7.1 \text{ ng/ml}$ 、遅延群が $16.5 \pm 6.8 \text{ ng/ml}$ であった(図1)、黄体期7日目の血中estradiol値、progesterone値は子宮内膜日付診の正常群と遅延群の間に有意差は認めなかったが、遅延群は正常群に比し低estradiol、高progesteroneの傾向を示した。

3. 子宮内膜ER, PR発現率

1) ER発現率

ER(G)発現率は、正常群が $21.7 \pm 9.2\%$ 、遅延群が $46.6 \pm 7.2\%$ であり、正常群と遅延群の間に有意に差

を認めた($p < 0.05$) (図2)。ER(S)発現率は、正常群が $26.8 \pm 12.3\%$ 、遅延群が $30.7 \pm 13.8\%$ であり、遅延群は正常群に比し高値傾向を示した。

2) PR発現率

PR(G)発現率は、正常群が $81.3 \pm 12.0\%$ 、遅延群が $68.4 \pm 10.1\%$ であり、正常群と遅延群の間に差を認めなかったが、遅延群に低値傾向がみられた。PR(S)発現率は、正常群が $80.4 \pm 14.0\%$ 、遅延群が $57.4 \pm 7.0\%$ であり、正常群と遅延群の間に有意差を認めた($p < 0.05$) (図3)。

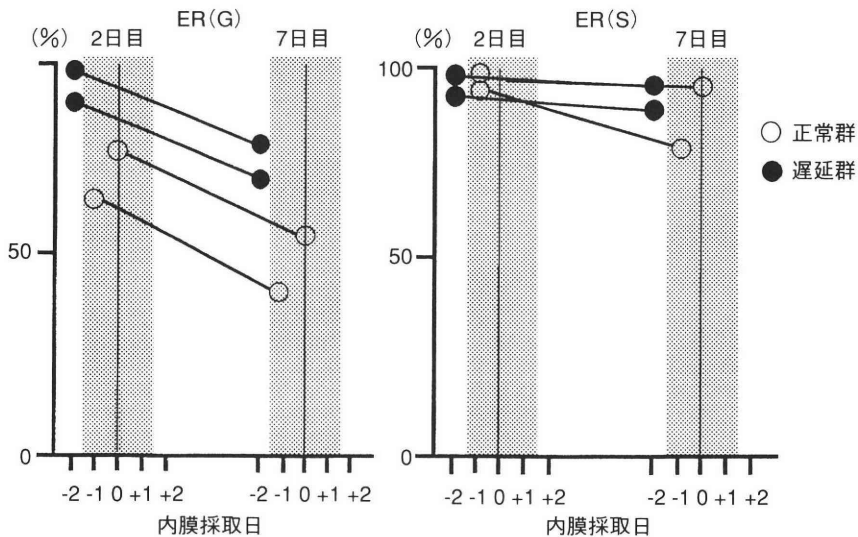


図4 同一症例の黄体期子宮内膜ER発現率の経日的変化

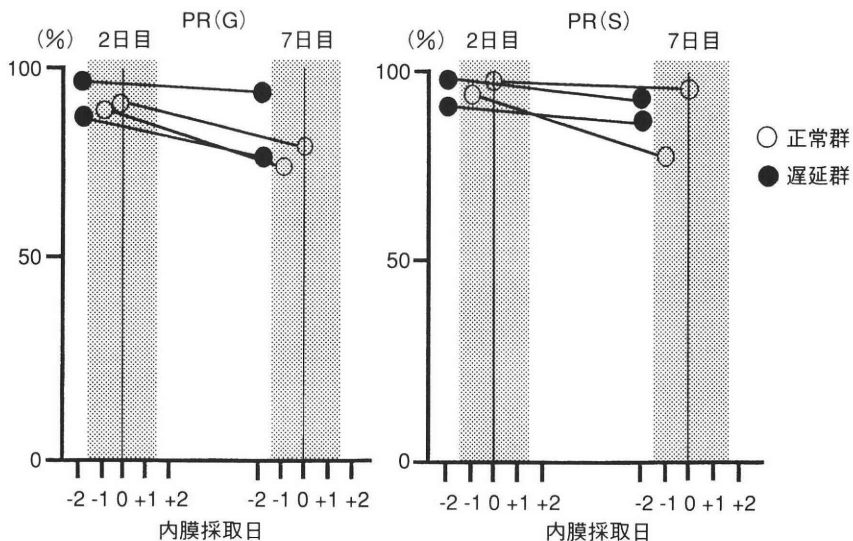


図5 同一症例の黄体期子宮内膜PR発現率の経日的変化

4. 子宮内膜日付診の経日的変化とER、PR発現率の変化との関係

同一周期の検討においてはER、PRとも排卵後発現率は低下したが、子宮内膜日付診が黄体期7日目に遅延している症例は黄体期2日目にすでに遅延しており、高ERの傾向を示した(図4および5)。

考 察

従来より、着床期子宮内膜の機能的な異常についての報告は多くみられるが、その原因としては黄体機能不全、すなわちprogesteroneの分泌不全が主であると考えられていた^{5,6)}。しかし、日常の臨床において内分泌学的に異常を認めない機能性不妊の患者にもしばしば子宮内膜日付診のずれる症例が見受けられ、今回我々の行った検討でも、子宮内膜の遅延する症例が40%に認められた。従って、血中ホルモン値が正常であるにもかかわらず、子宮内膜日付診の遅延する原因として子宮内膜のsteroid hormoneに対する反応性、すなわちstRの発現量が関与していると考えられる。

子宮内膜のstRについて、その周期的変化などが研究されており、Tamayaら⁷⁾は、正常性周期の子宮内膜のERとPRをRIAで測定し、排卵から排卵直後にかけて増加し排卵後徐々に低下していくが、分泌期中期においてERの発現率は最低となり、PRの発現率は最高となると報告している。また、Bruceら⁸⁾はERとPRの発現率は増殖期中期から後期にかけて最高となり分泌期中期において徐々に減少するが、腺上皮のPRは消失するにもかかわらず、間質細胞および子宮筋のPRは変化しなかったと報告している。さらにGraciaら⁹⁾の免疫組織化学染色での検討では、増殖期中期から分泌期中期にかけて腺上皮および間質にER、PRとも発現が認められるが分泌期中期から後期では間質においてのみPRの発現を認めたと報告している。Coppensら¹⁰⁾も同様に免疫組織化学染色での検討を行っており、排卵後はPRが優位になると報告している。これまで、子宮内膜日付診の異常とER、PRの関係を検討した報告では、黄体機能不全患者の月経周期20日から23日目の子宮内膜のstR発現率は正常例と比較してPRが有意に高く、血中progesterone値が低値であることから、子宮内膜日付診のずれはprogesteroneの分泌不全による黄体期中期のPRの増加が関与していることが示唆されている^{5,6,11)}。

Kellerら¹²⁾は、黄体期後期のprogesterone分泌が正常であるにもかかわらず、子宮内膜間質の脱落膜化

がみられない症例をpseudocorpus luteum insufficiencyとして報告している。この症例の子宮内膜間質細胞の細胞質のPRは低値であり、progesteroneを投与しても子宮内膜は改善されなかったことから、血中progesterone値が正常であるにもかかわらず日付診のずれる原因としてPRの発現率の異常を示唆している。また、Laatikainenら¹³⁾、Sirtosら¹⁴⁾は、分泌期のprogesterone分泌が正常であるにもかかわらず日付診のずれる例を正常例と比較し、日付診のずれる例のPRの発現率が低値であったことから、その原因は子宮内膜のPRの発現の異常であると推察している。

一方、Levyら¹⁵⁾は、子宮内膜日付診のずれはER発現量の低下と関係があると報告しており、Hiramaら¹⁶⁾もERの発現率の低下が日付診のずれる原因であり、estrogenの作用不全により遅延するとして妊娠成立にはER/PRが重要であると結論している。また、Gravanisら¹⁷⁾の報告では、分泌期のprogesterone分泌が正常であるにもかかわらず日付診のずれる例と正常の例を比較したところ、日付診のずれる例の細胞質のPRの発現率は低値であったが、核内のPRの発現は高値であり、子宮内膜日付診の遅延はprogesteroneに対する反応性だけでは説明出来ないとしている。さらに、McRaeら¹⁸⁾は子宮内膜日付診のずれとstR発現率との間には明らかな関係は認めなかったと報告している。以上のごとく子宮内膜日付診のずれはestrogenまたはprogesteroneの分泌不全によるものか、あるいは子宮内膜でのstRの反応性によるものか一定の見解は未だ得られていない。今回血中steroid hormone値が正常である機能性不妊患者について我々が行った検討では、子宮内膜日付診の遅延する症例が40%に認められ、遅延症例でのstR発現率はER(G)が高値でありPR(S)が低値であった。このことから、子宮内膜日付診の遅延症例ではestrogenの作用が強く現れる一方、progesteroneの作用が十分発揮されていない可能性が初めて示唆された。

機能性不妊患者の同一周期において、子宮内膜日付診とstR発現率を検討した報告はまだないが、今回の検討で、黄体期7日目で子宮内膜日付診が遅延している症例は黄体期2日目にすでに遅延しており、高ERの傾向を示していた。従って、子宮内膜日付診の遅延は排卵期周辺から分泌期初期においてすでに認められていることが示唆された。

着床期子宮内膜機能調節には、steroid hormoneのみならず、stRの変動が深く関与している事が示唆さ

れたが、今後、卵胞期を含めたstRの発現と子宮内膜日付診との関係についての検討やluteal supportによるstR発現の検討が重要と思われる。

本論文の要旨は第40回日本不妊学会総会学術講演会(1995年, 山形)にて発表した。

文 献

- 1) Noyes RW, Hertig DT, et al. (1950) Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril* 1:3-25
- 2) 岡田弘二, 大野洋介(1989) 子宮内膜, 日本臨床 47:902-905
- 3) 加藤順三(1986) ステロイドホルモン受容体, 月刊薬事 28:51-59
- 4) 福岡正恒, 秦井俊造, 森崇英(1982) 子宮内膜の黄体ホルモンレセプター, 産婦実録 35:1875-1880
- 5) Cocks ID and Christine AM(1972) Correlation of endometrial Biopsy and plasma progesterone levels in infertile women. *J Obstet Gynecol Br Comm-onw* 79:647-650
- 6) Bruce AL, Aboudun OI, et al. (1996) Endometrial progesterone receptors and markers of uterine receptivity in the window of implantation. *Fertil Steril* 65:477-483
- 7) Tamaya T, Murakami T, et al. (1986) Concentrations of steroid receptors in normal human endometrium in relation to the day of the menstrual cycle. *Acta Obstet Gynecol Scand* 65:195-198
- 8) Bruce AL, Allen PK, et al. (1988) Immunohistochemical analysis of human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 67:334-340
- 9) E.Garcia P, et al. (1988) Use of Immunocytochemistry of Progesterone and Estrogen Receptors for Endometrial Dating. *J Clin Endocrinol Metab* 67:80-87
- 10) Coppens MT, Dhont MA et al. (1992) The distribution of estrogen receptors(ER) and progesterone receptors(PR) in the normal and dysfunctional endometrium. *Progress in Histo-and Cytochemistry* 26:124-131
- 11) O.Ferit S, Sezer A, et al. (1985) Endometrial estradiol and progesterone receptors in patients with luteal phase defects and endometriosis. *Fertil Steril* 43:851-855
- 12) Keller DW, Wieat WG, et al. (1979) Pseudocorpus luteum insufficiency : a local defect of progesterone action on endometrial stroma. *J Clin Endocrinol Metab* 48:127-132
- 13) Laatikainen T, Anderson B, et al. (1983) Progesterone receptor levels in endometria with delayed or incomplete secretory changes. *Obstet Gynecol* 62:592-595
- 14) Spiro NJ, Yurewicz EC, et al. (1985) Pseudocorpus luteum insufficiency: A study of cytosol progesterone receptors in human endometrium. *Obstet Gynecol* 65:535-540
- 15) Levy C, et al. (1980) Estradiol and progesterone receptors in human endometrium : Normal and abnormal menstrual cycles and early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 136 : 646-651
- 16) Hirama Y and Ochiai K(1995) Estrogen and progesterone receptors of the out-of-phase endometrium in female infertile patients. *Fertil Steril* 63: 984-988
- 17) Gravanis A, et al. (1984) The "dysharmonic luteal phase" syndrome : endometrial progesterone receptor and estradiol dehydrogenase. *Fertil Steril* 42:730-736
- 18) McRae MC, Blasco L, et al. (1984) Serum hormones and their receptors in woman with normal and inadequate corpus luteum function. *Fertil Steril* 42:58-63

(受付: 1998年5月11日)

(受理: 1998年6月5日)

Relationship between Endometrial Histology, Estrogen Receptor and Progesterone Receptor in Patient with Unexplained Infertility

Chikara Oda, Ryuzo Tahara, Yoshiro Toma, Shinji Iwasaki,
Mineko Taira, Hiroshi Saito and Takumi Yanaihara

Department of Obstetrics and Gynecology,
Showa University School of Medicine, Tokyo142-8666, Japan

To clarify the relationship between endometrial histology, estrogen receptor(ER) and progesterone receptor(PR) in patients with unexplained infertility, endometrial biopsy was performed from 25 unexplained infertile women in mid-luteal phase. The histological dating and the expression rates of ER and PR were analysed.

Moreover, in four patients, endometrial biopsies were performed twice in early- and mid-luteal phase during same cycle for comparison. Histological dating was delayed in 40% of unexplained infertile women. No correlation was found in serum estradiol and progesterone levels between the "in-phase" and the "delayed" groups. In luteal phase, the expression rates of stromal ER(ER(S)), glandular ER(ER(G)) and PR(S), PR(G) declined. The expression rate of ER(G) in the "delayed" group was significantly higher than that in the "in-phase" group, and the expression rate of PR(S) in the "delayed" group was significantly lower than that in the "in-phase" group. Histological dating in early luteal phase was found to be already delayed in 2 patients whose endometrial dating in mid-luteal phase were delayed. These results suggest that the delayed dating in endometrium may be caused by the different expression of ER and PR in unexplained infertility.

Key Words : unexplained infertility, histological dating, estrogen receptor, progesterone receptor

(Jpn J Fertil Steril 43:235-241 1998)

FISH法による各種精子調整法回収精子の性染色体異常の検討

Analysis of the X and Y Chromosomes in Human Spermatozoa Prepared by Swim-up and Percoll Techniques

近畿大学医学部産科婦人科教室

李 萍 三橋 洋治 高瀬 規久也
Ping LI Yoji MITUHASHI Kikuya TAKASE
向林 学 星合 昊
Manabu MUKOBAYASHI Hiroshi HOSHIAI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kinki University School of Medicine, Osaka 589-8511, Japan

体外受精・胚移植の為にSwim-up法とPercoll法が広く行われている。しかし、調整された個々の精子の質的な検討は行われていないのが現状である。今回FISH法を用いて精子の性染色体の検討結果を報告する。WHOの診断基準に従って正常と判定された症例を対象とした。これらをSwim-up法で回収した運動良好精子をSwim-up群、沈渣より回収した精子を沈渣群、Percoll二層法で回収した運動良好精子をPercoll群とし、無処理精子を無処理群とした。FISH法により各群のX精子率、Y精子率、性染色体異常精子率を検討した。Swim-up群では、X精子47.6%、Y精子52.2%、性染色体異常精子0.17%であった。沈渣群ではX精子52.2%、Y精子47.3%、性染色体異常精子0.5%であった。Percoll群では、X精子50.2%、Y精子49.6%、性染色体異常精子0.19%であった。無処理群では、X精子50.0%、Y精子49.8%、性染色体異常精子0.26%であった。Swim-up群と沈渣群の染色体異常率に有意差を認め、染色体異常精子は、Swim-up、Percollによって30-40%除去されたが、しかし、完全に染色体異常精子を除去できたわけではなく、今後ICSI等に用いる精子の染色体異常の判定および選別法に更なる工夫が必要であると考えられた。

キーワード：精子、Swim-up、Percoll、FISH、染色体異常

(日不妊会誌 43:243-247 1998)

緒 言

周知のように、精子の運動性が受精率と深く関わっていることは明らかである。そのために、運動良好精子回収を目的としてSwim-up法とPercoll法が広く行われている¹⁻³⁾。しかし、回収された個々の精子の質的な検討はあまり行われていないのが現状である⁴⁻⁶⁾。FISH(Fluorescence in situ hybridization)法は、クローン化された遺伝子やゲノムDNA断片を非アイソトープ化合物で標識後、染色体DNAとハイブリダイズし、雑種形成部を蛍光シグナルとして直

接染色体上に検出する方法である。従来のオートラジオグラフィ法と比べ、安全かつ簡便で迅速に結果を得ることが可能であることから広く応用されている。今回FISH法を用いてSwim-up法、Percoll法で調整された精子の性染色体異常の検討をしたので報告する。

対象および方法

1. 研究対象：

WHOの診断基準に従って正常(精子濃度 20×10^6 /ml以上、精子運動率50%以上)と判断された症例を

対象とし、用手法により精子を回収した。これらの精子により、処理を行っていない症例9例(精子濃度 $97 \pm 38 \times 10^6 / \text{ml}$, 精子運動率 $65 \pm 8\%$)合計21843個の精子を無処理群, Swim-up法より回収された運動良好精子9症例(精子運動率 $94 \pm 3\%$)15289個の精子をSwim-up 群, 沈渣より回収された精子9症例20185個の精子を沈渣群, Percoll法より回収された運動精子7例(精子運動率 $86 \pm 4\%$)18536個の精子をPercoll群と分類した。

2. 精子調整法:

- 1) Swim-up法: 液化された精液を15mlの遠心管に注入し, 7.5%SSS(Synthetic Serum Substitute)を含むHTF(Human Tubal Fluid)培養液を用いて400g, 5分間2回遠心洗浄上清を除去し, ペレット上に, 培養液1mlを静かに載せて, 37°Cのincubaterにて1時間静置した後, 上清の培養液を取り400g, 5分間遠心した後懸濁する。
- 2) Percoll法: 15mlの遠心管に下層に80%Percoll液1ml, 上層に40%Percoll液1mlを層積, Percoll二層とし, その上に液化された精液1mlを層積する。300gで20分間遠心し前進運動精子を管底に沈殿させ, ピペットで吸い取り培養液で400g, 5分間遠心した後懸濁する。

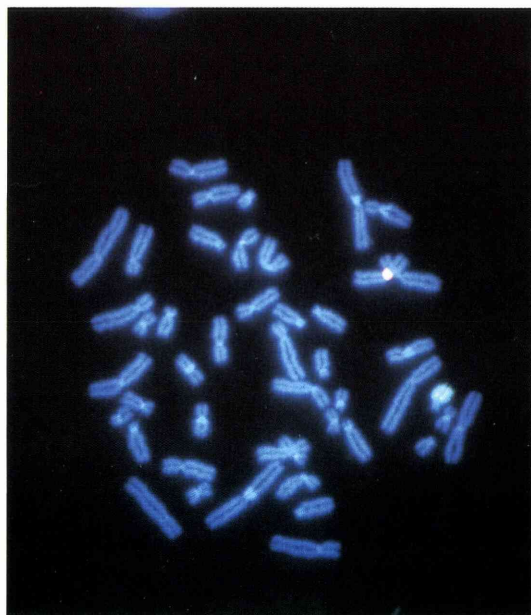


図1 男性リンパ球の染色体
赤いシグナルはX染色体
緑のシグナルはY染色体

3. 精子標本の準備:

調整された精子をPBS(-)用いて400g 5分で3回遠心洗浄した後カルノア(メタノール:酢酸=3:1)液で固定, 適当な細胞密度の浮遊液を調整し, スライドガラスの中央に1滴滴下して風乾する。ハイブリダイゼーション前にスライドを25mM DTT/1M Tris-HCl buffer, pH 9.5で5分間処理して, アルコールシリーズで脱水, 風乾する。

4. FISH法:

Oncor社のジゴキシゲニン標識DXZ1, ビオチン標識DYZ1を染色体プローブとして用い, 稲澤らのFISHプロトコル改良法で行った⁷⁾。染色体標本を70°Cの70%ホルムアミド/2×SSC(Sodium Citrate 以下SSC)中に2分間浸潤して変性させた後, 直ちに

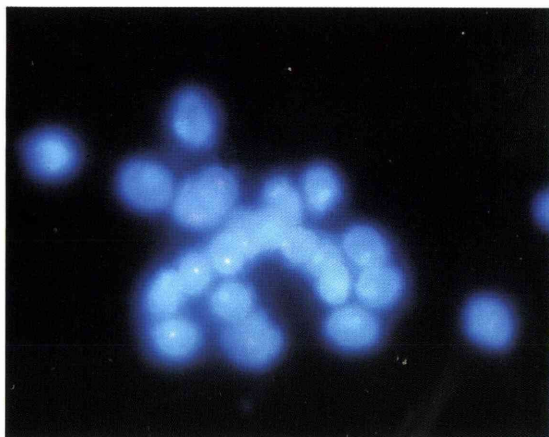


図2 X精子とY精子
ひとつの精子についている1種類の標識が識別できる



図3 性染色体異常の例
ひとつの精子の中に赤と緑のシグナルが同時に染色されたXY精子

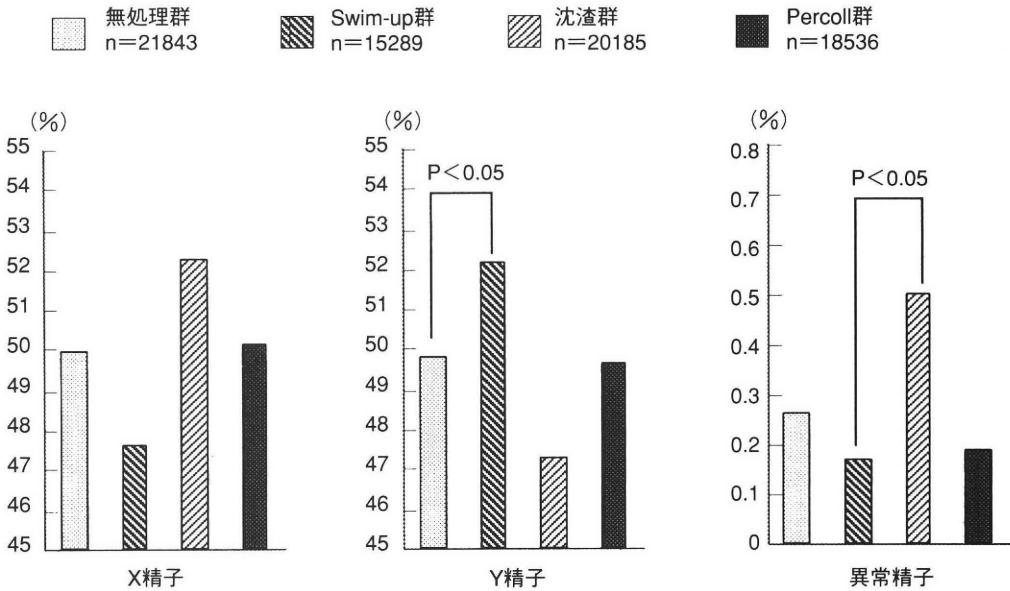


図4 Swim-up法, Percoll二層法回収前後のX精子, Y精子および異常精子率

-20℃の70%エタノールに移し急冷した, ついで上昇エタノール列で脱水した. ハイブリダイゼーション液と混合したプローブDNAを70℃で10分間変性後, 直ちに氷水に移し10分間急冷した. このプローブ溶液を変性後の染色体標本の上の置き, パラフィルム片をかぶせた後湿箱で42℃, 4時間から一晩ハイブリダイズした.

ハイブリダイゼーション後の洗浄は, スライドガラスを42℃の50%ホルムアミド/2×SSC, 2×SSCで15分ずつ, 室温の1×SSC, 4×SSCで5分ずつ浸潤させて行った. ついで洗浄後のスライドガラスに1%ブロックエースTM/4×SSC中に溶解したFITC-アビジンと抗ジゴキシゲニン・ローダミン溶液に40μlを置き, 37℃で30分間反応させた. 標本洗浄後, 蛍光の退色防止剤含むDAPIで対比染色した. 染色のコントロールにはヒトリンパ球を用いた. 染色の観察はオリンパスBX-50蛍光顕微鏡トリプルバンドパスフィルタを用いた. 各群についてX精子率, Y精子率, 異常精子率(XX, XY, YY, XXYY)を検討した(図1, 2, 3).

結 果

以上の方法で染色率はリンパ球ほぼ100%で, 精子98.5%であった. 無処理群21843個の精子中X精子は50.0%, Y精子は49.8%, 性染色体異常精子は0.26%であった. Swim-up群15289個の精子中X精子は

47.6%, Y精子は52.2%, 性染色体異常精子は0.17%であった. 沈渣群20185個の精子中X精子は52.2%, Y精子は47.3%, 性染色体異常精子は0.50%であった. Percoll群18536個の精子中X精子は50.2%, Y精子は49.6%, 性染色体異常精子は0.19%であった(図4).

Swim-up群とPercoll群は無処理群に比して染色体異常率は低い傾向を認めた(p=0.07). Swim-up群と沈渣群, 無処理群と沈渣群の染色体異常率に有意差が認められた. Swim-up群でY精子率は無処理群と比べて有意に高かった, Percoll群にはX精子率, Y精子率について有意な変化は認められなかった.

考 察

Swim-up法とPercoll法は運動良好精子の選別に有用であるとされており, 臨床人工授精および体外受精に広く用いられている. Swim-up法とは精子自身の運動により培養液中に移行(swim-up)してきた精子を回収する方法である. Percoll法とはコロイドシリカゲルPercollを用いた密度勾配遠心分離する方法である. Percoll法には単層Percoll法, Percoll二層法, 多層Percoll法, 攪拌密度勾配法などがあるが, 今回, 我々は40%Percollで精漿を除去し, 80%Percollで前進運動精子を選別しうるPercoll二層法を採用している. Swim-up法では上清液に前進精子が十分に移動するのに約1時間要するが, 回収された培養液中

に含まれる不純物は少ないと言われている。一方 Percoll 二層法は遠心操作が20分と比較的短い時間でできる利点が評価されていた。報告では精子調整後の精子運動率および精子正常形態率については Swim-up法は高く、精子濃度は Percoll法の方が高いと言われている⁸⁻¹⁰⁾。しかし受精率については有意差は認められていない^{1, 8)}。

今回 two color FISH法を用いた検討は、99%以上の精子は性染色体正常精子であった。性染色体異常率は Swim-up群は0.17%、Percoll群は0.19%であった。Swim-up群でやや低かったが、とくに有意差は認められなかった。一方、Swim-up群と沈渣群の性染色体異常率には有意差が認められた。Swim-up群と Percoll群は無処理群の0.26%に比して性染色体異常率は低い傾向が認められた。以上の結果は今まで報告されたハムスター卵などを用いた実験データと一致した¹¹⁻¹³⁾。

Swim-up法は精子の運動性によって X精子、Y精子が分けられるという報告があり¹⁴⁾、さらに Swim-up法調整した精子の受精により男児が高率との報告もある^{15, 16)}。それに対して、Swim-up法で選別した精子は X精子、Y精子の比率は1:1と変わりはないという報告もされている^{4, 5)}。今回、我々の検討では Swim-up群に X精子:Y精子は47.63:52.19で、Y精子率は無処理群と比べて有意に ($p < 0.05$) 高かった。我々は Tie Lan Hanら^{4, 5)}とほぼ同じ Swim-up法で行った。しかし、彼らの X精子、Y精子の比率は1:1と変わらないという報告は本研究と異なる結果を示している。これは、洗浄用の培養液として彼らが modified HTF を使用しているのに対し我々は HTF を使用しており、培養液の pH が X精子、Y精子の比率に影響を与える可能性があると考えられる。しかし、今まで Swim-up精子の IVF-ET 成功例 19 症例より得られた 26 児の性比は男児例13:女児例13で、1:1と変わらなかった。これらの結果はまだ数が少ないか、IVFの過程で性別については何らかの影響を受けている可能性も推定される。

Kanekoらは quinacrine mustard 蛍光染色法により、Percoll 密度勾配中における X精子の沈降速度は Y精子と比べて速く、沈殿中への X精子回収率の方が高いことを見いだした¹⁷⁾。飯塚らは単層 Percoll法、多層 Percoll法いずれにおいても得られた児の性比が女性側に偏っており、とくに、8、12段階の多層 Percoll法では全例が女児であった報告しており⁸⁾、安江らは80%の単層 Percoll法について、X精子、Y精子の比および Percoll処理した精子の AIHより得ら

れた児の性比には有意差は認めないと報告している^{18, 19)}。今回我々80%と40%の二層 Percoll法についての検討は X精子は50.16%、Y精子は49.64%で有意な変化は認められなかった。

以上の結果より Swim-up法、Percoll法の調整によって、性染色体異常精子の約30-40%が除去できており、Swim-up法と Percoll法で調整された精子の性染色体異常率は両者間有意差はないが、Swim-up法の方でやや低かった。さらに Swim-up法回収された培養液には不純物はほとんど含まず、調整後の精子運動率および精子正常形態率は高い¹⁰⁾という面からも、現在 Swim-up法は精子調整の有効な方法であると思われる。従って Swim-up法は染色体異常精子を除去する目的からは Percoll法にとって変わり得る精子処理法であると考えられた。今後、ICSIなどに用いる精子の染色体異常の判定および精子選別調整法に関しては、結果に及ぼす重要性の観点から更なる工夫が必要であると思われる。

文 献

- 1) Englert Y, Van den Bergh M, Rodesch C, et al. (1992) Comparative auto-controlled study between swim-up and Percoll preparation of fresh semen samples for *in-vitro* fertilization. Hum Reprod 7:399-402
- 2) Ng FLH, Liu DY, Baker HWG (1992) Comparison of Percoll, mini-Percoll and swim-up methods for sperm preparation from abnormal semen samples. Hum Reprod 7:261-266
- 3) Colleu D, Lescoat D, Gouranton J (1996) Nuclear maturity of human spermatozoa selected by swim-up or by the Percoll gradient centrifugation procedure. Fertil Steril 65:160-164
- 4) Han TL, Flaherty S, Ford JH, et al. (1993) Detection of X- and Y-bearing human spermatozoa after motile sperm isolation by swim-up. Fertil Steril 60:1046-1051
- 5) Han TL, Ford JH, Webb GC, et al. (1993) Simultaneous detection of X- and Y-bearing human sperm by double fluorescence in situ hybridization. Mol Reprod Dev 34:308-313
- 6) He Hu, Miharu N, Samura O, et al. (1997) Detection of aneuploidy rate in human spermatozoa selected by swim-up using fluorescence in situ hybridization (FISH). Jpn J Fertil Steril 42:44-49
- 7) 阿部達生 (1997) 臨床 FISH プロトコール。稲澤讓治編集、秀潤社、東京、pp90-95
- 8) 飯塚理八、兼子 智、小嶋清 他 (1987) 配偶者間人工授精への Percoll 精子洗滌濃縮法の応用、およびその分娩例の検討。産婦世界 39:993-1000

- 9) 福田勝, 桑原慶紀(1993) 新たな精子処理法. 産と婦 60:1452
- 10) 鈴木秋悦(1996) 体外受精. メジカルビュー社, p138
- 11) Benet J, Geneesca A, Navarro J, et al. (1992) Cytogenetic studies in motile sperm from normal men. Hum Genet 89:176-180
- 12) Brandriff BF, Gordon LA, Heandel S, et al. (1986) The chromosomal constitution of human sperm selected for motility. Fertil Steril 46:686-690
- 13) Estop A, Catala V, Santalo J(1990) Chromosome constitution of highly motile mouse sperm. Mol Reprod Dev 27: 168-172
- 14) Ericsson RJ, Langevin CN, Nishino M(1973) Isolation of fractions rich in human Y sperm. Nature 246: 421-424
- 15) Check JH and Katsoff D(1993) A prospective study to evaluate the efficacy of modified swim-up preparation for male sex selection. Hum Reprod 8:2:211-214
- 16) Check JH, d Shanis BS, Cooper SO, et al. (1989) Male sex preselection: Swim-up technique and insemination of women after ovulation induction. Archiv Androl 23:165-166
- 17) Kaneko S, Yamaguchi J, Kobayashi T, et al. (1983) Separation of human X-and Y-bearing sperm using Percoll density gradient centrifugation. Fertil Steril 40:661-665
- 18) 浅田弘法, 末岡浩, 橋場剛士 他(1995) 性染色体特異的遺伝子プローブを用いたX精子, Y精子の検出. 日本受精着床学会雑誌 12:63-65
- 19) 安江育代, 秋山芳晃, 後藤誠 他(1991) 80% Percoll Preparation 法を用いたAIHより得られた児の性比に関する検討. 日本受精着床学会雑誌 8: 264-266

(受付: 1998年5月18日)

(受理: 1998年6月30日)

Analysis of the X and Y Chromosomes in Human Spermatozoa Prepared by Swim-up and Percoll Techniques

Ping Li, Yoji Mituhashi, Kikuya Takase, Manabu Mukobayashi and Hiroshi Hoshiai

Department of Obstetrics and Gynecology, Kinki University,
School of Medicine, Osaka 589-8511, Japan

This study has detected whether the selection of motile sperm by Swim-up and Percoll method can fully reflect true genetic quality. We used the two-color fluorescence in situ hybridization (FISH) technique to simultaneously identify X- and Y-bearing sperm before and after the Swim-up or the Percoll. The samples were obtained by masturbation, and prepared for the swim-up and Percoll procedures. Neat semen was served as the control. A total of 21843 sperm in the neat semen (control) were scored. The percentage of X-bearing sperm : Y-bearing sperm was 50.0% : 49.8%, and aneuploidy sperm 0.26%. In the Swim-up upper layer, 15289 sperm were scored and X : Y sperm was 47.6% : 52.2%, aneuploidy sperm 0.17%. In the swim-up bottom layer, 20185 sperm were scored and X : Y sperm was 52.2% : 47.3%, aneuploidy sperm 0.50%. And in the Percoll group 18536 sperm were scored and X : Y sperm was 50.2% : 49.6%, aneuploidy sperm 0.19%. A significant difference was observed in the swim-up upper layer fraction and Swim-up bottom layer fraction ($p < 0.05$). About 30-40% of the aneuploidy sperm were removed by the swim-up or the Percoll procedures, but there was about 0.2% aneuploidy sperm existed yet. We should combine certain procedures to obtain true normal sperm for assisted reproductive techniques.

Key words: sperm, Swim-up, Percoll, FISH, aneuploidy.

(Jpn J Fertil Steril 43:243-247 1998)

潜在性高プロラクチン血症に対する Terguride の効果と その作用機序に関する研究 —Bromocriptine との比較—

Studies on Effect and Its Mechanism of Terguride on Patients with Occult Hyperprolactinemia. — Comparison with Bromocriptine —

帝京大学医学部附属市原病院 産婦人科

合 阪 幸 三	渡 邊 剛 也	生 月 弓 子
Kohzo AISAKA	Takaya WATANABE	Yumiko IKEZUKI
難 波 聡	民 秋 史 子	
Akira NAMBA	Fumiko TAMIAMI	
定 月 みゆき	貝 原 学	
Miyuki SADATSUKI	Manabu KAIBARA	

Department of Obstetrics and Gynecology,
Teikyo University, Ichihara Hospital, Ichihara 299-0111, Japan

帝京大学医学部 産科婦人科学教室

森 宏 之
Hiroyuki MORI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Teikyo University, School of Medicine, Tokyo 173-8605, Japan

潜在性高プロラクチン血症(OHP)に対するtergurideの効果をbromocriptineと比較検討した。当科不妊外来を受診した排卵障害患者で、OHPの診断基準(昼間安静時の血中プロラクチン(PRL)値<15ng/ml, TRH500 μ g負荷30分後の血中PRL値 \geq 70ng/ml)により選択された95例を対象とした。これらを行無作為に2群(A:terguride投与群, 54例, B:bromocriptine投与群, 41例)に分け、十分なインフォームドコンセントの下にそれぞれの薬剤のみを3カ月間投与し、その臨床効果、血中各種ホルモン動態を比較検討した。薬剤の投与によりA, B群でそれぞれ40例(74.1%), 31例(75.6%)に経膈超音波断層法により排卵が確認された。基礎体温上の高温相も有意に延長し(p<0.01)、黄体中期の血中エストラジオール、プロゲステロン値も、それぞれ有意に上昇した(p<0.01)。投与前後におけるestrogen feedback testでは、FSH, LHとも視床下部におけるfeedback機構が薬剤の投与により有意に改善された(p<0.05)。本試験期間中にA群で13例(24.1%), B群で10例(24.4%)の妊娠の成立が見られた。以上より、tergurideは高PRL血症のみならずOHPに対してもbromocriptineと同等に有効であることが明らかとなり、その作用機序としては視床下部におけるゴナドトロピン分泌系のfeedback機構が改善することによると考えられた。

キーワード：潜在性高プロラクチン血症, Terguride, Bromocriptine, 排卵誘発

(日不妊会誌 43:249-254 1998)

緒 言

高プロラクチン血症(高PRL血症), 潜在性高プロラクチン血症(OHP)に対して, dopamine agonistが有効であることはよく知られている. 諸外国では既に数種類のdopamine agonistが市販されており, 各種薬剤によるPRL関連疾患の治療成績が報告されているが, わが国では以前より市販されているbromocriptineによるものがほとんどである¹⁻⁵⁾.

最近わが国でも使用可能となったtergurideは, bromocriptineに比べて嘔気, 嘔吐などの副作用が少ないことが知られている. tergurideは下垂体のdopamine D2 receptorにはagonistとして作用するが, 視床下部では部分作動薬として機能する結果, bromocriptineに比べて副作用が発現しにくいとされている^{6,7)}.

今回我々は, OHPに対して, tergurideもしくはbromocriptineを投与し, その臨床効果を検討すると共に, これらの薬剤を投与した際の血中各種ホルモン動態についても考察を加えたので報告する.

対象および方法

1996年1月より2年間, 当科不妊外来を受診した排卵障害患者で, OHPの診断基準⁸⁾(昼間安静時の血中PRL値<15ng/ml, TRH500 μ g負荷30分後の血中PRL値 \geq 70ng/ml)により選択された95例を対象とした. いずれの症例も他の不妊要因は認められず, 不妊の原因としてはOHPに基づく排卵障害と診断されたもののみとした.

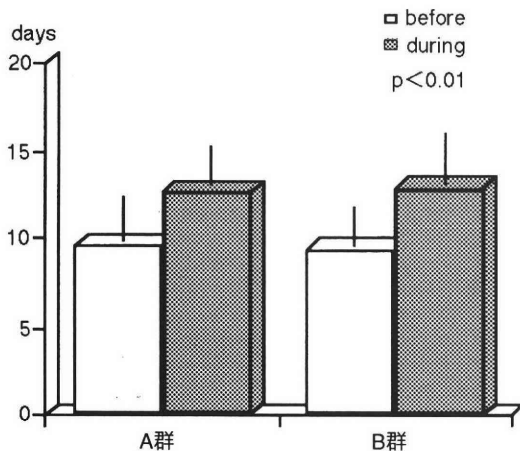


図1 治療中の黄体期(BBT高温相)の変化

いずれの薬剤によっても高温相は有意に延長した. 平均土標準偏差で表示.

これら無作為に2群(A: terguride(0.5~1.0mg/day)投与群, 54例, B: bromocriptine(2.5~5.0mg/day)投与群, 41例)に分け, 充分なインフォームドコンセントの下にそれぞれの薬剤のみを3カ月間投与し, その臨床効果を, (1)排卵の有無, (2)基礎体温(BBT)における高温相期間の変化, (3)血中各種ホルモン動態および(4)妊娠率について, 前方視的に検討した. 血中ホルモン測定は, 黄体中期(高温相3~8日目)における血中FSH, LH, エストラジオール(E₂), プロゲステロン(P₄)値について, 治療開始前および3カ月目の薬剤投与中に測定した.

さらに一部の症例(A: 8例, B: 6例)において, estrogen feedback test(プレマリン20mg静注, 24時間毎に4日目まで採血)を施行し, それぞれの薬剤投与による視床下部のfeedback機構の変化について検討を行った. 血中のゴナドトロピン値は前値を0としてそれぞれのデータを%変化率で表示して集計し, 推

表1 治療による黄体期長, 黄体中期血中estradiol, progesterone値の変化

いずれも, 治療前後で有意差が認められた. 平均土標準偏差で表示.

	Luteal phase period (days)	
	before	during
A	9.2 \pm 2.8	12.9 \pm 2.4
B	8.6 \pm 3.5	12.8 \pm 2.9
	Mid-luteal serum E ₂ (pg/ml)	
	before	during
A	111.6 \pm 74.8	193.6 \pm 39.5
B	109.1 \pm 65.7	188.4 \pm 34.1
	Mid-luteal serum P ₄ (ng/ml)	
	before	during
A	5.3 \pm 3.5	10.6 \pm 3.3
B	4.9 \pm 2.9	10.6 \pm 3.3

表2 治療による血中ゴナドトロピン値の変化

治療前後で有意差は認められなかった. 平均土標準偏差で表示.

	Serum FSH levels (mIU/ml)	
	before	during
A	5.5 \pm 2.3	6.6 \pm 2.1
B	5.3 \pm 1.9	6.9 \pm 2.5
	Serum LH levels (mIU/ml)	
	before	during
A	5.9 \pm 3.7	6.0 \pm 3.9
B	6.2 \pm 3.3	6.7 \pm 3.6

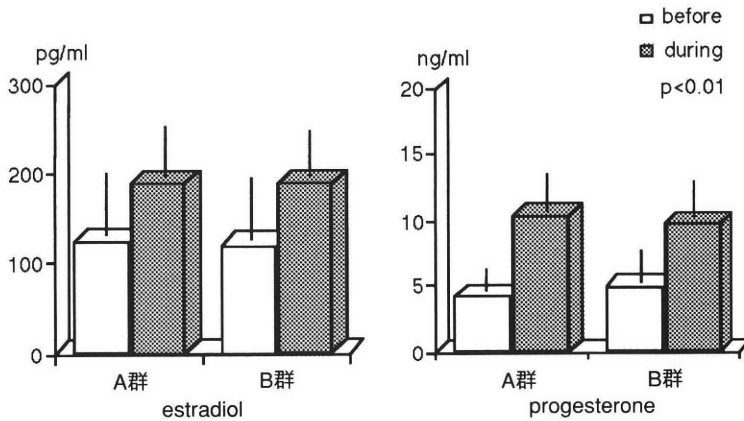


図2 治療中の黄体中期血中estradiol, progesterone値の比較
いずれの薬剤によっても有意に増加している。平均±標準偏差で表示。

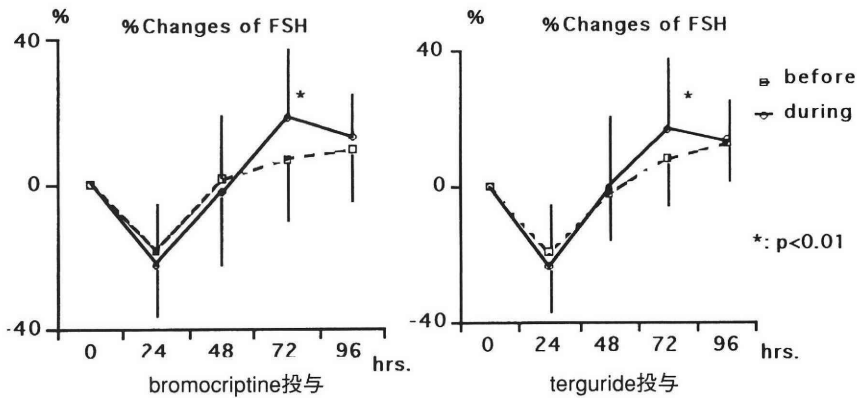


図3 OHP症例におけるestrogen feedback test(FSH)

いずれの薬剤によっても、72時間後のpositive feed backが有意に改善されている。平均±標準偏差で表示。

計学的処理を行った^{9,10)}。

排卵の有無は経腔超音波断層法により確認し、投与期間中の1周期でも最大直径が18mm以上の卵胞が認められた場合を排卵ありとした。血中各種ホルモン測定は、FSH, LH, PRLについてはDRL社(第一ラジオアイソトープ)のSPAC-S, IRMAキットにより、E₂, P₄についてはDPC社(Diagnostic Products Corporation)のRIAキットにより施行した。本研究期間中のそれぞれのキットのintraおよびinterassay varianceは、いずれも5%未満と満足すべき値であった。

推計学的処理は、Student paired t-test、およびχ²検定によった。

結 果

薬剤の投与によりA, B群でそれぞれ40例(74.1%), 31例(75.6%)に経腔超音波断層法により排卵が確認さ

れた。BBTでは、それぞれの薬剤投与により高温相がいずれも有意に延長していた(p<0.01, 図1, 表1)。黄体中期の血中E₂, P₄値も、治療によりそれぞれ有意に上昇した(p<0.01, 図2, 表1)。

ゴナドトロピン値では、血中FSH値が上昇する傾向を示したが有意差は認められなかった(表2)。なお、血中PRL値はA, B群のいずれも著明に低下していた。

一方、estrogen feedback testでは、FSHに関してはプレマリン投与72時間後にA群で7.8±10.4%から16.8±11.7%、B群で6.8±9.4%から18.6±10.3%と、A, B群とも治療によりpositive feedbackの有意の改善が認められた(p<0.05, 図3)。LHもプレマリン投与24時間後で、A群で-12.6±15.3%から-35.3±21.4%、B群で-14.6±19.6%から-44.8±20.7%とnegative feedbackの改善が認められた(p<0.05, 図4)。LH

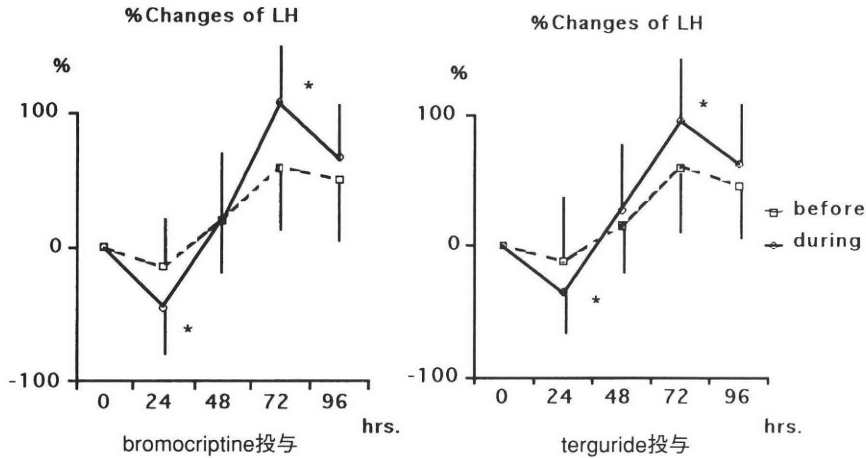


図4 OHP症例におけるestrogen feedback test(LH)

いずれの薬剤によっても、24時間後のnegativeおよび72時間後のpositive feedbackが有意に改善されている。平均±標準偏差で表示。

に関しては、さらにプレマリン投与72時間後で、A群で $58.7 \pm 31.2\%$ から $94.3 \pm 29.5\%$ 、B群で $60.2 \pm 34.3\%$ から $108.2 \pm 40.1\%$ とpositive feedbackの改善も認められた($p < 0.05$, 図4)。

なお、本研究ではbromocriptine内服に際して、飲み始めに嘔気、嘔吐などの消化器症状があることを説明し、朝・夕1/2錠ずつから開始して徐々に内服量を増加させていくといった方法を用いた⁹⁾。そのためか、前述の副作用による内服中止例は1例もなかった。terguride投与群ではbromocriptine投与例のように漸増法は行わなかったが、顕著な消化器症状を訴えた症例はなかった。

本試験期間中にA群で13例(24.1%)、B群で10例(24.4%)の妊娠が成立した。

以上より、OHPに対してtergurideはbromocriptineと同等の排卵誘発効果を有し、その作用機序としては視床下部におけるfeedback機構の改善によるものと考えられた。

考 察

高PRL血症では排卵が抑制され、しばしば無月経を伴うことはよく知られている。近年、夜間睡眠時やTRH負荷時などに一過性に血中PRL値が過剰に上昇するOHPという病態が明かとなった¹⁻⁵⁾。OHPは黄体機能不全や排卵障害を伴うことが多く、不妊要因として重要な疾患とされている^{4,11)}。

高PRL血症やOHPに対しては、dopamine agonistのひとつであるbromocriptineの投与が有効で、既に

数多く報告されている。しかしながら、わが国では最近までdopamine agonistはbromocriptineしか市販されていなかったため、tergurideに関しては高PRL血症に対する有用性についていくつかの報告があるのみで^{12,13)}、OHPに対する効果に関してはまだ報告されていない。そこで今回我々は、多数例のOHPに対してtergurideとbromocriptineを無作為に2群に分けて投与し、その臨床効果、血中各種ホルモン動態を比較検討した。その結果、排卵率、妊娠率ともtergurideはbromocriptineと同等の効果を有していることが明かとなった。またOHPは黄体機能不全を伴うことが多く、dopamine agonistの投与により改善することが知られているが¹¹⁾、今回の検討でも多くの症例で黄体機能不全がみられ、tergurideもしくはbromocriptineの投与により、BBT上の黄体期長のみならず黄体中期における血中 E_2 , P_4 値も有意に改善することが明らかとなり、tergurideはbromocriptineと同等にOHPに対して有効であることが判明した。

OHPにおいて排卵障害の発生する内分泌学的要因として、一過性の高PRL状態が卵巣におけるsteroidogenesisを抑制する可能性や^{9,10)}、中枢でのゴナドトロピン分泌に対する影響¹⁵⁾、さらに卵巣におけるゴナドトロピンレセプターレベルでの感受性の抑制¹⁴⁾などが報告されているが、詳細に関しては不明である。今回の検討では、黄体機能不全の改善と共に、血中のFSH分泌が治療により増加する傾向がみられた。血中LH値には著変は認められなかったことから、一過性の高PRL血症はFSH分泌に抑制的に作

用している可能性が示唆された。さらに、治療により estrogen feedback test で FSH, LH とも feedback 機構の改善が認められた。一般にゴナドトロピン分泌は視床下部からの Gn-RH によりコントロールされており、Gn-RH 分泌ニューロンはその周辺の神経核からの刺激により支配されている¹⁰⁾。以上より、今回認められた feedback の改善は、視床下部におけるこれらの神経内分泌機構が dopamine agonists の投与により良好となった結果であると考えられた。しかしながらさらに詳細なメカニズムに関しては今回の研究では不明で、今後の検討を要する。

本研究の結果、OHP に対して terguride は bromocriptine と同等に有効であることが明らかとなった。さらにその作用機序としては、血中 PRL 値を下げることによるゴナドトロピン分泌動態の改善が示唆された。

血中のゴナドトロピン値に変化がみられず、黄体期血中 E₂, P₄ 値が上昇した理由に関しては、高 PRL 血症による卵巣でのステロイド合成の抑制が dopamine agonist の投与により解除されたこと^{10, 11)}、卵巣におけるゴナドトロピンレセプターレベルでの改善¹⁴⁾、ゴナドトロピン分泌の pulsatile pattern の変化¹⁵⁾などが考えられるが、詳細なメカニズムに関しては今後の課題である。

また本研究では、bromocriptine 投与に際して漸増法を用いたためか重篤な消化器症状を訴えた症例はなかったが、一般的には terguride は bromocriptine に比較して消化器症状が少ないとされており、この点からも OHP の治療薬として使いやすい薬剤であると考えられた。

本論文の要旨は第42回日本不妊学会総会学術講演会(1997, 東京)において発表した。各種ホルモンの測定にご協力いただいた SRL 社に深謝する。

文 献

- 1) 森 宏之, 合阪幸三, 松岡 良 他(1985) 正プロラクチン性排卵障害婦人における bromocriptine の排卵誘発作用の機序 — いわゆる正プロラクチン血症性排卵障害における潜在性高プロラクチン血症の意義 —. 日内分泌会誌 61:38-47
- 2) 森 宏之, 合阪幸三, 松岡 良 他(1985) 正プロラクチン血症性排卵障害におけるプロラクチン分泌予備能とプロラクチンの日内変動との相関. 産婦科誌 37:287-292

- 3) 水口弘司, 植村次雄, 白須和裕 他(1987) 正常プロラクチン血症性排卵障害の bromocriptine 療法 — 潜在性高プロラクチン血症と多嚢胞性卵巣症候群 —. 産婦実録 36:187-197
- 4) 合阪幸三, 金田幸枝, 都築浩雄 他(1990) 排卵障害の原因別分類とその治療. 日不妊会誌 35:650-657
- 5) 合阪幸三, 吉田浩介, 香山文美 他(1995) 正常プロラクチン血症性視床下部性排卵障害に対する bromocriptine の有用性の研究. 日不妊会誌 40:107-114
- 6) 水野正彦, 武谷雄二, 木下勝之 他(1993) ZK 31224 (Terguride) の高プロラクチン血症および乳汁漏出症に対する二重盲検試験成績. 基礎と臨床 27: 643-668
- 7) 水野正彦, 武谷雄二, 木下勝之 他(1993) ZK 31224 (Terguride) の乳汁漏出症に対する臨床効果の検討. 薬理と治療 21:1921-1939
- 8) 合阪幸三, 金田幸枝, 都築浩雄 他(1993) 潜在性高プロラクチン血症の診断基準と bromocriptine の臨床効果に関する研究. 日内分泌会誌 69:1017-1027
- 9) 合阪幸三(1993) 不妊診療ハンドブック—新しい概念による排卵障害の診断と治療—. 新興医学出版社, 東京, pp35-55
- 10) Speroff L, Glass RH, Kase NG(1994) Female infertility. In: Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Williams & Wilkins, Maryland, pp809-840
- 11) Aisaka K, Yoshida K and Mori H(1992) Analysis of clinical backgrounds and pathogenesis of luteal phase defect. Horm Res 37:41-47
- 12) 高瀬規久也, 三橋洋治, 星合 昊(1997) プロモクリプチン服用時に悪心・嘔吐を経験した患者におけるテルグリの有用性の検討. 産と婦 64: 275-280
- 13) Sakai K, Yoshida K, Yoshimura K, et al.(1997) Terguride administration during pregnancy in a patient with pituitary macroprolactinoma in normal perinatal outcome. Jpn J Fertil Steril 42:315-319
- 14) Adashi EY and Resnick CE(1987) Prolactin as an inhibitor of granulosa cell luteinization; implications for hyperprolactinemia-associated luteal phase dysfunction. Fertil Steril 48:131-139.
- 15) 合阪幸三, 金田幸枝, 安藤三郎 他(1988) 潜在性高 prolactin 血症の病態生理と Gonadotropin 分泌系に及ぼす影響. 産婦世界 40:175-180

(受付: 1998年5月21日)

(受理: 1998年6月25日)

Studies on Effect and Its Mechanism of Terguride on Patients with Occult Hyperprolactinemia.
— Comparison with Bromocriptine —

Kohzo Aisaka, Takaya Watanabe, Yumiko Ikezuki, Akira Namba,
Fumiko Tamiaki, Miyuki Sadatsuki and Manabu Kaiabara

Department of Obstetrics and Gynecology,
Teikyo University, Ichihara Hospital, Ichihara 299-0111, Japan

Hiroyuki Mori

Department of Obstetrics and Gynecology,
Teikyo University, School of Medicine, Tokyo 173-8605, Japan

Present study was performed to elucidate the effect of terguride treatment on the patients with occult hyperprolactinemia(OHP) comparing to bromocriptine administration. Ninety five cases of OHP were subjected and divided into two groups; A: 54 cases administered terguride, and B: 41 cases administered bromocriptine. Each medicine was administered during three months and the effect of ovulation induction, comparison of mid-luteal serum estradiol(E_2) and progesterone(P_4) levels and estrogen feedback test before and after the treatment, and the pregnancy rate were studied. The ovulations were identified by the transvaginal ultrasonography in 40 cases(74.1%) of the group A and 31 cases(75.6%) of the group B. Serum E_2 and P_4 levels in mid-luteal phase significantly increased in both group A and B comparing those without treatment($p<0.01$). Significant improves were also observed in both FSH and LH of the estrogen feedback test by the treatment($p<0.05$). There were 13 cases(24.1%) in the group A, and 10 cases(24.4%) in the group B of pregnancies during this study. From these results, it was concluded that terguride administration was effective for the ovulation induction of the OHP patients as well as bromocriptine treatment through the improvement of the hypothalamic feedback mechanism for gonadotropin secretion system.

Key Words: occult hyperprolactinemia, terguride, bromocriptine, ovulation induction

(Jpn J Fertil Steril 43:249-254 1998)

hCG-hMG 療法にて自然妊娠に成功した無精子症の一例

A Report of Successful Pregnancy of Azoospermic Patient Treated by hCG-hMG Combined Therapy

獨協医科大学泌尿器科学教室

本田 幹彦

Mikihiko HONDA

寿美 周平

Shuhei SUMI

中西 公司

Kimihiro NAKANISHI

北原 聡史

Satoshi KITAHARA

仲島 宏輔

Kousuke NAKAJIMA

吉田 謙一郎

Kenichiro YOSHIDA

Department of Urology,

Dokkyo University School of Medicine, Tochigi 321-0293, Japan

1年2カ月来の不妊を主訴として来院した23歳男性。精巣生検でsecondary spermatocyte までの maturation arrest を呈し、normogonadotropin を呈する無精子症と診断された。治療としてhCG 1000IU を週1回投与したが、10回投与で精液所見は変わらずこのため、hCG3000IU、hMG 150IUの週1回投与に変更した。20回投与目、50回投与目にそれぞれ精子濃度が $5 \times 10^6/\text{ml}$ 、 $10 \times 10^6/\text{ml}$ となり、70回投与目には精液量6.0ml、精子濃度 $67 \times 10^6/\text{ml}$ 、精子運動率60%、精子奇形率15%を示した。その後自然妊娠となり双子の父親となった。

キーワード：無精子症、hCG-hMG療法

(日不妊会誌 43:255-258 1998)

緒言

男子不妊症の治療は基礎疾患を明らかにしてその治療を行うことが原則であるが、その病態を特定できないことが少なからずあり、その多くは特発性と総称される基礎疾患を明らかにし得ない精子形成障害例である。特発性乏精子症の治療は、未だ確立された方法はないが、Steinberger¹⁾らが報告した造精機序に関する実験以来、hCG-hMG療法が最も理論的な治療法として行われている。著者らは今回、無精子症の患者にhCG-hMG療法を行い妊娠・分娩に成功し双子の父親となった一症例を経験したので本症例の治療経過につき報告する。

症例

患者：[] 生まれ、男性、初診時23歳。
主訴：1年2カ月来の不妊。
現病歴：[] に結婚するも子供できず、

近医婦人科受診す。妻は20歳、婦人科的には異常ないとのことであった。患者は無精子症の診断を受け当科紹介され [] 初診となる。

既往歴：出生時に異常なく、耳下腺炎は5～6歳時に罹患、結核、性病、などの既往はない。

家族歴：特記すべきこなし。

現症：身長163cm、体重54kg。体型は正常な成人男性型を示す。外陰部に異常なく、精巣容積は右精巣が26cc、左が24ccで正常硬であった。両側に精索静脈瘤は認めず、また両側の精巣上体、精管、前立腺に異常を認めなかった。その他の理学的所見に異常を認めなかった。

一般検査：一般血液検査、生化学検査には異常を認めず、胸部レントゲン写真、心電図にも異常を認めなかった。さらに、泌尿器科的検査とし経直腸的超音波検査を行ったが、精囊、前立腺に異常所見認めず、染色体検査でも46, XYであった。

血中 hormone 濃度：初診時のLH値は3.8mIU/ml、

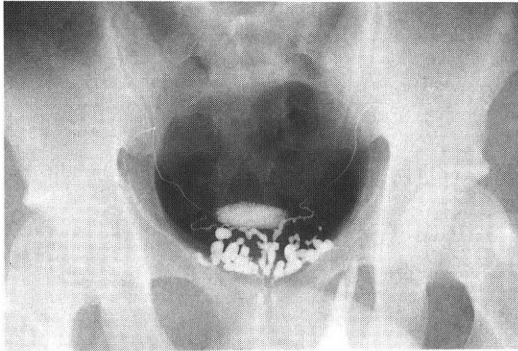


図1 症例の両側精管精囊造影

両側とも精路通過障害などの異常所見は認めない。

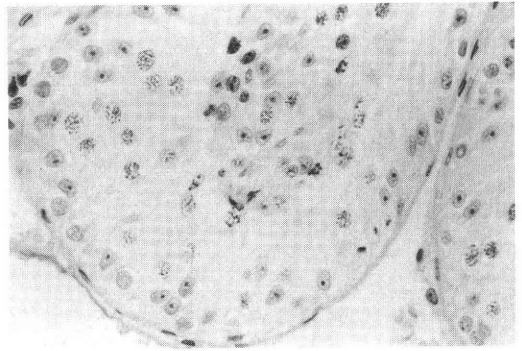


図2 症例の精巣生検像

精細胞の分化はsecondary spermatocyteまでで、精子を認めない。

FSH値 5.2mIU/ml, prolactin値 5.2ng/ml, testosterone値 488ng/dlといずれも妊孕性を有する成人男性例の基準値範囲内の値を示した。

精液検査: 初診時の精液検査では精液量2.0mlで、精液の遠沈にてもその沈渣に精子を認めない無精子症を示した。以上の検査所見から無精子症の原因として精路通過障害によるものか、あるいは精子の成熟障害によるものか鑑別が必要と判断し、精管精囊造影と精巣生検を行った。

手術時所見: 精巣、精巣上体および精管の肉眼的観察では異常を認めなかった。また、両側精管精囊検査では図1のごとく精路通過障害などの異常所見は認めなかった。

精巣生検像: 精巣生検は両側に行い、その組織像は

図2のごとく両側ともに、精細管は十分に拡張し、管壁の肥厚もなく hyaline 化も認めなかった。管腔には, sperm, spermatid を認めず, その分化は secondary spermatocyte までであった。その他, Sertoli 細胞, Leydig 細胞は成熟型を呈し, 形態的にも異常を認めなかった。以上より本症例は精子の maturation arrest による無精子症と診断した。

治療経過

治療法と治療にともなう精液検査所見を図3に示す。[redacted]より hCG 1000IU を週1回で投与を開始。10回投与で精液所見変わらず。4月26日より hCG3000IU, hMG 150IU の週1回投与を行った。20回投与で精液所見は精液量 5.0ml, 精子濃度

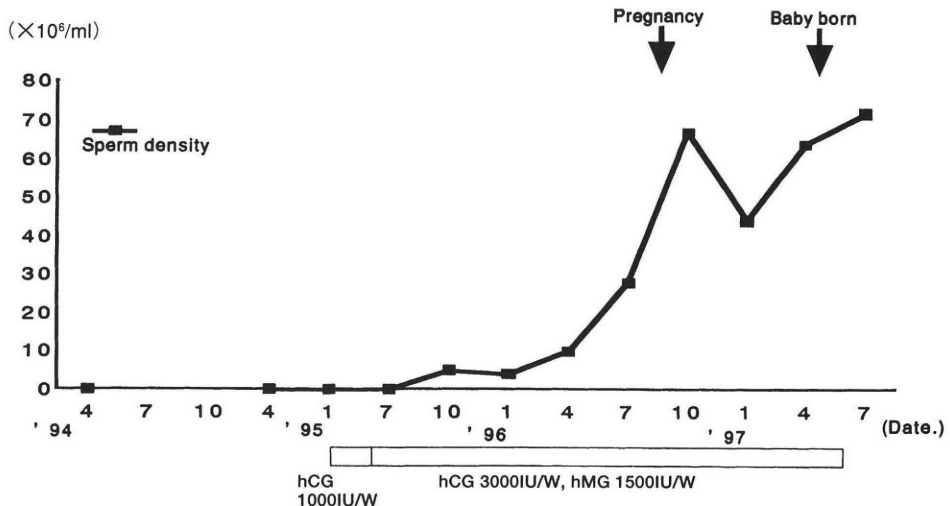


図3 ゴナドトロピン投与後の精子濃度の変効

5×10⁶/ml, 精子運動率55%, 精子奇形率30%と反応し, 50回投与目には精液量5.0ml, 精子濃度10×10⁶/ml, 精子運動率60%, 精子奇形率20%となり, 70回投与目には精液量6.0ml, 精子濃度67×10⁶/ml, 精子運動率60%, 精子奇形率15%を示した。この時の血中testosterone値は648ng/dlで, 精巣容積は右精巣が26cc, 左が24ccと初診時と同じ大きさであった。その後妻の妊娠が判明し, []に正常分娩により健康正常男児と女児の双子の誕生となった。

考 察

一般的に, 精子形成は精細胞に対するLeydig細胞, Sertoli細胞の相互作用により導入, 維持されるため²⁾, 男子不妊症に対する治療はhCGのみならずhMGを加えたhCG-hMG療法が理想的と考えられ多数試みられているが^{3,4)}, hCG-hMG療法の有効率・妊娠率は満足すべきものではない^{3,4)}。この治療成績を左右するポイントの一つとして, まず治療対象例の選択が重要と思われる。我々の施設ではこの治療法の適応として, 少なくとも精巣生検で生殖細胞の存在が確認された症例に限定すべきであると考えている。Lunenfeld⁵⁾らはLH-RH負荷テストを行い, FSHの基礎値が低くFSHが2倍以上に上昇しない症例がよい適応であると報告しているが, その一方, Schill⁶⁾らはLH-RH負荷テストの有用性は認められないと報告している。また, 並木⁷⁾らは精巣内のFSHレセプターの有無がhCG-hMG療法の適応を決定する上で極めて有用であると報告している。吉田らは精漿中のtransferrin濃度が精巣機能ことにSertoli細胞機能の指標となり得るため重要であると報告し^{8,9)}, 実際, 精漿中のtransferrin濃度が低値を示しながら, 精巣容積が正常でnormogonadotropinを呈する無精子症を経験し, hCG投与によりtransferrin濃度の増加がみられ, 妊孕性を獲得して一児の父親となった症例も報告している¹⁰⁾。

さらに, 今回の症例では最初に行ったhCG単独投与は無効であったが, hCG単独投与でも精子数の増加と良好な妊娠成功率が得られたとの報告^{10,11)}もあり, その投与量が至適投与であったか検討せねばならない。有効であったこれらの報告は, 3000IU, 5000IUという投与量であり, 我々の1000IUは量的にhCGが少なかったためとも考える。

近年, 血中黄体化ホルモン(LH)の免疫学的測定法において, 通常のデルフィア法では異常の認められない症例の中にLHβ鎖遺伝子の塩基配列の点突然変

異(8位のTryがArgに, 15位のIleがThrに転換)に伴うアミノ酸配列の変化が知られるようになり¹²⁾, これらの変異LHを示す症例では思春期男子における精巣発育を遅延させる可能性が報告されている¹³⁾。これらの報告はhCG投与が有効な症例においてはLH遺伝子の異常が内在している可能性を示唆している。

無精子症に対するhCG-hMG療法は症例が正しく選択され, その至適投与量がなされれば極めて有用な方法であるが, 上記のごとくその条件については現在模索中と言える。その条件が明らかになるまでの間, 著者らは臨床的に精巣容積が小さくかつhypergonadotropinを呈さず精路の通過障害のない症例, 同時に病理組織学的に生殖細胞の存在が証明された症例に対し試みてもよい治療法と考える。

本論文の要旨は第42回日本不妊学会総会学術講演会(1997年, 東京)で発表した。

文 献

- 1) Steinberger E(1971) Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Physiol Rev* 51:1-22
- 2) 吉田謙一郎, 大島博幸(1994) 精巣機能のパラクリン調節. *日内分泌会誌* 70:1047-1054
- 3) 水谷雅巳, 森山浩之, 三田憲明 他(1987) 特発性男子不妊症に対するHCG-HMG併用療法について. *泌尿紀要* 33:51-54
- 4) 奥山明彦, 水谷修太郎(1980) 男子不妊症の治療経験. 第一報: HCG, HMG各剤の併用について. *泌尿紀要* 26:563-566
- 5) Lunenfeld B, Olchovsky D, Tadir Y, et al.(1979) Treatment of male infertility with human gonadotropins: Selection of cases, management and results. *Andrologia* 11:331-336
- 6) Schill WB, Unterburger P, Braun S, et al.(1982) Combined hMG/hCG treatment in subfertile men with idiopathic normogonadotrophic oligozoospermia. *Int J Andro* 15:467-477
- 7) 並木幹夫, 中村正弘, 奥山明彦 他(1988) 特発性男子不妊症に対するhMG-hCG療法の有効性と精巣FSHレセプターの相関について. *泌尿紀要* 34:957-961
- 8) Yosida K-I, Nakame Y, Uchijima Y, et al.(1988) Seminal plasma transferrin concentration in normozoospermic fertile men and oligozoospermic men associated with varicocele. *Int J Fertil* 33:432-436
- 9) 吉田謙一郎(1989) ヒト精漿中のtransferrin濃度についての検討. *日泌尿会誌* 80:216-223
- 10) 吉田謙一郎, 内島 豊, 小林信幸 他(1993) hCG

- 連続投与後精漿中transferrin濃度の増加とともに
妊孕性を獲得した無精子症の一例. 日不妊会誌
38:156-160
- 11) Chehval MJ and Mehan DJ (1979) Chorionic gona-
dotropins in the treatment of the subfertile male.
Fertil Steril 31:666-668
- 12) Suganuma N, Furui K, Kikkawa F, et al. (1996) Ef-
fects of the mutations (Trp⁸→Arg and Ile¹⁵→Thr)
in human luteinizing hormone (LH) β -subunit on LH
bioactivity in vitro and in vivo. Endocrinology 137:
831-838
- 13) Raivio T, Huhtaniemi L, Anttila R, et al. (1992) The
role of luteinizing hormone- β gene polymorphism in
the onset and progression of puberty in healthy
boys. J Clin Endocrinol Metab 81:3278-3282
(受付: 1998年1月27日)
(受理: 1998年2月23日)

**A report of Successful Pregnancy of Azoospermic Patient
Treated by hCG-hMG Combined Therapy**

Mikihiko Honda, Kimihiro Nakanishi, Kousuke Nakajima,
Shuhei Sumi, Satoshi Kitahara and Kenichiro Yoshida

Department of Urology,
Dokkyo University School of Medicine, Tochigi 321-0293, Japan

Azoospermic patient with normogonadotropin, whose testicular histology showed secondary spermatocyte maturation arrest, was successfully treated by intramuscular injection with hCG (3000 IU) and hMG (150 IU) combined therapy of weekly, following the failure of hCG (1000 IU) treatment. Significant improvement of the sperm density was noted in $5 \times 10^6/\text{ml}$ and $67 \times 10^6/\text{ml}$ at 20 and 70 weeks after the therapy, respectively. Then, his wife got pregnant and ended successfully with the birth of twins.

Key words : azoospermia, hCG-hMG therapy

(Jpn J Fertil Steril 43:255-258 1998)

愛和病院不妊外来における不妊症診療統計 —分娩を主とする開業産婦人科病院での不妊診療—

Statistical Analysis of Infertile Patients at the Infertility Clinic of Aiwa Hospital —Diagnosis and Treatment of Infertility of a Private Maternity Hospital—

愛和病院産婦人科

村上信子

Nobuko MURAKAMI

Department of Obstetrics and Gynecology, Aiwa Hospital,

Koga-city, Fukuoka 811-3101, Japan

産業医科大学産科婦人科学教室

吉田耕治

石明寛

柏村正道

Kohji YOSHIDA

Meikan SEKI

Masamichi KASHIMURA

Department of Obstetrics and Gynecology,

University of Occupational and Environmental Health, School of Medicine,

Kitakyushu-city 807-8555, Japan

福岡県古賀市の愛和病院産婦人科不妊外来を1986年から1997年までの約11年半に受診した挙児希望患者236人(不妊期間1年以上175人)に不妊診療を行い、妊娠率は38.1%(35.4%)、流産等を除いた最終的な挙児率は26.3%であった。妊娠率、挙児率ともに原発性不妊よりも続発性不妊の方が良好であった。妊娠率は女性の年齢25歳までは良好であったが30歳を越えると低下し、IUI(子宮内人工授精)までの治療では女性年齢38歳が妊娠の上限であった。

妊娠例90人の内90%は初診から1年以内に妊娠が成立し、41人(46%)はリピオドールUFを用いたHSG(子宮卵管造影)後、半年以内の妊娠であった。hMG剤を一度でも使用した症例の多胎妊娠率は9%、入院を要する卵巢過剰刺激症候群は1%程度であった。

不妊の原因は卵巣・内分泌因子が最も多く、ついで卵管因子で、男性因子は過去の報告に比して少なかった。22組の患者に総計67回のIUIを行ったところ、IUI一回当たりの妊娠率は10.4%、患者1組当たりの妊娠率は31.8%であった。

分娩を主とする施設での不妊治療はIUIまでが限界であるが、絶対的なIVFの適応を除けば、IUIまでの治療での妊娠率の向上が望まれる。

キーワード：不妊症、子宮内人工授精(IUI)、統計的解析

(日不妊会誌 43:259-267 1998)

緒 言

近年、体外受精やGIFT(gametes intrafallopian transfer)など不妊治療の技術の進歩は著しい。しかしながら、大学病院など最新のART(assisted reproductive technology)を行っている施設でも実際の妊娠例の90%は子宮内人工授精法(intra-uterine insemination :IUI)までの治療によるものである¹⁾。さらにIUIを越えるARTは心理的・経済的に患者にかかる負担は大きく妊娠率も一回当たり15~20%前後とさほどよくはない²⁾。従って、不可逆的な両側卵管閉鎖や顕微受精でなければ受精出来ないような絶対的な体外受精の適応症を除いて、通常のIUIまでの治療で妊娠成立を計る方がコストパフォーマンスは遙かに良い。

以上のことから、分娩を主とする産婦人科施設での不妊治療のルーチンワークはIUIまでが限界と思われる。IUIの適応は男性因子(乏精子症、精子無力症)、頸管因子、および不妊期間がおよそ3年以上の機能性不妊などである。我々は以下の過排卵刺激からIUIまでの治療による妊娠率を向上させるヒントを得ることを目的として、愛和病院不妊外来に過去11年半の間に通院してきた患者236人の診療統計を行ったので報告する。

対象および方法

1. 対象患者と検査および治療の限界

1986年7月2日の当院開院から1997年末までの約11年半の間に訪れた挙児希望患者236人(不妊期間1年以上は175人)を今回の分析の対象とした(表1)。

患者の平均年齢は30.8歳、平均不妊期間は2.57年であった。挙児希望者、不妊期間1年以上の患者のいずれも原発性(不妊)が多数であった。

当院不妊外来では不妊原因検査のルーチンワークとして、基礎体温(BBT)測定、超音波断層法による子宮内膜と卵胞の計測、尿中エストロゲンの半定量検

査³⁾、尿中LHの定性検査⁴⁾、頸管粘液検査とHuhnerテスト、油性造影剤リビオドールUFによる子宮卵管造影(HSG)⁵⁾、必要に応じての血中ホルモン(LH、FSH、PRL、E₂、P₄)測定、男性の精液検査^{6,7)}等を行っている。とくにHSGについては原則として月経終了後2~3日目に行うようにしたが患者の都合などで月経終了直後は水溶性の60%ウログラフィン(日本シェーリング)でHSGを行った例が数例ある。

手術的に改善不可能と思われる卵管通過障害、精子濃度が 10×10^6 /ml未満か精子運動率が10%以下の男性因子で体外受精が必要と思われる症例は、北九州市か福岡市のそれが可能な施設に紹介した。またIUIまでの治療を5回以上行い、あるいは不妊治療期間がおよそ一年半以上になっても妊娠しない症例も原則的にはIUIを越えるARTを行える施設に紹介した。

2. 治療

主な治療は、原則として30歳以上の婦人では、HSGと精液検査が異常ないことを確認後、BBT上排卵周期でもClomiphene(クロミッド:塩野義)かCyclofenil(セキソビット:帝国臓器)内服後卵胞の成熟を待つてhCG(HCGモチダ)を投与するか、あるいは(Clomiphene or Cyclofenil)-hMG-hCGによる過排卵刺激を行った。hMG剤としては主にヒュメゴン(日本オルガノン)を使用した。一部フェルチノーム(セローノ・ジャパン)やHMG富士(富士製薬)も使用した。とくにClomipheneのみの周期や元々頸管粘液が少ない婦人では、結合型エストロゲン剤(プレマリン:旭化成)と、重曹水を1~2滴混入した使い捨ての腔洗浄用のピデを処方し⁸⁾、排卵前の数日間の内服と性交直前の腔洗浄を指導した。それでも頸管粘液の改善や妊娠がみられない症例ではIUIを行った。IUI(AIH)は合計22人の患者に総計67回行った。適応は緒言でも述べたように男性因子、頸管因子、機能性不妊、その他不妊期間の長い原発性不妊

表1: 患者背景と妊娠率

	原発性不妊(妊娠率)	続発性不妊(妊娠率)	合計(妊娠率)
挙児希望患者数	142(32.4%)	93(47.3%)	235(38.1%)
不妊期間>1年	107(31.8%)	68(41.2%)	175(35.4%)
流産等を除く挙児率	21.8%	33.3%	26.3%
平均年齢(歳)	30.0歳	29.5歳	30.8歳
平均不妊期間(年)	2.56年	2.57年	2.57年

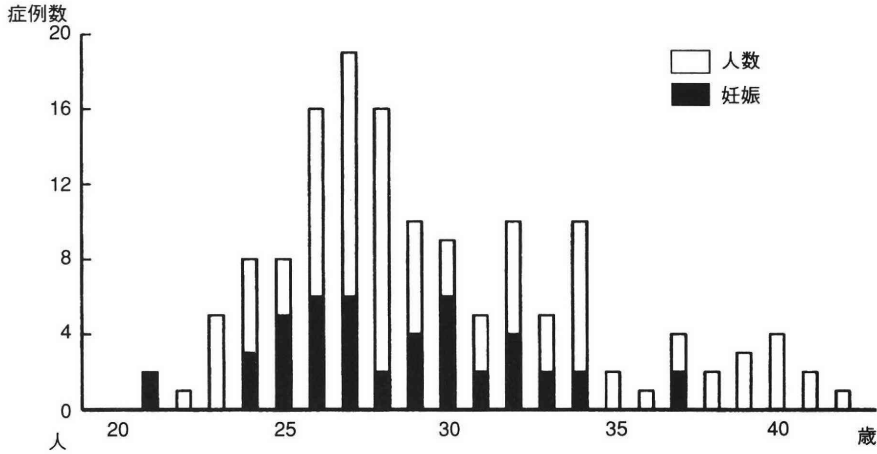


図1 初診時の年齢 (原発性)

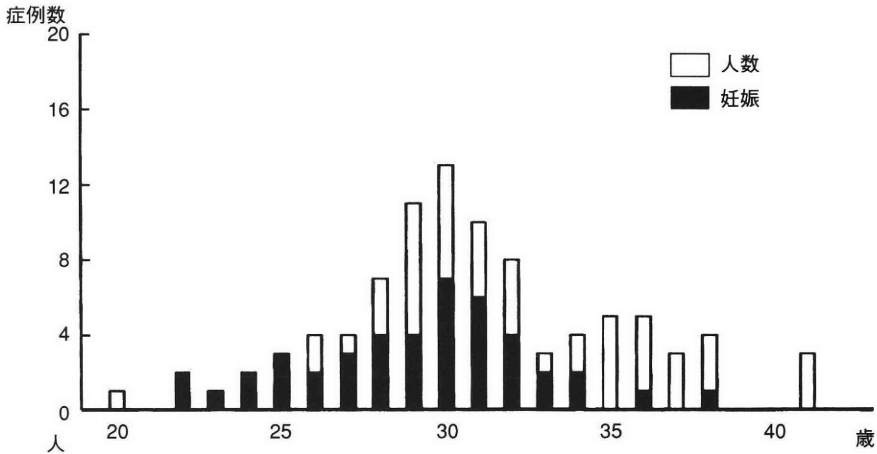


図2 初診時の年齢 (続発性)

等である。HSGは通常不妊症の検査であるが油性の造影剤によるHSGは治療的な効果もあるので⁵⁾、不妊治療が一年以上になる機能性不妊症例では積極的にHSGを再検査した。

1) 過排卵刺激法とIUI法

原則としてIUIを行う患者は、(Clomiphene or Cyclofenil)-hMG-hCGによる過排卵刺激を全例行い、hMGからhCGに切り替えた翌日に1回だけのIUIを施行した。一部過排卵刺激を行わないで自然周期のLHサージ⁴⁾を尿で検出して行った場合がある。精子は、GIBCOのsperm washing medium (HTF HEPES HAS: FN 93-0029AS)を主に使用して、時にHAM F-10組織培養液にfetal bovine serum (FBS)を加えた溶液かFBS液単独を使ってSwim up処理を行

い、運動良好な精子浮遊液を子宮腔内に住友ベークライトKKのデイキャス針(MD-60220)を用いて注入した。Swim up処理時に、精液が極端に少ない症例や極度の乏精子症では精液の遠沈を行わず、先端の尖った細胞遠沈試験管の底に精液を極少量(0.1~0.3 ml)垂らしてから、その上にsperm washing mediumなどを重層して、いきなりSwim upを行った。IUIを行った後半の症例では、この遠沈を行わないSwim upによる精液処理がメインになった。

過排卵刺激は通常、月経周期の3~5日目からClomipheneを一日100 mgかCyclofenilを一日400~600 mg 5日間で内服させ、同時に月経周期3~7日目からhMG剤を一日150~300 IU筋注し、卵胞の成熟を待ってhCG剤を3,000~10,000 IU筋注するという方式で行った。原則として20代の婦人ではhCG

3,000～5,000 IUを、30歳以上の婦人ではhCG 10,000 IUを筋注した。卵巣過剰刺激症候群(OHSS: ovarian hyperstimulation syndrome)が懸念される場合はhCGを1,500IU程度に少なく注射するかキャンセルしたことがある。プロラクチンが高くない症例でもTerguride[®](テルロン:日本シェーリング)を併用した場合が全体の10%前後ある。GnRH-agonist剤をhMG-hCG剤に併用して内因性のLHサージを抑制して完全に調節周期にするという方法も数例試み妊娠例は2例である(以下の成績の5参照)。

2) hMGからhCGへの切り替えのタイミング決定法

hMGからhCGへの切り替えのタイミング決定は原則として次のようにした。hMG投与中ほぼ隔日に経膈超音波検査を施行して、子宮内膜の厚さが1 cm以上、主席卵胞の直径が18 mm以上で成熟卵胞(直径15 mm以上の卵胞)の総数が2～3個以上、頸管粘液が反応性が増加する場合はその量と性状が十分なこと、および随時尿中の総エストロゲン濃度³⁾が80～120 ng/ml以上になってからhCGに切り替えるという方針をとった。

3) 黄体刺激・補充法

hCG投与後3～4日目ころからRetroprogesterone(デュファストン:第一製薬)10mg/日を内服させるかデポーではないProgesterone(プロゲホルモン:持田)50mgを毎日筋注、さらに症例によってはhCG 3,000～5,000 IUを週1～2回併用して黄体補充・刺激を行った。年齢が40歳以上の不妊婦人ではProgesterone 100mgを2週間ほど毎日筋注した。OHSSの

危険が予測される症例ではhCG注射を控えめにするかキャンセルした。

結 果

1. 患者背景と妊娠率

患者の年齢的な背景と不妊期間、最終的な妊娠率と挙児率を表1に示す。挙児希望者236人に不妊治療を行い妊娠率38.1%、流産などを除いた挙児率は26.3%であった。表1から明らかなように不妊期間1年以上の真の不妊夫婦に限定すると妊娠率が低下した。また結婚してから一度も妊娠していない原発性と、一度妊娠して挙児を得て2人目希望か流産・早産後の挙児希望である続発性との間では明らかに続発性の妊娠率の方がよかった。外来初診時の不妊期間の平均は原発・続発とも2.56～2.57年と差はなかった。

挙児希望者の初診時の年齢と個々の年齢時の妊娠率を棒グラフにまとめたのが図1、図2である。おおまかな傾向としては原発・続発とも年齢が25歳以下で妊娠率が高く、35歳を過ぎると極端に妊娠率は低下していた。過排卵刺激とIUIまでの治療を限度とする当院不妊外来では、女性の妊娠成立年齢の上限は38歳であった。

2. 多胎妊娠・卵巣過剰刺激症候群

妊娠例のうちで一度でも妊娠周期にhMG剤(hCG剤もほとんど併用)を使って妊娠した症例の多胎妊娠率は9%(3/32)で、すべて双胎であった。症例は一致しないが入院を要するような卵巣過剰刺激症候群も同数(全hMG-hCG使用例[非妊娠を含む]の1～2%)

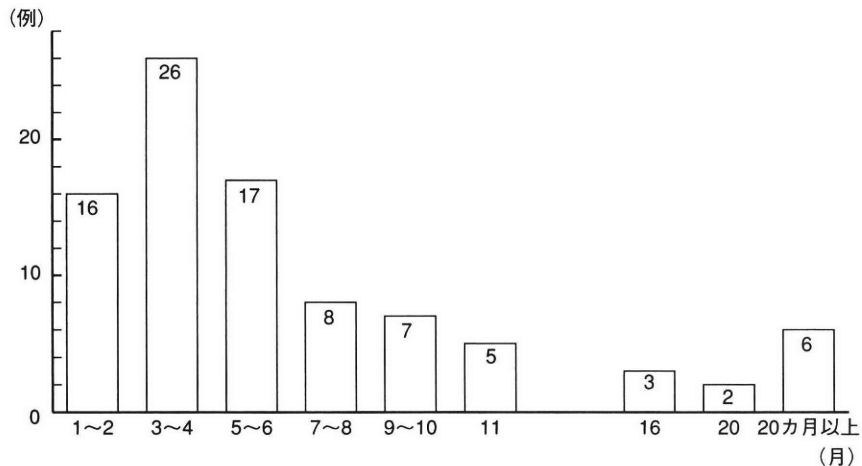


図3 妊娠までの期間

表2：不妊(全挙児希望者)の原因別の頻度と妊娠率

	患者数(頻度%)	妊娠数(妊娠率%)
卵巣・内分泌因子(除高PRL)	69 (29.2%)	30 (43.5%)
卵管因子	33 (14.0%)	15 (45.5%)
腹膜因子(含子宮内膜症)	15 (6.4%)	4 (26.7%)
男性因子	14 (5.9%)	2 (14.3%)
高PRL血症	9 (3.8%)	3 (33.3%)
二重因子	8 (3.4%)	1 (12.5%)
子宮因子	7 (3.0%)	3 (42.9%)
頸管因子	3 (1.3%)	3 (100.0%)
機能性不妊	39 (16.5%)	22 (56.4%)
その他・不明	39 (16.5%)	8 (20.5%)
総 計	236	90 (38.1%)

表3：Sperm Quality Analyzerによる精液検査の結果

患 者	精子運動指数 (SMI単位)	精液M量 (ml)	精子濃度 ($\times 10^6/ml$)	精子運動率 (%)
I.T.	133	2.0	180	95
W.Y.	185	0.8	540	20
H.N.	187	2.8	68	90
H.N.-2	71#	3.0	168	80
H.T.	61#	0.3	94	90
H.T.-2	157	0.5	240	50
S.T.	195	3.0	140	95
N.K.	195	3.0	140	95
S.H.	29#	2.0	110	10

#精子運動指数<80：不良

で、うち一例は、卵巣茎捻転も合併していたため片側卵巣を摘出せざるを得なかった。

3. 妊娠までの経過

次に原発・続発を含めた妊娠患者の治療開始から妊娠までの期間を図3に示す。平均は7.2カ月であるが図からわかるように治療開始3～4カ月目に妊娠した症例が比較的が多い。これはHSG検査後に妊娠した症例が多いことによると考えられる(全妊娠90例中41例46%がHSG検査と関連すると思われるHSG後半年以内の妊娠)。全体では治療期間が一年以内の妊娠が90%に近かった。

4. 不妊の原因と妊娠率

全挙児希望患者の原因別の頻度とそれぞれの妊娠

率の集計を表2に示す。この集計では全体を100%とし、2つ以上の因子が関与している時は臨床的にみてより不妊の原因として大きい因子を計上した。二重因子として計上してある8例は二つの不妊因子がほぼ同等の原因となっているものに限った。最も原因として多かったのは卵巣内分泌因子であり高プロラクチン血症をこれに含めると33%の患者は何らかのホルモン異常や排卵障害が不妊の原因となっていたことを示す。高プロラクチン血症以外の卵巣内分泌因子としては、主にBBTから判定された月経周期の異常(無月経、稀発月経など)、無排卵周期症、黄体機能不全等がその実体である。ついで原因が明らかとなった不妊因子で頻度の高かったものは卵管因子であった。ほとんどすべてがHSG検査で明らかとなった異常である。三番目に多かったものは腹膜因

表4：過去10年の報告例の症例数と妊娠率(%)

発表者・発表年	原発不妊(%)	続発不妊(%)	合計(%)
川口ら(1989) ¹⁰⁾	594(24.7)	301(29.6)	
	567(29.3)	208(30.3)	
	448(36.2)	214(40.7)	
金子ら(1989) ¹¹⁾	188(4.8)*		
都竹ら(1989) ¹²⁾	464(36.9)	179(59.2)	
大野ら(1990) ¹³⁾			415(25.3)
高橋ら(1991) ¹⁴⁾	99(69.7)	66(89.4)	
斉藤ら(1994) ¹⁾			597(28.3)
森ら(1995) ¹⁵⁾			91(38.5)**
村上ら(1998) ¹⁶⁾	142(32.4)	93(47.3)	22(31.8)**

*男性不妊症例

**AIH(IUI)による妊娠例

子であった。これは開腹や腹腔鏡検査、あるいは腫瘍マーカーのCA125高値やその他の臨床的な所見から診断された子宮内膜症、過去の骨盤臓器の手術によると思われる腹膜の癒着などである。従って腹膜因子と卵管因子は一部交錯している。

男性因子は原発・続発を合わせた集計だったため6%弱と比較的に少ない印象があるが、原発不妊でMakler Counter⁶⁾とSperm Quality Analyzer⁷⁾で精液検査を行った一部の男性では30%近くに精子・精液異常の存在が認められた。表3はSperm Quality Analyzerで7人の男性精液を9回検査した結果であるが、3回の検査でSMI(sperm motility index)単位80以下のpoorという結果が得られた。その3回の検査の内2回までは精子の濃度と運動率はWHOの基準以内の正常であった点は注目に値する。しかし表3を仔細にみると精子濃度と運動率が正常にもかかわらずSMIが低値の2例はいずれもSMI 71, 61と正常SMI下限の80からやや低い程度で、しかも同一人を違う時期に計測した時のSMIは正常なので、このことが直ちに精子の授精能力障害と結びつくかどうかは更なる検討が必要である。

5. IUI法の成績

IUI治療を施行した22例の患者の適応症は、男性因子5例、頸管因子3例、機能性不妊4例、そのほか不妊期間の長い原発不妊10例である。総計67回のIUIを22人の患者に平均3回行い、7人に各1回の妊娠が成立した。IUI一回当たりの妊娠率は10.4%、患者当たりの妊娠率は31.8%であった。妊娠が成立した周期にIUI以外に併用した治療は、Clomiphene-

hMG-hCGが3例、[GnRH-agonist]-hMG-hCGが2例、Cyclofenil-Bromocriptine-hMGが1例(双胎妊娠)、IUIのみが1例であった。なおIUI後のhCGやRetroprogesteroneによる黄体刺激・補充は全例に施行した。

考 察

不妊症は増加しているかという素朴な命題がある。我が国では、一般的に言って、女性の結婚年齢は上昇傾向にある。結婚してもしばらく避妊をして直ぐには子供を作らず2~3年延ばし、その結果STD(sexually transmitted disease)や子宮内膜症に罹患したり、避妊の失敗から人工妊娠中絶を行うこと等により不妊の頻度が上昇することが予想される。そのほかに女性の年齢だけをとっても30歳から35歳の間に正常の婦人でも妊孕性は低下するので、結婚年齢や挙児希望年齢が上昇すれば妊娠率が低下し不妊患者も増加するのは自明の理である。従って今回の不妊(挙児希望)患者の平均年齢が30歳であったというのは象徴的である。この意味では先進国で不妊は増加しているといえるであろう。一方世界全体をみると、赤道に近い開発途上国や中国、インドなどを中心として人口は爆発的に増加していることも事実である。不妊は種族保存の本能が阻害された状態であるが、人口全体に対しては、不妊の治療により増加する人口の割合はわずかで、統計的誤差の範囲内と思われる。また不妊の治療は、そのままひっくり返せば避妊法や不妊術になるので、世界的な過剰人口の抑制にいずれは貢献出来よう。従って挙児希望者が存在する限り不妊診療は産婦人科医療の重要な

一角を占める続けるのは確かである。

表4は過去10年(1989~1998年)^{1, 10-16)}の間に報告された不妊治療成績の、不妊学会雑誌を中心とする8論文からの引用である。妊娠率は原発・続発不妊を含めて4.8%から89.4%の間にある。しかしながらこの中で、高橋ら¹⁴⁾の報告だけは原発不妊が69.7%、続発不妊が89.4%と異常に妊娠率が高い。今回の我々の報告を含む他の7つの施設で妊娠率が50%を越えたところは都竹産婦人科医院¹²⁾の続発不妊の59.2%のみである。そこで高橋らの施設と極端に妊娠率の低い男子不妊の金子ら¹¹⁾の施設と我々の今回の成績を除いた5つの施設の妊娠率は24.7%から59.2%の間にあり平均32%であった。我々の施設の妊娠率は原発不妊32.4%、続発不妊47.3%、IUI 31.8%でこの平均に比べて悪くはない。高橋¹⁴⁾や都竹¹²⁾らの報告の妊娠率が高いのは前者では不妊患者の母数が少ないこと、後者では第一線の開業医であるため初めて不妊治療を受ける患者が多いためと思われ、一概に他の大学など重症で不妊期間が長い症例が集まりやすい施設の妊娠率と同列には論じられないと思われる。例えば、埼玉医科大学総合医療センターの齊藤ら¹⁾の報告では不妊患者597人中妊娠169例(妊娠率は28.3%)でそのうちIVFによる妊娠は22例(13%)に過ぎないがAIH (artificial insemination with husband's semen) (IUI)による妊娠例は32例(18.9%)でIVFよりも多い。妊娠率が極端に悪いのはこの表の金子ら¹¹⁾の男性不妊症例である。これは顕微授精の技術がまだない頃の報告のためであるが、現在でも極度の精子異常はたとえ顕微授精でも妊娠率・拳児率が非常に低いことには変わりはない²⁾。

最近15年程の間の画期的な不妊治療の進歩と言えば、IVFを初めとするARTの進歩やBromocriptine¹⁷⁾、Terguride⁹⁾、GnRH-agonist剤、Danazol等の新薬であろう。川口ら¹⁰⁾は昭和50年、55年、60年の5年ごとの不妊診療集計で妊娠率が24.7、29.3、36.3%と上昇したことを報告し、その主な原因はhMGとBromocriptineの登場によると言っている。

最後に、IUI(AIH)¹⁸⁾については、男性因子でSwim up処理等を行い運動精子を 1.0×10^6 匹以上子宮腔に注入出来た場合から妊娠例がある¹⁵⁾と言われているので積極的に試みるべきであろう。機能性不妊や軽い男性因子によるsubfertility等でも過排卵刺激にIUIを併用することで妊娠率の改善が報告されており¹⁹⁻²²⁾、術後の子宮内感染に気をつければさらに高度のARTに移る前に5回まで位は行われてもよい。ちなみに当院ではIUIの回数の平均は3回である。森¹⁵⁾らは

当院とほぼ同じ様な不妊患者91例に552回(一例平均6回)のAIHを行い一周期当たり6.3%、一症例当たり38.5%の妊娠率を報告している。この辺がIUI(AIH)治療による妊娠率の上限に近いと思われる。

Ho, P-C²²⁾らはprospective randomized controlled trialでIUIの有効性を検討している。軽い男性因子のみによる42例のsubfertilityで、3サイクルの過排卵刺激とIUIで比較的良好な14.3%の妊娠を経験し、過排卵刺激もIUIも行わなかった自然性交のみの同じ42例の対照期間では妊娠が零であったという。当院のIUI一回当たりの妊娠率は10.4%でHo, P-Cらの報告よりも若干悪い。この違いは母数となる不妊患者の不妊の程度が違うことすなわち当院のIUI例では軽い男性因子のみでなく重症や女性因子も含まれることなどが関係している。さらに当院のIUIは例数が少ないこと、prospective randomized controlled trialでないこと等からIUIを行った時がそうでない時より妊娠率が統計的に有意に高いかどうかの検討は行えなかった。しかし、精子・精液がWHOの基準を満たしていても、当院のroutine検査であるSperm Quality Analyzer⁷⁾による分析ではSMI (Sperm Motility Index) がpoorな症例が2~3みられた。このような男性因子によると思われるsubfertilityには積極的にIUIを行う一方で、患者平均3回までの現在のIUIをさらに2~3回追加して妊娠率の向上をはかることを考慮中である。IUIの手上的改善点としては次のようなものがある。IUIに使用する注射器、注射針、Swim up処理用の容器、溶液等を、IVFを施行するときの水準と同等のbio-hazardousでないものを使う、精液の遠沈を省略していきなり精子洗浄液でSwim upを行ったときに精子浮遊液中に含まれ易い死滅精子をフィルター等で極力除く、排卵の引き金となるhCG注射36時間後を中心に、冷蔵や凍結精子などを使って最低2回のIUIを行う、過排卵刺激時にGnRH-agonist剤を併用する、黄体刺激・補充を効果的に行うなどが考えられる。

その他の反省点としては、当院を受診した不妊患者の3人に1人は卵巣・内分泌因子が原因でその妊娠率も他の因子に比して良好ではあったが、結局それでも最終的に妊娠しなかった症例は、女性の生殖年齢としては高齢の30歳以上のものが大部分であった。当院来院までの間、月経不順や稀発月経がありながら無治療や漫然と漢方薬を内服していただけという患者が目立った。患者に対するだけでなく不妊を専門としない婦人科医や他科の医師にも婦人の妊孕性が30歳を境に急激に低下することへの啓

発が必要であろう。

本論文の要旨は1998年2月8日、第115回日本産科婦人科学会福岡地方部会で発表した。愛和病院院長吉武英憲先生、副院長小山佑之介先生および臨床検査 溝口真美技師の不妊症外来の設立と患者の診療上のご協力に感謝します。

文 献

- 1) 齊藤正博, 石原理, 飯野好明 他(1994) 不妊治療による妊娠例の不妊原因と治療法に関する検討. 日不妊会誌 39:266-271
- 2) 佐藤和雄(1997) 平成7年分の体外受精・胚移植等の臨床実施成績. 日産婦誌 49:697-702
- 3) 山元慎一, 堂地勉, 有馬直見 他(1987) 尿中エストロゲン(ハイエストロテックスライド)の卵胞成熟モニタリングへの応用. 産と婦 54:1576-1580
- 4) 横山幹文, 梅津隆, 勝又紀子 他(1995) 尿中LH検出キット, クリアプラン・ワンステップおよびゴールドサインLHの臨床的有用性に関する比較検討. 産婦世界 47:507-512
- 5) 吉田耕治, 畠山隆宏, 石明寛 他(1993) 新造影剤イオトロランによる子宮卵管造影の卵管膨大部所見, リビオドールUFとの比較. 日獨医報 38:129-138
- 6) Makler A(1980) The improved ten-micrometer chamber for rapid sperm count and motility evaluation. Fertil Steril 33:337-338
- 7) Bartoov B, Sneider M, Ben-Barak J, et al.(1991) Sperm motility index : a new parameter for human sperm evaluation. Fertil Steril 56:108-112
- 8) Ansari AH, Gould KG, Ansari VM(1980) Sodium bicarbonate douching for improvement of the post-coital test. Fertil Steril 33:608-612
- 9) Ciccarelli E, Touzel R, Besser M, et al.(1988) Terguride-a new dopamine agonist drug:a comparison of its neuroendocrine and side effect profile with bromocriptine. Fertil Steril 49:589-594
- 10) 川口とし子, 鈴木猛, 飛鳥井邦夫 他(1989) 当教室における不妊クリニック患者の推移. 日不妊会誌 34:96-100
- 11) 金子克美, 田畑行義, 迎圭一郎 他(1989) 男子不妊症の臨床統計的観察. 日不妊会誌 34:229-234
- 12) 都竹理(1989) 当院における不妊患者の治療成績, AIHならびにhMG療法を中心として. 日不妊会誌 34:446-453
- 13) 大野洋介, 田村秀子, 田村尚也 他(1990) 不妊症夫婦における妊娠例の統計的解析. 日不妊会誌 35:420-425
- 14) 高橋晃, 橋井康二, 浮田昌彦(1991) 不妊治療における1年妊娠率, 2年妊娠率およびそれに関与する因子の検討. 日不妊会誌 36:427-432
- 15) 森悟子, 山本弘, 後藤妙恵子 他(1995) 当科におけるAIHの治療成績. 日不妊会誌 40:479-485
- 16) 村上信子, 小山祐之介, 吉武英憲 他(1998) 愛和病院不妊外来における診療集計. 第115回日産婦福岡地方部会
- 17) Reinhaller A, Bieglemayer C, Deutinger J, et al.(1988) Transient hyperprolactinemia during cycle stimulation: influence on the endocrine response and fertilization rate of human oocytes and effects of bromocriptine treatment. Fertil Steril 49:432-436
- 18) 配偶者間人工授精(AIH), 新しい生殖医療技術のガイドライン. 日不妊学会(1996), 金原, 東京, pp13-19
- 19) Melis GB and Paoletti AM(1987) Pharmacologic induction of multiple follicular development improves the success rate of artificial insemination with husband's semen in couples with male-related or unexplained infertility. Fertil Steril 47:441-445
- 20) Evans J and Wells C(1991) A comparison of intrauterine insemination, and natural intercourse in superovulated women. Fertil Steril 56:1183-1187
- 21) Chaffkin LM and Nulsen JC(1991) A comparative analysis of the cycle fecundity rates associated with combined human menopausal gonadotropin (hMG) and intrauterine insemination (IUI) versus either hMG or IUI alone. Fertil Steril 55:252-257
- 22) Ho P-C and So W-K(1992) Intrauterine insemination after ovarian stimulation as a treatment of subfertility because of subnormal semen; a prospective randomized controlled trial. Fertil Steril 58:995-999

(受付: 1998年3月27日)

(受理: 1998年5月22日)

**Statistical Analysis of Infertile Patients at the Infertility Clinic of Aiwa Hospital
—Diagnosis and Treatment of Infertility of a Private Maternity Hospital—**

Nobuko Murakami

Department of Obstetrics and Gynecology, Aiwa Hospital,
Koga-city, Fukuoka 811-3101, Japan

Kohji Yoshida, Meikan Seki and Masamichi Kashimura

Department of Obstetrics and Gynecology,
University of Occupational and Environmental Health, School of Medicine,
Kitakyushu-city 807-8555, Japan

We had 236 female patients (175 patients were infertile over 1 year) who desired for babies from 1986 to 1997 in the infertility clinic of Aiwa Hospital in Koga-city, Fukuoka-prefecture, Japan. Eventually, total pregnancy rate was 38.1% (35.4% in over 1 year infertility) and total "take home baby rate" was 26.3%. In both rates, the rate of secondary infertile patients was higher than that of primary infertile patients.

The pregnancy rate in female patients under 25 years of age was relatively better than that of over 30 years. The pregnancy rate significantly decreased in female patients over 35 years. The highest age in female patients with successful pregnancy was 38 in our infertility clinic with the utmost treatment of intra-uterine insemination (IUI).

Ninety percent of 90 pregnant patients conceived within one year, and 41 pregnancies (46%) took place after hysterosalpingography with Lipiodol UF.

The rate of multiple pregnancy in pregnant patients with hMG use was 9%, and the rate of ovarian hyperstimulation syndrome necessitating hospitalization was around 1%. One of the greatest causes of infertility was an ovarian-endocrinological factor, and the second one was a factor of uterine tube. The ratio of male factor was relatively lower than those in the literatures.

After 67 times of IUI in 22 infertile couples, the fecundity per one IUI was 10.4% with the eventual 7 pregnant couples (31.8%).

Key Words: infertility, intra-uterine insemination, statistical analysis

(Jpn J Fertil Steril 43:259-267 1998)

当科における卵管鏡下卵管形成術 (FTカテーテルシステム)の現況と今後の問題点

Clinical Application and Assessment of Falloposcopic Tuboplasty (FT Catheter System)

熊本大学医学部産科婦人科学教室

田中 信幸

松浦 講平

西村 宏祐

Nobuyuki TANAKA

Kohei MATSUURA

Kosuke NISHIMURA

岩 政 仁

永 田 康 志

Jin IWAMASA

Yasushi NAGATA

小野田 親

岡 村 均

Chikashi ONODA

Hitoshi OKAMURA

Department of Obstetrics and Gynecology,

Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto 860-8556, Japan

当科では平成9年2月から卵管鏡(FTカテーテル)を導入しており、その現況と問題点について報告する。間質部あるいは峡部の卵管閉塞症例に対し卵管鏡下疎通術を試みたのは5例で、そのうち2例が疎通術に成功し、1例は8カ月後に自然妊娠、他の1例は経過観察中に他医にてIVF-ETを受け妊娠に至った。残り3例はバルーンの破裂や卵管穿孔のために不成功に終わっている。卵管内病変の観察を目的とした施行例は2例で、Kerinらのスコアを参考に評価を試み、HSG上不明であった卵管狭窄を新たに認めしたが、画像の解像度が低く、それ以上の評価は困難であった。このように卵管鏡を施行するに当たってはいくつかの問題点が認められるが、今後、こうした問題点を解決しつつ、卵管鏡の適応と症例の選択を適切に行えば、同法は非常に有用な検査・治療法と考えられる。

キーワード：卵管鏡，卵管形成術，卵管閉塞

(日不妊会誌 43:269-274 1998)

緒 言

卵管性不妊は不妊原因の30~40%を占め¹⁾、不妊の診断および治療上重要な問題のひとつである。従来、卵管性不妊に対しては開腹下のマイクロサージャリーや腹腔鏡下卵管形成術あるいは体外受精胚移植(IVF-ET)が行われてきたが、近年、卵管鏡下卵管形成術(FTカテーテルシステム)が導入され、治療の選択の幅が広がってきている。現在までにFTカテーテルシステムの有用性や意義を強調した報告²⁻⁵⁾はいくつかみられるが、同法の適応や問題点を整理、批判した論文は少ない。

当科では平成9年2月からFTカテーテルを導入しており、施行例数はまだ少ないが、卵管鏡の適応と選択をいかにすべきか、卵管鏡所見をその後の治療方針にどのように生かすかなど、いくつかの問題点が浮かび上がってきている。今後卵管鏡が普及していくと予想される今日、卵管鏡を施行するに当たっての問題点を整理しておくことは有意義と考えられ、今回、当科における現況と問題点について報告する。

対象および方法

対象は平成9年2月から12月までに熊本大学医学部

表1 卵管鏡施行症例のプロフィール

症例	年齢	G-P	不妊期間	主な治療歴	クラミジア抗体	卵管鏡の適応	他の不妊因子
1	30	2-0	3y5m		IgA(+) G(+)	両側卵管閉塞 (間質部)	
2	35	0-0	1y10m	腹腔鏡下癒着剥離術および チョコレート嚢胞摘除術	IgA(-) G(-)	両側卵管閉塞 (間質部)	子宮内膜症 男性因子
3	39	1-0	5y3m		IgA(-) G(-)	右側卵管閉塞 (間質部)	子宮内膜症 排卵因子
4	31	0-0	1y10m		IgA(+) G(+)	両側卵管閉塞 (間質部)	
5	32	1-0	8m	子宮外妊娠にて左側卵管 摘除術および筋腫核出術	IgA(+) G(+)	右側卵管閉塞 (峡部)	
6	37	0-0	3y2m		IgA(-) G(-)	観察目的	男性因子
7	26	0-0	1y10m		IgA(-) G(-)	観察目的	男性因子 排卵因子

産科婦人科において腹腔鏡検査予定患者のなかで、informed consentの得られた卵管間質部あるいは峡部閉塞症例5例および卵管内病変の観察を目的とした2例である。年齢は26歳から39歳、平均32.9歳で、不妊期間は8カ月から5年3カ月、平均2年7カ月である。主な既往治療歴、クラミジアトリコモナス抗体の有無および他の不妊因子の有無については表1に示す通りである。

卵管鏡の適応は、両側の卵管閉塞が3例、片側の卵管閉塞が2例(うち1例は子宮外妊娠にて対側卵管を摘除)、卵管内病変の観察を目的としたものが2例である。卵管閉塞については間質部あるいは峡部の閉塞のみを適応とし、その診断は外来で施行した子宮卵管造影(HSG)にて間質部あるいは峡部の卵管閉塞と診断され、かつ、腹腔鏡検査時にインジゴカルミン通過試験においても卵管閉塞を認めたものを確定診断とした。

卵管鏡(FTカテーテルシステム、ファロプラストTM)は米国Imagyn社製の機器を用いて行った。卵管鏡の外径は0.5mm、バルーンを含めた外径は1.25mmであり、2000画素子、視野角55度、観察深度は0.6~7.0mmである。卵管鏡下に卵管子宮口を確認し、同部にカテーテルの先端をウェッジさせ、回転バルーンに6~9気圧の圧力を加えながら押し進め閉塞部位の解除を行い、卵管内腔の観察はバルーンを引き戻しながら逆行性に行った(retrograde image)。卵管口の確認が困難な症例ではblind eversionによる挿入を試みた。卵管内腔の観察と評価はKerinらのスコア⁶⁾を参考に評価を試み、ビデオによる記録と同時に

シエーマとしても記録した。当科においては全例腹腔鏡を併用しており、あらかじめ腹腔内観察とインジゴカルミン通過試験を行い、再度卵管鏡の適応があるかどうか判断した上で行った。卵管鏡施行中は卵管内のバルーンの進行と卵管損傷の有無等について観察し、最後に再びインジゴカルミン通過試験を行い、卵管閉塞解除の成功の有無を確認した。さらに、腹腔内に癒着等の病変が存在した場合、癒着剥離術などの操作も同時に行った。

結 果

間質部あるいは峡部の卵管閉塞5例(8卵管)に対して卵管鏡下卵管形成術を試みた結果、2例(2卵管)において閉塞部の解除に成功したが、残り3例はバルーンの破裂や卵管穿孔あるいは卵管子宮口へウェッジできずに不成功に終わっている(表2)。症例1および3は、HSG診断では間質部閉塞と考えられ、その間質部閉塞は解除できたものの、多発性の閉塞症例と考えられ、その先の峡部閉塞において閉塞が強固なためにバルーンの破裂あるいは穿孔を起こし不成功に終わった。卵管子宮口へウェッジできずに中止したものが2例(3卵管)存在したが、これらの症例では卵管口に著しい変形や癒着癒痕化が認められた。

片側の卵管形成術の成功ではあったが、症例1は8カ月後に自然妊娠した。また、症例2は経過観察中に他医にてIVF-ETを受け、妊娠に至っている。その際のHSGでは卵管通過性が認められている。卵管形成術が不成功であった3症例のうち、2例はIVF-ETを施行中あるいは施行予定となっている。

表2 卵管鏡・腹腔鏡所見と処置ならびにその後の転帰

症例	卵管鏡所見と処置		腹腔鏡所見と処置	その後の治療と転帰
	左側	右側		
1	間質部閉塞解除	間質部は通過するも峽部の閉塞強くバルーン破裂	左側傍卵管嚢胞摘除	8カ月後に自然妊娠
2	間質部閉塞解除	卵管子宮口へウェッジできず	子宮内膜症(rAFS 20) 右側付属器癒着剥離	5カ月後に他医でIVF-ETにて妊娠
3	通過ありて施行せず	間質部は通過するも峽部で穿孔	子宮内膜症(rAFS 2)	lost
4	卵管子宮口へウェッジできず	卵管子宮口へウェッジできず	post PID 両側卵管phimosi	IVF-ET施行中
5	卵管摘除にて施行せず	間質部の閉塞強くバルーン破裂	post operative adhesion	IVF-ET予定
6	間質部から峽部にかけて狭窄	間質部から峽部にかけて狭窄	子宮内膜症(rAFS 2)	COH-AIH施行中
7	特に異常は認めず	峽部から膨大部にかけて狭窄	特に異常は認めず	COH-AIH施行中

表3 卵管鏡における問題点

- 卵管鏡の適応に関して
 - HSG, 通気, 通水検査による卵管閉塞の診断で十分か
 - 間質部, 峽部のほか膨大部閉塞も適応となるか
 - 両側だけでなく片側の卵管閉塞も適応となるか
 - 卵管狭窄も適応となるか
 - 卵管内病変の観察も適応となるか(保険適応, 解像度の問題)
- 腹腔鏡を併用すべきか
 - 手技の習熟度, 腹腔内病変の有無等を考慮
- 合併症
 - 穿孔, 出血, 血腫等
 - バルーンによる卵管上皮の損傷の可能性
 - 術後の子宮外妊娠の発生率
- 卵管鏡所見とその後の治療方針
- 術後の再閉塞の有無と防止策
- cost-benefit

卵管内病変の有無の観察を目的とした2症例では、HSG上とくに異常は認めなかったが、両症例(3卵管)とも卵管鏡上は狭窄が認められた。Kerinらのスコア⁶⁾を参考に卵管内腔の評価を試みたが、画像の解像度が低く、それ以上の所見は得られなかった。この2症例については卵管の通過性が認められていることから、現在のところcontrolled ovarian hyperstimulation (COH) - artificial insemination with husband's semen (AIH)を行っている。

同時に行った腹腔鏡所見と処置は表2に示す通りであるが、7例中6例に何らかの所見が認められた。

これら7例のほか、HSG上両側卵管閉塞が疑われ、卵管鏡下卵管形成術を予定していたが、腹腔鏡

下通色素検査で疎通性が確認されたため中止した症例が2例、骨盤内の癒着が高度で卵管のダメージも強いと判断され中止した症例が2例あった。

考 察

従来、卵管閉塞に対してはマイクロサージャリーや腹腔鏡下卵管形成術あるいはIVF-ETが行われてきたが、近年、FTカテーテルシステムが導入され、卵管鏡下に卵管閉塞の解除治療が行えるようになった。さらに、従来観察不可能であった直視下の卵管内腔の形態学的評価も可能となってきた。このようにFTカテーテルシステムは画期的な方法ではあるが、いくつかの問題点が指摘されている。今回、当

科で行った卵管鏡施行症例を通して、それらの問題点を整理し列挙すると、表3のような点が今後検討されべきと考えられる。

まず、第一点は卵管鏡の適応に関する問題である。卵管鏡下卵管形成術を予定している場合、卵管閉塞の診断は重要である。卵管閉塞の診断は、通常、外来で行うHSG、通気、通水検査によってなされるが、実際は卵管閉塞を認めないような症例がかなり存在することは周知の事実である⁷⁾。今回の検討期間においてもHSG上両側卵管閉塞が疑われ、卵管鏡下卵管形成術を予定していたが、腹腔鏡下通色素検査で疎通性が確認されたため中止した症例が2例あった。従って、腹腔鏡を併用してあらかじめ腹腔内観察とインジゴカルミン通過試験を行い、再度卵管鏡の適応があるかどうか判断した上で施行するようにしないと、実際は卵管閉塞がない症例を卵管鏡の適応に入れてしまい、卵管鏡下卵管形成術の成績を過大評価してしまう可能性が存在する。今回の我々の成績ではバルーンの破裂あるいは穿孔を起こし不成功に終わった症例が他の報告に比し多いが、これは単なる手技の未熟さだけでなく、卵管閉塞の診断を厳密に行った結果、卵管閉塞が強固で、決して機能性閉塞を適応に加えていない証拠とも考えられる。

今回の検討では卵管口の変形や癒着癭痕化のためにカテーテルをウェッジできなかった症例が2例(3卵管)あったが、塚田らの報告⁵⁾でもHSGでは判らないような卵管口の障害が卵管鏡で新たに発見されることが多いことを指摘している。これらのことから卵管鏡の適応を決めるに当たっては、子宮鏡によるスクリーニングも重要かもしれない。

卵管閉塞の部位に関して、今回の検討では間質部あるいは峡部の閉塞のみを適応とし、膨大部閉塞例は行わなかった。他の報告では卵管膨大部閉塞も卵管鏡下卵管形成術の適応に加えているものもある³⁾が、卵管鏡のバルーンを含めた外径はわずか1.25mmであり、果たして膨大部の閉塞解除にどれだけ貢献できるか疑問の残るところである。また、proximal tubal occlusion (PTO)に対するマイクロサージャリーの成績は比較的良好であるが、手術手技の難易度や手術侵襲などの点からは卵管鏡下卵管形成術が優れていると考えられる。PTOに対する非観血的治療としては選択的卵管造影法を併用したガイドワイヤーによる疎通術や子宮鏡下に卵管ヘカニューレーションする方法もあるが、閉塞が強固な場合にはこれらの方法は危険性を伴うし、卵管内の観察ができ

る点からしてもFTカテーテルシステムの方が有用と考えられる。

今回、片側の卵管閉塞2例(うち1例は子宮外妊娠にて対側卵管を摘除)について卵管鏡を行ったが、卵管鏡施行に伴う合併症、たとえば卵管閉塞を解除したのために子宮外妊娠の発生率が上昇しないかどうかなど、あるいは患者への経済的負担等を考慮しつつ、こうした片側の卵管閉塞症例においても卵管鏡が有用かどうか、さらに検討すべきであろう。

保険診療上、単なる卵管内病変の観察はその適応とはなっていないが、HSGではなんら異常が認められなかったにもかかわらず、卵管狭窄などの所見が2例(3卵管)に認められ、卵管鏡による新たな病変の発見が期待される。しかし、この2症例は未だ妊娠には至っておらず、狭窄の解除がどこまで治療効果をもつのか、卵管狭窄と不妊原因の関連性ととも今後検討課題と考えられる。

今回、Kerinらのスコア⁶⁾を参考に卵管内腔の評価を試みたが、画像の解像度が低く、十分な所見は得られなかった。また、FTカテーテルシステムの構造上、卵管内腔の観察はバルーンを引き戻す時にだけ観察可能であり、一度バルーンが通過した後の状態を観察することとなる。とくに、卵管閉塞や狭窄等においては、これらが解除された後の状態を観察しており、元々の状態は観察できない。これら欠点はあるものの、末岡ら⁸⁾は閉塞や癒着癭痕等の卵管内腔病変が多発性・広汎性に認める例や、膨大部内腔における卵管内ひだ構造がびまん性に硬化像を呈する重症かつ陳旧性病変例では妊娠率が少なく、こうした卵管内腔所見を示す症例ではIVF-ETが適していることを示唆しており、卵管内病変の観察も十分卵管鏡施行の適応となると考えられる。今後、さらに卵管鏡の解像度が向上すれば、こうした内腔観察が明瞭かつ容易になると考えられ、卵管鏡の意義は増すであろう。

今回、我々は全例において腹腔鏡を併用して卵管鏡を施行したが、一部では腹腔鏡を併用せずに外来ベースで卵管鏡検査治療を行っている施設もみられる。確かに卵管鏡の手技に習熟すれば腹腔鏡の併用は不要であろうが、卵管閉塞例では卵管周囲癒着を伴っている頻度が高く、その評価と処置を考えた場合、あくまでも腹腔鏡併用下に卵管鏡を行うのが原則と思われる。また、骨盤内の癒着が高度で卵管のダメージも強く卵管鏡の適応とならないような症例が存在することからも、腹腔鏡による卵管の外観および腹腔内所見を観察しておくことは有意義かつ安

全と考えられる。

合併症としては穿孔、出血、血腫などの報告があるが、いずれも問題になるような程度のものではない。我々の症例でも穿孔を1例(1卵管)に認めたが、とくに処置を要することはなかった。

現在のところ我々は、卵管形成術成功後のHSGはルーチンには行っていないが、術後の再閉塞率は約5~10%と報告⁹⁾されている。FTカテーテルによる卵管閉塞解除は物理的拡張であり、閉塞の解除に成功しても、同部の卵管上皮は欠損あるいは損傷を受けていると考えられ、再び閉塞する可能性がある。これを防ぐために卵管上皮の再生を促すようなホルモン療法あるいは通気・通水といった操作を継続的に行って行くべきかどうかなどについては、現在のところ全く議論されていない。今後、検討すべき課題と考えられる。

卵管鏡所見を将来の治療方針にいかに関与していくべきかについてもまだ十分な検討はなされていない。術後何カ月まで保存的に様子をみるべきか、あるいはマイクロサージャリーやIVF-ETのいずれを選択すべきかなど検討課題は多い。先に述べた末岡らの報告⁸⁾のように、マイクロサージャリーやIVF-ETの適応について卵管内腔の病態からみた再考察が必要であろう。塚田ら⁵⁾は卵管鏡術後の妊娠症例5例中2例(40%)に子宮外妊娠を認めており、今後子宮外妊娠率の発生率についても検討していく必要がある。

平成10年4月の保険点数改正により、卵管鏡下卵管形成術の点数はアップしたが、依然FTカテーテルは高額であり、実際の臨床場においてはcost-benefitの点も無視できない問題のひとつであろう。

以上述べた問題点を解決しつつ、卵管鏡の適応と症例の選択を適切に行えば、同法は非常に有効な治療方法と考えられる。

文 献

- 1) Speroff L, Glass RH, Kase NH(1994) Female infertility. In: Speroff L, Glass RH, Kase NH(eds), 5th ed, Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Williams & Wilkins, Baltimore, pp809-840
- 2) Pearlstone AC, Surrey ES, Kerin JF(1992) The linear everting catheter: a nonhysteroscopic, transvaginal technique for access and microendoscopy of the fallopian tube. *Fertil Steril* 58: 854-857
- 3) 末岡 浩, 小林俊文, 野澤志朗 他(1994) 卵管鏡下卵管形成(FT)システムの臨床評価。基礎と臨床 28:3001-3013
- 4) 末岡 浩, 浅田弘法, 橋場剛士 他(1995) 受精および初期胚環境としての卵管内病態の検討—卵管鏡下卵管形成システムを用いて。日本受精着床学会雑誌 12:85-88
- 5) 塚田和彦, 澤田富夫, 大原 聡 他(1996) 両側卵管閉塞に対する卵管鏡下卵管形成用カテーテル(FTカテーテルシステム)による治療効果の検討。日産婦誌 48:243-246
- 6) Kerin JF, Pearlstone AC, Williams DB, et al.(1992) Falloposcopic classification and treatment of fallopian tube lumen disease. *Fertil Steril* 57:731-741
- 7) 河上征治, 澤田富夫(1993) 卵管手術における卵管鏡の意義。産婦人科マイクロサージャリー会誌 6:24-36
- 8) 末岡 浩, 小林紀子, 黒島正子 他(1997) 卵管内腔の病態からみた体外受精適応の再考察。日本受精着床学会雑誌 14:117-120
- 9) 末岡 浩, 土屋慎一, 小林紀子 他(1998) 卵管鏡下卵管形成(FT)の治療技術とその成績。産婦世界 50:11-18

(受付:1998年4月15日)

(受理:1998年6月25日)

Clinical Application and Assessment of Falloposcopic Tuboplasty (FT Catheter System)

Nobuyuki Tanaka, Kohei Matsuura, Kosuke Nishimura, Jin Iwamasa,
Yasushi Nagata, Chikashi Onoda and Hitoshi Okamura

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto 860-8556, Japan

Falloscopy (FT catheter system) has been applied to the patients with tubal disease in our department since February 1997. In this study, we reported several cases and discussed about clinical application and assessment of falloscopy. Falloposcopic tuboplasty was performed for the treatment of interstitial or isthmic tubal occlusion in 5 patients. Two of them conceived in natural or IVF-ET cycle after the successful treatment.

Among others, the treatment was failed because of rupture of the balloon or tubal perforation. In addition, falloscopy was performed in two other patients to observe the fallopian tube lumen disease, referring the score of Kerin et al. Although abnormal findings were not detected by HSG, tubal stenosis was found. Further morphological changes could not be observed because of the low resolving power of the falloposcope. Based on these cases, we found some pitfalls in the falloposcopic procedures, but the falloposcopy was thought to be a useful method when its indication and selection of patients were strictly considered.

Key words: falloposcope, tuboplasty, tubal occlusion

(Jpn J Fertil Steril 43:269-274 1998)

酢酸ナファレリンを用いての IVF-ET のための過排卵刺激法の試み

An Approach to Control Ovarian Hyperstimulation for *In Vitro* Fertilization with Nafarelin Acetate

山形大学医学部産科婦人科学教室

伊藤 真理子

高橋 俊文

太田 信彦

Mariko ITO

Toshifumi TAKAHASHI

Nobuhiko OOTA

斉藤 隆和

中原 健次

Takakazu SAITO

Kenji NAKAHARA

斉藤 英和

廣井 正彦

Hidekazu SAITO

Masahiko HIROI

Department of Obstetrics and Gynecology,

Yamagata University School of Medicine, Yamagata 990-2331, Japan

現在IVF-ETの排卵誘発におけるlong protocol法では、GnRHagonist(GnRH α)併用は欠かせないものとなっている。今回GnRH α に酢酸ナファレリンを用い、ホルモン動態への影響(血中LH, FSH, estradiol, progesterone, PRL)および体外受精の結果(採卵数, 成熟卵数, 受精卵数, 胚移植数, 良胚移植数)について、これまで一般的に使用されてきた酢酸ブセレリンと比較検討し、有用性を評価した。その結果hCG投与日の血清LH値が酢酸ナファレリン群において有意に低いことが示された。また酢酸ナファレリン200 μ g群と400 μ g群の比較では2群間に有意な差は認められず、1日1回の投与で十分効果が得られた。今回の比較試験において、IVF-ETのlong protocol法過排卵刺激の際の酢酸ナファレリンの有用性が示唆された。

キーワード: IVF-ET, 酢酸ナファレリン, 酢酸ブセレリン, ホルモン値, long-protocol

(日不妊会誌 43:275-279 1998)

緒 言

体外受精・胚移植(*In vitro* fertilization and embryo transfer:IVF-ET)においては適当数の均一な成熟卵を得る事が確実に妊娠率の向上につながる¹⁾。

当初自然周期で行われていたものの、その後hMG(human Menopausal Gonadotropin)-hCG(human Chorionic Gonadotropin)等の排卵誘発剤を用いるようになっており、今日ではその際に出現しやすい内因性premature LH(Luteinizing Hormone)surgeを抑えるためにGnRH(Gonadotropin Releasing Hormone)agonist(GnRH α)の併用が一般的になっている²⁾。この卵巣刺激法によって、良好な妊娠率、着床率が得

られるようになっている。

今回、酢酸ナファレリン(ナサニール[®], 山之内製薬)を用いて体外受精の過排卵刺激を行い、ホルモン動態への影響、および体外受精の結果を検討し、さらに一般的によく用いられている酢酸ブセレリン(スプレキュア[®], ヘキストマリオンセル社)と比較し、体外受精に対しての有用性について評価した。

対象および方法

対象は山形大学医学部附属病院で1995年10月から1996年10月まで体外受精を施行した患者72人、72周期である。卵巣刺激は全症例long protocol法を用い、月経前周期黄体中期よりGnRH α の鼻腔噴霧を開始し

た。GnRHaは酢酸ナファレリン200 μ gを1日1回片鼻に噴霧した群(200 μ g/日群)24例, 酢酸ナファレリン200 μ gを1日2回片鼻に噴霧した群(400 μ g/日群)24例であり, 酢酸ブセレリン150 μ gを1日2回両鼻に, 600 μ g/日噴霧した群(対象群)24例を対象群とした。なお, 当科では, 以前に600 μ gおよび900 μ g使用で有意差のないとの結果を得ている。

月経第3日目からpure FSH(Follicle Stimulating Hormone, フェルチノーム® Serono社)150-300単位の筋注連日投与を行った。月経第7日目より経腔超音波にて卵胞のモニタリングを連日行い, 主席卵胞径が15.5mmを越えた時点でGnRHaとhMGの投与を中止し, hCG10,000単位の筋注を行った。hCG投与約36時間後に経腔超音波ガイド下に採卵を行い, 3-4時間の前培養を行った後swim-up法で調整した精子, 最終運動精子濃度10 \times 10⁴/mlにて媒精した。また精液所見の悪い症例はPercoll法を使用した。培養液はプラズマネートカッター10%添加のHTF(Human tubal fluid, 当科作成)を用いた。

媒精約20時間後に卵丘細胞を除去し実体顕微鏡下に2前核の存在する胚を正常受精と判定し, さらに24時間培養後, シリコンカテーテルを用いて子宮内に移植した。

黄体補充としては胚移植翌日より黄体卵胞混合ホルモン(プラノバル®)を12日間内服し, さらに胚移植日, 採卵7日目にはhCG5000単位を筋肉注射した。採卵14日目以降に尿中hCGを測定し妊娠判定を行った。なお, 妊娠症例はGS(+)症例とした。

また, 月経開始3日目, 8日目, 採卵決定日, 採卵日, 胚移植日, 黄体中期に採血し, 血清中のLH, FSH, Estradiol(E₂), Progesterone(P), Prolactin(PRL)を測定した。FSH, LH, E₂, PRLはPharmacia社の時間分解蛍光免疫測定法(TR-FIA法)キットを用いた。

Pは日本DPC社のチューブ固相法(COAT-ACOUNT)キットを用いた。

さらに, 年齢および不妊因子, 採卵決定時の内膜の

表1 患者背景 (Mean \pm SD)

	対象	200 μ g/日	400 μ g/日
	N=24	N=24	N=24
年齢	33.7 \pm 4.5	34.2 \pm 3.7	34.3 \pm 4.2
不妊原因			
卵管因子	9	8	8
男性因子	5	8	13
内膜症因子	2	4	1
原因不明	9	4	2

表2 各時期における各種ホルモンの変動

(Mean \pm SD)				
E ₂ 値	対象	200 μ g/日	400 μ g/日	
(pg/ml)	N=24	N=24	N=24	
周期3日目	58.5 \pm 82.2	39.1 \pm 41.6	44.7 \pm 64.0	
周期8日目	826.5 \pm 597.9	343.5 \pm 346.3**	490.6 \pm 591.9	
hCG投与日	1743.9 \pm 1207.8	942.2 \pm 1051.1*	1217.7 \pm 1344.1	
採卵日	1150.7 \pm 784.0	655.4 \pm 797.5	827.8 \pm 951.3	
胚移植日	1200.9 \pm 949.7	1054.1 \pm 2077.8	944.9 \pm 988.9	
黄体中期	1467.9 \pm 1185.7	934.1 \pm 771.9	1416.1 \pm 1218.6	
FSH値				
(mIU/ml)	対象	200 μ g/日	400 μ g/日	
	N=24	N=24	N=24	
周期3日目	7.8 \pm 5.0	5.5 \pm 3.4	6.5 \pm 5.5	
周期8日目	14.4 \pm 3.1	14.1 \pm 3.9**	13.5 \pm 3.4	
hCG投与日	13.6 \pm 3.3	13.1 \pm 4.2*	13.2 \pm 5.3	
採卵日	7.6 \pm 2.1	7.9 \pm 2.5	7.4 \pm 2.2	
胚移植日	3.8 \pm 1.1	4.7 \pm 3.6	4.2 \pm 1.2	
黄体中期	1.0 \pm 0.1	2.4 \pm 5.3	1.4 \pm 0.9	
LH値				
(mIU/ml)	対象	200 μ g/日	400 μ g/日	
	N=24	N=24	N=24	
周期3日目	9.2 \pm 9.9	3.3 \pm 2.8	6.6 \pm 10.8	
周期8日目	6.1 \pm 4.8	3.0 \pm 3.3	2.5 \pm 2.6	
hCG投与日	6.6 \pm 0.4	2.4 \pm 1.3**	2.2 \pm 2.6**	
採卵日	1.1 \pm 0.4	1.2 \pm 0.8	1.3 \pm 2.1	
胚移植日	0.7 \pm 0.2	1.1 \pm 2.0	0.7 \pm 0.2	
黄体中期	0.6 \pm 0.01	0.7 \pm 0.5	0.6 \pm 0.1	
P値				
(ng/ml)	対象	200 μ g/日	400 μ g/日	
	N=24	N=24	N=24	
周期3日目	0.6 \pm 0.6	0.4 \pm 0.2	0.5 \pm 0.5	
周期8日目	0.7 \pm 0.3	0.7 \pm 0.7	0.5 \pm 0.3*	
hCG投与日	1.1 \pm 0.6	0.9 \pm 1.4	1.1 \pm 1.2	
採卵日	4.7 \pm 3.2	4.6 \pm 5.9	4.6 \pm 4.2	
胚移植日	48.4 \pm 43.0	50.0 \pm 46.1	53.9 \pm 52.0	
黄体中期	144.3 \pm 130.4	117.2 \pm 107.6	167.9 \pm 113.3	
PRL値				
(ng/ml)	対象	200 μ g/日	400 μ g/日	
	N=24	N=24	N=24	
周期3日目	8.3 \pm 3.5	9.0 \pm 4.0	8.4 \pm 4.4	
周期8日目	9.7 \pm 4.3	10.7 \pm 6.0	11.7 \pm 6.2	
hCG投与日	15.5 \pm 8.7	16.2 \pm 10.8	18.9 \pm 10.6	
採卵日	22.4 \pm 13.6	23.4 \pm 13.5	24.7 \pm 12.0	
胚移植日	16.5 \pm 7.3	18.5 \pm 9.3	16.2 \pm 7.8	
黄体中期	18.3 \pm 10.3	18.9 \pm 8.9	21.9 \pm 19.4	

*:P<0.05

** :P<0.01

厚さ, 径15mm以上の卵胞数, 手術日(月経開始より採卵にまで要した日数), 総採卵数, 成熟卵数, 総受精卵数, 総胚移植数, 良胚移植数についても検討した。良胚とはfragmentationが10%以下のものである。

なおすべての値はMean+SDで表し, 統計学的有意差検定にはt検定を用いた。

表3 結 果

	(Mean±SD)		
	対 象 N=24	200 μ g/日 N=24	400 μ g/日 N=24
各群におけるhMG投与量(IU)	1956 ± 702	2212 ± 601	2122 ± 662
投与期間(日)	7.0 ± 1.3	8.5 ± 1.9	8.5 ± 1.8
内膜(mm)	10.5 ± 2.3	10.2 ± 2.8	10.8 ± 2.4
手術日	12.0 ± 1.3	13.5 ± 1.9**	13.5 ± 1.8**
15mm卵胞数	2.9 ± 1.5	3.2 ± 3.3	4.0 ± 4.3
総採卵数	6.8 ± 3.8	3.8 ± 3.2**	5.9 ± 3.5
成熟卵数	4.7 ± 2.3	3.8 ± 2.8	4.1 ± 2.7
総受精卵数	3.0 ± 1.9	2.6 ± 2.9	2.3 ± 2.1
総胚移植数	2.5 ± 1.4	1.9 ± 0.9	2.6 ± 1.3
良胚移植数	0.5 ± 0.8	0.9 ± 0.9	0.7 ± 0.7
妊娠反応(+)	5	3	2
on going 例	3	2	2

*:P<0.05

**:P<0.01

結 果

各群の背景は表1の通りである。とくに各群間に差は認めなかった。内膜症の症例も軽症のものばかりですべて手術治療は受けていない。

血清E₂値は対象群と比較し200 μ g/日群の周期8日目(p<0.01), hCG投与日(p<0.05)に有意に低値を示した。血清FSH値は対象群と比較し200 μ g/日群の黄体中期に有意に高値(p<0.05)を示した。血清LH値は対象群と比較し200 μ g/日群の周期3日目, 200 μ g/日群と400 μ g/日群の周期8日目, hCG投与日に有意に低値(200 μ g/日群の周期8日目のp<0.05以外p<0.01)を示した。血清P値は対象群と比較し400 μ g/日群の周期8日目に有意に低値(p<0.05)を示した。

また、血清PRL値は対象群と比較し各群(200 μ g/日群, 400 μ g/日群)ともどの時期においても有意な差は認められなかった(表2)。

また、対象群と比較し酢酸ナファレリン(200 μ g/日群)は総採卵数において有意に少ない(p<0.01)ものの、成熟卵数では差を認めなかった。手術日までの期間では対象群と比較し200 μ g/日群, 400 μ g/日群の両群に有意に期間の延長が見られた(p<0.01)。また採卵決定時の内膜の厚さ、径15mm以上の卵胞数、総受精卵数、総胚移植数、良胚移植数において対象群と比較し有意な差は認めなかった(表3)。

また、200 μ g/日群と400 μ g/日群の両群間を比較したが、この両群間において各種ホルモン値、および採卵決定時の内膜の厚さ、15mm卵胞数、手術

日、総採卵数、成熟卵数、総受精卵数、総胚移植数、良胚移植数で有意な差は認められなかった。

考 察

GnRHaの酢酸ナファレリンは酢酸ブセレリンと同様、GnRH類似のアミノ酸配列を有するGnRHaである。また血清蛋白質との結合率(約80%)が高いため、血中半減期が長く³⁾、子宮内膜症の治療では酢酸ブセレリンの1日3回両鼻への噴霧(計900 μ g/日)に対し、1日2回片鼻への噴霧(400 μ g/日)で有用性が認められている⁴⁾。これらGnRHaは下垂体のGnRHレセプターのdown regulationによる内因性ゴナドトロピンの分泌低下によりホルモン状態のコントロールを良好に行える。またIVF-ETの過排卵刺激の際にGnRHaがPrematureLHsurgeを抑制することが報告されてからGnRHaの併用は欠かせないものとなっている。

今回hCG投与日の血清LH値が酢酸ナファレリン投与群(200 μ g/日群, 400 μ g/日群)において有意に低い値を示したことは、prematureLHsurgeを抑制するというGnRHa使用本来の目的にかなっており、酢酸ナファレリンの有用性を示唆している。

また今回酢酸ナファレリン投与群(200 μ g/日群, 400 μ g/日群)においてhCG投与日のE₂上昇が低く抑えられたが、これは発育卵胞数が少ないことと関連していると考えられる。この卵胞数の減少は酢酸ナファレリンが酢酸ブセレリンに比較しゴナドトロピンを抑制する傾向が強いためと考えられる。

多胎率、着床率の低下および流産率の上昇と関連が深いと言われている卵胞期のPの上昇^{5,6)}等に関しては今回有意な差は認めなかった。

また、酢酸ナファレリン200 μ g/日群と400 μ g/日群のホルモンデータの推移を比較してみると2群間に有意な差は見られず、1日1回投与でも十分な効果が得られており、IVF-ET症例において酢酸ナファレリン1日1回投与によりコンプライアンスの向上が期待出来、long法における確実な内因性GnRHの抑制に寄与することが示唆された。

short法とlong法を比較した報告ではP値はshort法が高く、この卵胞期のPの高値が胚のfragmentationを引き起こし受精卵の質を低下させると報告している⁷⁾。しかし今回の検討は同じくlong法での比較であり製剤間にP値に関して有意な差は認めなかった。

子宮内膜の厚さに関して、採卵時の子宮内膜の厚さと妊娠率には高い正の相関があると報告されているが^{8,9)}、今回の検討では内膜の厚さは各群間の比較で有意な差を認めなかった。

Goldman, Gillianらは、今回と同様の酢酸ブセレリンと酢酸ナファレリンの比較を行い、hMG総使用量が酢酸ナファレリンの方が少なくてすむと報告している^{10,11)}。しかし血中ホルモン値およびホルモン剤の効果は人種差が大きく、日本人における同様の報告としては、Short法で酢酸ナファレリンを用い十分にLHを抑え、有用であるとの報告があるが¹²⁾、long法において酢酸ブセレリンとの比較を試みたのはこの報告が初めてである。

今回の比較試験により酢酸ブセレリン同様に酢酸ナファレリンを用いた、IVF-ETの過排卵刺激は排卵誘発に有用であることが認められた。

さらに、酢酸リュープロレリン(リュープリン[®])も今回報告した酢酸ナファレリンと同様GnRHaであり、LH分泌を強く抑制し子宮筋腫や子宮内膜症などエストロゲン依存性疾患の治療に用いられている。採卵数、受精率胚移植率妊娠率には両方で差は認めないとの報告もある¹³⁾。しかし現在日本で認可されているdepot剤においては、血中からの消失時期は個人差が大きく、IVF-ETの際には利用しにくいと言われている¹⁴⁾。

以上、体外受精のlong protocol過排卵刺激の際に用いられるGnRHaとして酢酸ナファレリンは、これまで一般的に用いられている酢酸ブセレリン同様の有用性が示唆された。

文 献

- 1) 福元清吾(1994) 体外受精胚移植における排卵誘発法における検討。日不妊会誌 39:103-109
- 2) Porter RN, Smith W, Craft IL, et al.(1984) Induction of ovulation for in vitro fertilization using buserelin and gonadotropins. Lancet 2:1284-1285
- 3) 小林拓郎, 水口弘司 他(1992) 酢酸ナファレリン点鼻液の臨床第1相試験。臨床医薬 8:1835-1851
- 4) 小林拓郎, 水口弘司 他(1992) 子宮内膜症に対する酢酸ナファレリン点鼻液の臨床評価。臨床医薬 8:2193-2214
- 5) 星合明, 正田薫, 渡部秀哉 他(1993) GnRH agonist/hMG併用による過排卵刺激周期にみられる血中Progesteroneの軽度上昇の意義と発生機序について。日本受精着床学会雑誌 10:172-175
- 6) 星合明(1993) 体外受精・胚移植における過排卵刺激時のホルモン環境と着床率との関係。日不妊会誌 38:38-44
- 7) 吉田壮一, 高尾成久 他(1993) 卵巣刺激周期における卵胞期血中progesterone値とembryo qualityとの関連性。日本受精着床学会雑誌 10:176-178
- 8) Gonen Y, Casper RF, Jacobson W, et al.(1989) Endometrial thickness and growth during ovarian stimulation: a possible predictor of implantation in vitro fertilization. Fertil Steril 52:446-450
- 9) Glissant A, de-Mouzon J and Frydman R(1985) Ultrasound study of the endometrium in vitro fertilization cycle. Fertil Steril 44:786-790
- 10) Goldman JA, Dicker D, Feldberg D, et al.(1994) A prospective randomized comparison of two gonadotropin-releasing hormone agonist, nafarelin acetate and buserelin acetate, in in vitro fertilization-embryo transfer. Hum Reprod 9:226-228
- 11) Lockwood GM, Pinkerton SM, Barlow DH(1995) A prospective randomized single-blind comparative trial of nafarelin acetate with buserelin in long-protocol gonadotropin-releasing hormone analogue controlled in-vitro fertilization cycles. Hum Reprod 10:293-298
- 12) 工藤隆之 他(1997) 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。日不妊会誌 42:119-127
- 13) Dantis ZN, Asch RH, et al.(1994) Comparison between nafarelin and leuproride acetate for in vitro fertilization: preliminary clinical study. Fertil Steril 64:705-708
- 14) 詠田由美, 本庄考 他(1996) 2種類のGnRHagonist製剤, leuprorelin acetate depotとbuserelin acetateを併用したIVF-ETのための卵巣刺激法の試み。日不妊会誌 41:59-64

(受付: 1998年4月30日)

(受理: 1998年6月29日)

**An Approach to Control Ovarian Hyperstimulation for
In Vitro Fertilization with Nafarelin Acetate**

Mariko Ito, Toshifumi Takahashi, Nobuhiko Oota, Takakazu Saito,
Kenji Nakahara, Hidekazu Saito and Masahiko Hiroi

Department of Obstetrics and Gynecology,
Yamagata University School of Medicine, Yamagata 990-2331, Japan

At present, concomitant use of a GnRH agonist is essential for the induction of ovulation in IVF-ET under the long treatment protocol. In order to evaluate the efficacy of nafarelin acetate, it was compared to buserelin acetate, which conventionally used for IVF treatment, with respect to the effect on hormonal levels (LH, FSH, estradiol, progesterone, PRL) and outcome of IVF-ET (numbers of ova retrieved, mature follicles, fertilized ova, embryos transferred, and good embryos transferred). As a result, it was found that the serum LH level was significantly lower in the nafarelin acetate group than in the buserelin acetate group on the day of hCG administration. Furthermore, nafarelin acetate showed no significant difference between 200 mg and 400 mg and a sufficient response was obtained with a single daily dose regimen. The results of this study suggest the usefulness of nafarelin acetate in follicle stimulation under the long treatment protocol for IVF-ET.

Key words: IVF-ET, nafarelin acetate, buserelin acetate, long-protocol, hormon levels

(Jpn J Fertil Steril 43:275-279 1998)

地方部会講演抄録

第117回日本不妊学会関東地方部会

日時：平成10年2月28日(土)
午後1時30分～6時00分

場所：東京農業大学グリーン・アカデミーホール
(東京都)

1. GnRHaとメラトニン—低エストロゲン状態と松果体ホルモン分泌動態について—

○保坂 猛, 房間茂由, 平井邦彦
谷内麻子, 植村 綾, 石塚文平
雨宮 章 (聖マリアンナ医大産婦)

松果体ホルモンであるメラトニンが生殖機能に対し抑制的に働くことは種々報告されている。当教室ではメラトニンと思春期の発来、性機能の維持との関係について、ラットの松果体器官培養系を用いて検討を進めてきた。前回まで思春期雌ラットの松果体器官培養では卵巣摘出によりメラトニン分泌は亢進し、エストロゲン投与により、その亢進した分泌は抑制され、もとの分泌動態に復することを報告してきた。今回は卵巣摘出、GnRHa投与、及び卵巣摘出+GnRHa投与の異なる低エストロゲン状態が、メラトニン分泌動態に与える影響を検討した。

実験方法はWistar-Imamichi系雌ラットを用い、各群65日齢で実験に供した。I群はintact群、II群は実験日の4週間前に卵巣摘出した群、III群は4週間前にGnRHa投与した群、IV群は6週間前に卵巣摘出し、1週間前にGnRHa投与した群で、各群とも松果体を無麻酔下で摘出し、37℃、5%CO₂、in airの条件下にBGJb培養液を用い、2時間ごとに培養液を回収、交換し、12時間目まで培養し、培養液中のメラトニン放出量をRIAにて測定した。

結果はII群では、I群に比し有意にメラトニン分泌は亢進したが、III群では逆にメラトニン分泌は抑制された。さらにIV群ではII群、III群の中間的な分泌動態を示した。

同じ低エストロゲン状態で、卵巣摘出群とGnRHa投与群でのメラトニン分泌の違いは松果体からのメラトニン分泌が性ステロイドのみでなく、GnRH-ゴナドトロピン系によっても直接影響されることが示唆された。

2. 不妊を主訴とした若年性子宮体癌—対照的な経過をとった2例—

○大野 勉, 宮崎千恵子, 河内谷敏
三宅崇雄, 佐藤芳昭

(相模原協同病院産)

不妊治療中に子宮体癌を発見し、対照的な経過をたどった2例について報告した。

症例1は、32歳で挙児希望にて来院。非常に重症の精子減少症だったため夫の治療をおこなった。精液所見が改善後、人工授精等をおこなったが、子宮内膜肥厚が続くため、子宮鏡下で内膜生検し腺癌であった。内膜全面搔爬では異型子宮内膜増殖症であった。その後ヒスロンHを半年間投与し、不妊治療を再開した。この後2回妊娠・出産した。

症例2は、34歳で前医で不妊治療を行い、スプレキア投与1カ月後大出血のため来院した。小さい子宮筋腫と内膜肥厚あり、内膜細胞診でクラスⅢであった。内膜全面搔爬では腺癌であった。夫婦の同意を得て子宮全摘術を施行し、腺癌、グレードⅠ、筋層内浸潤1/2以下であった。ヒスロンHを投与し、その後再発はしていない。

以上、不妊外来における子宮体癌診断の重要性を考えさせるとともに、保存療法の可能性を示唆する症例を経験した。

3. 不妊外来にて発見された子宮内膜異型増殖症の2症例

○白田三郎, 杉山力一, 伊東宏絵
岩城妙子, 鈴木良知, 井坂恵一
高山雅臣 (東京医科大学病院産婦)

子宮内膜異型増殖症は子宮体癌0期と同様にとり扱われるとされている。若年婦人に本症が発見された場合、妊孕性温存との関係から治療法の選択に苦慮する。40歳以下の若年性子宮体癌は近年増加しており、その7割以上が不妊患者といわれている。当科不妊外来では全例に、当教室で開発した微細子宮鏡を施行しており、我々はその際発見された子宮内膜異型増殖症の2症例に、子宮温存療法をおこなった。

症例1に関してはMPA療法(600mg/day, 3カ月間)を行い異型細胞の抑制が確認された。症例2に関しては異型内膜の抑制を期待してダナゾール療法(400mg/day, 6カ月間)を施行し現在評価中である。

4. 子宮内膜血流と妊孕性との関連についての研究

○尾崎恒男, 神野正雄, 星合敏久
小菅浩章, 中村幸雄 (杏林大産婦)

着床に対する子宮内膜の能力を評価する新しい方法を考案し, その有用性が示されたので報告する。

体外受精患者を対象とし, hysterofiberscope 直視下にレーザー血流計を用いて, 子宮底:F, 前壁:A, 後壁:P, 右側壁:R, 左側壁:Lの子宮内膜組織血流量(ETBF)を測定した。同日, 超音波pulsedoppler法で子宮動脈PIとEMおよび血中ホルモン(LH, E₂, P, PRL)を測定した。以上の結果と体外受精妊娠の成否との関連を分析した。

ETBF:FはA, P, R, Lに比べ有意に高かった。妊娠群・非妊娠群と比較するとETBF:Fは, 妊娠群で高い傾向がみられたが, 子宮動脈PIおよびEM, 各種血中ホルモン値では差がなかった。

本法は, 着床の場となる子宮内膜の血流量を直接・無侵襲・迅速に測定でき, 子宮動脈PI, EM, ホルモン測定などの従来の着床能力評価法よりも, よりよく妊孕性を反映した。

5. FTシステムによる反復卵管形成に関する検討

○松田紀子, 末岡 浩, 土屋慎一
篠原雅美, 小林紀子, 小沢伸晃
久慈直昭, 吉村泰典 (慶應大産婦)

卵管鏡下卵管形成(以下FT)では, 初回の施行時に初期疎通を認めても, その後に再閉塞を生じる症例もあり, これらの症例に対して反復してFTを施行し, その病態と有効性について検討した。

対象は当院においてFTを施行した両側卵管閉塞症例102例(うち反復症例14例, 非反復症例88例)とした。

FT反復症例と非反復症例との比較においては, クラミジア陽性率はそれぞれ40.9%, 40.3%, FT施行時に観察される1卵管当たりの閉塞箇所数それぞれ2.05%, 2.17%を示し, ともに有意差を認めなかった。しかし術後の妊娠率に関しては, 非反復症例の14.8%に対して, 反復症例で35.7%と高い成績を示した。また, 反復症例において初回と2回目の比較をした結果, 2回目の施行時には通過性回復率は50%から88.5%へと上昇し, 閉塞箇所数は2.2から1.9へと減少傾向を認め, 反復治療による妊孕性向上への有効性を示唆した。

6. 不妊症患者の心理的分析と心のケアについて

○小嶋 清, 大庭三紀子
(医療法人小嶋医院)
兼子 智 (東京歯科大市川病院産婦)
石川博通(東京歯科大市川病院泌尿器)
大槻和夫
(茨城コンサルタントセンター)

当院不妊症外来での1992年5月~1997年10月までのIVF経過症例中(当院, 他院でのIVF完治を問わず)IVF以外での自然あるいはARTによる妊娠症例を調査した。

その結果, AIH 29例, IFI 2例, IPI 2例, タイミング33例で合計66症例であった。これらの症例中にはMESA-ICSI-卵管結紮術後の自然妊娠症例も含まれた。このことにより, もう一度, 基本的な不妊症検査による再検討と, 患者自身の現在の見識状態(自分の不妊症原因)ならびに患者のストレス状況を知る必要があることが分かった。なぜなら, 女性ではストレスによる排卵障害-下垂体性のホルモン低下による卵巣組織中の卵子質の低下, 男性では精液所見で同一人物の状態とは信じがたい精子の状態を示すことがあるからである。(その為ICSIかIVFかその都度, 選択の必要性も生じる。)

患者の精神面での負荷を少しでも軽くする為, 不妊学級を通じて検討した。

7. Anorexia nervosa(AN)と家族関係について

○山本百合恵, 堀口 文, 酒井のぞみ
浜谷敏生, 田辺清男, 吉村泰典
(慶應大産婦)

ANの発症に家族関係の歪みに関与することがいわれているが, 我々は平成9年度に無月経を主訴として外来を受診した患者のうち6例について, 文章完成テストを含む複数の心理テストや面接を行い, 家族関係と心理的背景について考察した。一般に患者は情緒不安定で, 支配的な母親に抵抗を感じながらも依存し, 父親には陰性感情を抱いていた。提示した症例は, 28歳の会社員で, このような家族関係を背景に持ち, 退職後自然に排卵が回復したが, 婚約を契機に再び増悪した。

ANは無月経患者中に多く存在し, あらためて正しい理解が必要とされているが, 家族関係・心理的背景の理解とカウンセリングに心理テストが極めて有用であった。

8. 当科における胚移植数と多胎妊娠率に関する検討

○五十嵐健治, 田谷順子, 荒井邦子
沼里ひとみ, 斎藤正博, 林直樹
石原理, 木下勝之
(埼玉医科大学総合医療センター産婦)

補助生殖技術発展の一方で, 体外受精や顕微授精などの不妊症治療による多胎妊娠が増加し, 新たな問題となっている。当科では原則として移植胚数を三個としているが, 1997年の1年間に四例の品胎妊娠を経験した。そこで, 今回1997年にIVF/ICSI治療を施行した188症例を対象とし, 妊娠症例について単胎, 双胎および品胎率を比較し, 多胎妊娠予防のために適切な移植胚数とパラメーターの関係について検討した。この間のIVFとICSIの妊娠率はそれぞれ26%, 35%, また, 双胎率ならびに品胎率はIVFで24%と8%, ICSIでは31%と7%であった。単胎および多胎妊娠症例において, 年齢, 不妊期間, 採卵数, 移植胚数に有意差は認められなかった。移植胚数が3個の時に多胎妊娠率は高率となるが, 初回の治療例にのみ品胎が認められたことから, 初回IVF/ICSIでは品胎をさけるため移植胚数は2個とすることが適切と思われた。

9. 多胎は難治性OHSSのリスクファクターか

○小池俊光, 幸村康弘, 野口さおり
佐山雅昭, 荒木重雄, 佐藤郁夫
(自治医科大産婦)

若年者, PCO, ネックレッシサイ, 高エストロゲン, GnRHaの併用, hCGによる黄体補充, 妊娠などが卵巣過剰刺激症候群のリスクファクターとして知られているが多胎がリスクファクターであるか否かは不明である。私どもは重症OHSSのため入院管理を要した101名を対象としそれらを非妊娠群, 単胎流産群, 単胎群, 双胎群の4群に分け一定の管理基準の下で治療し多胎の卵巣過剰刺激症候群の経過に及ぼす影響について検討した。

回復に要した日数(mean±SD)は非妊娠群(12.1±5.0), 単胎流産群(13.9±8.2), 単胎群(16.8±8.8), 双胎群(22.8±9.2)の順で延長し非妊娠群と単胎群, 双胎群の間に有意差を認めた。また, hCG投与日から発症までの日数をみると非妊娠群で早く発症し, 妊娠群では遅れて発症していた。また, ヘマトクリットの推移をみると血液濃縮の程度は非妊娠群でも高く, これは非妊娠群にはPCO症例が26.1%と妊

娠群の7.6%に比べ多く含まれていることにと起因するものと思われた。以上より, 多胎はOHSSを遷延化させることがあきらかとなった。OHSSの発症と遷延化を避けるためには胚移植数の制限など多胎妊娠を避ける工夫と凍結胚移植, プロゲステロン膈坐薬の使用など内因性および外因性hCGの影響を減じる工夫が求められる。

今回のデータから多胎の持つ流早産といった周産期管理上の問題の他に, OHSSの遷延化という新たな問題点が再認識された。

10. ラット10番染色体上にマップされた雄性不妊症について

○鈴木浩悦, 鈴木勝士 (日獣大生理)

性腺形成不全症ラット(hgn/hgn)は, 常染色体性単純劣性の遺伝様式で, 雄性不妊を呈するラットとして発見された。その後の調査で, この異常は精巢原発性で胎生期に開始しており, 未分化性腺が成熟の精細管に分化する過程での様々な異常を呈して, 減数分裂開始前に生殖細胞が死滅するために不妊となることが判明した。発症固体の発生率から繁殖性を有する雌の劣性ホモ個体が存在することが示唆されていたが, 発症個体が両側性の腎低形成症を呈することが判明したため, 雌の劣性ホモ個体が同定され, 正常より低下した繁殖性を有することが判明した。同雌の卵巣は出生時に低形成であり, 正常より早期に卵子が枯渇するために早期不妊症となる。この度, 本症ラットとBN系統との交配実験並びにマイクロサテライト多型の解析により病因遺伝子が10番染色体上にマップされた。本症ラットでこれまでに明らかとなった遺伝的特性をまとめるとともに, マッピングの結果を報告する。

11. 男性不妊を主訴に来院したPremature centromere divisionの一例

○吉田淳, 川上稔史, 上田建
野澤英雄, 永尾光一, 原啓
石井延久, 三浦一陽, 白井將文
(東邦大学第一泌尿器)
梶井正 (無所属)

我々の施設では1991年より男性不妊を主訴に来院した患者全例に染色体検査を実施しているが, 今回初めてTotal PCD(Premature Centromere Division)の症例を経験したので報告する。

症例は38才, 男性。主訴は, 不妊。結婚期間は, 57カ月。不妊期間は, 48カ月。身長173cm, 体重

70kg. 外表奇形は、なし。精巣容積、左10ml, 右12ml. 著明な左精索静脈瘤を認めた。精液検査は、精液量1.0ml, 精子濃度 21×10^6 /ml, 運動率10%であった。血清FSH 10.9mIU/ml, LH 3.9mIU/ml, PRL 28.5ng/ml, T 5.38ng/mlであった。

末梢血リンパ球培養による染色体検査の結果は、21個分析したが、20個は46,XY,1個は、47,XY,+13,der(13;13)(q10;q10),+marであった。大部分の染色体の染色分体が離れる現象(Total PCD)を200細胞中77細胞(38.5%)に認めた。父親には、Total PCDを認めなかったが、母親には200細胞中、46細胞(23%)にTotal PCDを認めた。症例のTotal PCDは母から優性遺伝したものだと考えられた。

リプロダクションにTotal PCDがどのように影響するかは現在までのところ不明であるが、今後精子の染色体の異常の発生頻度が、Total PCDのない男性の精子のそれと比較して違いがあるかどうかをFISH法を用いて検討する予定である。

12. 無精子症、高度乏精子症患者における azoospermia factor の検討

○鈴木規之, 太田 詔, 湯浅讓治

伊藤晴夫 (千葉大泌尿器)
市川智彦 (帝京大市原病院泌尿器)
村上信乃 (国保旭中央病院泌尿器)
梶井 真 (国保成東病院泌尿器)

1993年4月から1997年10月までに千葉大学泌尿器科を受診した特発性無精子症、または高度乏精子症患者31例について検討した。

末梢血よりDNAを抽出し、PCR法を用いてY染色体上の欠失領域の有無につき検討した。

無精子症患者1例にseqencetagged site sY283の欠失を認めた。

精巣内精子や高度乏精子症患者の精子を使つての顕微授精を行う場合、Y染色体上の微小欠失はその子孫に受け継がれる可能性が高く、PCRを用いた検査はスクリーニング検査としても有用と思われた。

13. 精子受精能力判定法としての精液静置法応用の試み

○小川恵吾, 大田昌治, 永井聖一郎

水野薫子, 笠井 剛, 星 和彦
(山梨医大産婦)

Assisted reproductive technology (ART)における代表的な精子調製法であるswim-up法を用いた“受精能力を有する精子”の効率的な回収方法について検討

した。

精液は液化後、mBWWを加えて遠心洗浄し、0.5mlの精子浮遊液とした。この浮遊液を2mlのmBWWの入った試験管底に加え、垂直に静置し60分後、swim-upした精子をmBWWの上層1/2と下層1/2に分けて回収した。それらの精子について、各種検査の所見を比較した。

各群の平均値で、精子濃度は上層： 12.6×10^6 /ml, 下層： 20.8×10^6 /ml. 精子運動率は上層：84.4%, 下層：75.9%. 正常形態精子割合は上層：94.4%, 下層：91.4%. ハムスター卵侵入率は上層：20.6%, 下層：14.9%. 先体反応率は上層：5.9%, 下層：6.1%だった。

以上の結果からswim-up法による精子調製では、より上層の精子を回収することで必要十分な良好精子が得られ、ART成績の向上が期待できる可能性が示唆された。

14. 移植不可能な形態を示した分割胚の染色体分析

○大野道子, 林 明美, 鈴木香織

荒木康久, 本山光博
(高度医療技術研・中央クリニック)

体外受精胚の分割異常における原因を解明する目的で、48~72時間に胚移植及び胚凍結されなかった異常分割胚について染色体分析を試みた。

158例の染色体分析を行い、36例(22.8%)に染色体を有する細胞が認められた。その内11例が核型分析され、9例(81.8%)の染色体異常が確認された。染色体異常の内訳は常染色体モノソミー5例、常染色体トリソミーに部分欠失を持つ胚が1例、3倍体2例、4倍体1例が認められた。5例のモノソミーの内、3例は2細胞期の分割胚より検出されており、染色体のモノソミーは胚においても極めて初期の分割期で発育が停止される可能性が示唆される。分割に異常が認められ、胚移植や胚凍結に適さない胚を患者側の理解を得た上で染色体分析に用いることは、僅かながらでも情報を得ることができ、臨床のみならず体外受精技術の現場にも意義のあることと考えられる。

15. 「体外受精させたマウス卵胞内卵子の第1分割期の染色体分析」

○吉澤 緑, 宝月映樹 (宇都宮大農)

荒木康久 (高度医療技術研)

マウスの体外受精では排卵卵子を用い、一方ヒト

や牛では卵胞内卵子を用いている。これらの卵子の違いが受精率、受精後の発生能や正常性に影響するの否かを明らかにするために、マウス卵胞内卵子を体外受精させ、第1分割期の染色体標本を作製して排卵卵子の結果と比較検討した。

Jcl:ICRマウスを用い、PMSGとhCG投与によって過排卵を誘起し、排卵前の卵胞より卵子を採取した。2時間前培養した精巣上体尾部精子を用いて体外受精し、発生培養後にコルセミド処理を行い、染色体標本を作製した。

染色体標本の観察により、分裂中期像を有する卵子における倍数性の異常な卵子の出現率が、卵胞内卵子群において対照群より有意に高かった。この倍数性の異常の原因として、多精子侵入と卵子が2nである可能性が考えられ、排卵卵子と卵胞内卵子の質的差異を示唆しているものと考えられる。

16. 当院におけるIVFの胚培養について

○中島潤子、鈴木圭子、羽生久美子
大庭三紀子、小嶋 清

(医療法人小嶋医院)

兼子 智

(東京歯科大市川総合病院産婦)

IVF-ETにおける胚培養条件の至適化を図る為、培養ガス(O₂:CO₂:N₂)を5:5:90から1:5:94に低酸素化すると共に培養液をHTFから α MEMに変更し、受精率、分割胚のgrade(Veeckの分類)、妊娠率等について比較検討を行った。

1996年10月から1997年9月までのIVF施行者について、184周期(HTF-5:5:90)と10周期(α MEM-1:5:94)を対象とした。卵胚の操作と培養は簡易採卵培養システムを用い、37°C、5%CO₂-空気下で行い、精子は攪拌密度勾配法-swim up/down法により運動精子を分離媒精した。患者年齢、平均採卵数に有意差を認めなかったが、受精率(41%/50%)、分割胚grade(3.1/2.6)、妊娠率(15%/21%)は α MEM-1:5:94が有意に高く、流産率に差はなかった。

α MEM-培養ガス(1:5:94)を用いることにより、受精率の向上と共に良好分割胚が得られ、妊娠率が改善されたことが示唆された。

17. 当院における精巣上体精子および精巣内精子を用いた卵細胞質内精子注入法(ICSI)の臨床成績

○橋田 英、安部裕司、雀部 豊
池永秀幸、伊藤嘉奈子、間崎和夫
久保春海、平川 舜(東邦大第1産婦)
吉田 淳、永尾光一、三浦一陽
(東邦大第1泌尿器)

当院では、1996年より第1泌尿器科との協力により再建不能な閉塞性無精子症患者に対しMESA(精巣上体精子回収法)およびTESE(精巣内精子回収法)による精子を用いたICSIを開始した。これらの臨床成績について報告する。

1996年1月より1997年12月の間に射出精子を用いたICSI 115症例、154周期、MESA-ICSI 10症例、11周期およびTESE-ICSI 22症例、26周期で比較検討を行った。

射出精子を用いたICSIでは卵の生存率90.3%(895/991)、受精率70.3%(697/991)、妊娠率26.0%(40/154)であった。MESA-ICSIでは卵の生存率89.0%(113/127)、受精率50.3%(64/127)、妊娠率18.2%(2/11)であり、TESE-ICSIでは卵の生存率91.9%(162/185)、受精率70.3%(130/185)、妊娠率42.3%(11/26)であった。

精巣内精子を用いたICSIでは、射出精子によるものと比較し、良好な成績が得られた。また、再建不能な閉塞性無精子症例に対してTESE-ICSIは有効な治療であると思われた。

18. 当科における閉塞性無精子症に対するICSIについて

○赤間晴雄、布山隆史、木下一志
内藤正文 (川鉄千葉病院産婦)
始関吉生 (川鉄病院泌尿器)

1996年12月から1997年10月の11カ月間に、閉塞性無精子症4例に対して6周期のICSIを実施した。これらの症例は精路再建術としての精管-精管吻合術、精巣上体管-精管吻合術や、精管欠損に対する人工精液瘤造設術等を実施あるいは試行されたが、再建不能あるいは修復困難な閉塞性無精子症である。排卵誘発・採卵は既報に従い精巣上体精子・精巣精子は当院泌尿器科にて採取したものをを用いた。精子はよく洗滌し、穿刺針で尾部を圧挫して卵細胞質内に注入した。4例中、左精管欠損・右精管發育不良の1例は右精巣上体に少数の運動精子が存在、ICSIによ

り妊娠し双胎分娩となった。また、両側ソケイヘルニア手術歴のある精管閉塞の1例は、精巣上体に精子を認めず、精巣内の精子を採取してICSIを2周期実施。2回目の周期で妊娠に至った。他の1例は2周期実施して妊娠せず、残りの1例は運動精子が認められず受精に至らなかった。

19. 胚の形態よりみたICSIとIVFの比較

○金井裕子, 辰巳賢一, 辰巳三恵子
 小山栄三郎 (梅ヶ丘産婦)

胚の形態という観点からICSIとIVFを比較した。96年7月から97年12月までに当院で行ったICSI 83例の220個の卵子および、IVF 155例の552個の卵子を対象とし、受精約40時間後の胚の形態を、Veeckの分類に従いG1~G5の5段階に分類した。

G1の占める割合はICSI 40%に対しIVF 30%であり、G2は両者に差がなく、G4、G5と胚のGradeが下がるに従いIVFの方が率が高くなり、ICSIの方がIVFよりGradeの良い胚を得ることができた。

G3以上の胚を移植できた場合の妊娠率は、ICSI 31%、IVF 29%に対し、G4以下の胚しか移植できない場合の妊娠率はICSI 0%、IVF 6%であった。また、G4以下の胚しか移植できなかった周期はICSIでは全周期の4%に対し、IVFでは11%であった。

ICSIの方がIVFより良好な胚が得られ、妊娠率は胚のGradeに依存することから、IVFでは良好な胚を得られず、妊娠に至らない症例にICSIを行う事により、妊娠を期待できる可能性があると考えられた。

20. 新しいエンブリオスコアリングの試み

○武田信好, 小田原 靖
 (小田原ウイメンズクリニック)

IVF-ETにおける移植胚を選別する手段として新しいエンブリオスコアを考察し検討した。

平成9年に当科で施行した196周期928個の胚を倒立顕微鏡下の形態的観察により分析し、妊娠との関連を検討した。スコアリングを決める因子として割球数(4 Cell以上は4点)、割球の大きさのばらつき、Fragmentの量、胞体所見を用い前2者は加点、後2者は、減点により7点満点で算定した。

対照群の妊娠率は対移植26.5%、胚を3個移植した場合33.1%であった。各因子の単独解析では妊娠率に有意差を認めなかった。胚をスコアリングによりグレーティングを行った場合、スコア点数と妊娠率に強い相関を認めた。

以上の結果より新しいスコアリングシステムは体

外受精における胚移植時の胚選別法として有用と考えられた。しかし、今後、胚の生理学的検討や電顕的検索、1個胚移植の妊娠データなどを蓄積、照合する必要がある。

特別講演

畜産領域における繁殖学研究の現状と展望

假屋堯由 (農林水産省畜産試験場)

1997年2月の「ドリー誕生」以降、畜産におけるバイオテクノロジーは新たな展開方向を見せた。それが、平成10年1月20日の畜産試験場と鹿児島県肉用牛改良研究所による体細胞クローン牛の妊娠例の発表、次いで大分県からの同様な報告、また米国ウイスコンシン大学、またPPL Therapeutics社からは胎子の体細胞クローン子牛誕生のニュース等につながっている。ロスリン研究所の成果が生命科学へ与えたインパクトは大きいと同時にこの技術のヒトへの応用の是非については、倫理的・宗教的観点、あるいは政治の世界も巻き込んだ論争が続いている。

以下に主としてウシにおける繁殖バイオテクノロジー研究の現状を説明するが、これはウシの生殖細胞(精子、卵子等)は凍結や培養などの処理に比較的強いことと、材料としての卵巣の入手や供試頭数の確保が比較的可能であったためである。

1. 人工授精

ウシの繁殖分野におけるバイオテクノロジーは、人工授精、凍結精液の開発・普及に始まり、胚移植(受精卵移植)、体外受精、核移植・クローン技術へと、この数十年間、連続して新技術が開発・提供されており、乳用牛・肉用牛ともに、これらの技術によって育種改良面で受けた恩恵は極めて高い。

1952年、英国のボルジらがグリセリンを用いる牛精子の凍結保存法を発表すると、この技術は直ちに我が国に導入・改良され、瞬く間に凍結精液による人工授精技術は実用化された。凍結精液の普及は、雄畜側からの育種改良に貢献しており、現在、国内に2才以上の乳用雌牛130万頭、肉用雌牛65万頭の合計195万頭が繁養されているが、そのほとんどは人工授精されており、これだけの雌牛に対して、供用されている雄牛は千頭以下である。

2. 胚移植技術(Embryo Transfer, ET)

人工授精の次に開発が必要とされたのは、雌畜からの改良のための胚移植技術である。前述のように

優良な雄牛は生涯に数千から数万頭の子畜を残すことも不可能ではないが、雌牛は本来単胎動物であり、283日の妊娠期間を持つため、いくら期待度の高い優秀な雌牛であっても生涯に8~10産しかできない。その解決方法として、受精卵移植に関する研究が開始され、畜産試験場の杉江らは、昭和39年に新鮮胚(非凍結胚)の移植によって最初の子牛を誕生させ、また、昭和54年には液体窒素中で172日間、凍結保存しておいた胚の移植によって最初の子牛を得ている。杉江らが開発した技術の最大の特徴は、手先の器用な日本人の発想に基づく非手術的な採卵ならびに移植法であり、現在では世界中でこの方法が用いられている。

胚移植は昭和60年頃までにほぼ技術的には確立され、その後、畜産局等の行政サイドからの支援を受けて、実用化へと進展中である。

3. 体外受精(In vitro fertilization, IVF)

屠畜場から得た牛の卵巣から未成熟卵子を採取し、シャーレの中で成熟させた後に、精子と受精(媒精)させ、それを偽妊娠ウサギの卵管内で一時的に培養して胚盤胞まで発育させてから、受胚牛の子宮に移植して国内初の子牛を得たのは昭和60年である。現在の技術水準では、一対の卵巣から10~50個の未成熟卵子が採取され、培養後の成熟率は90%、さらに移植可能な胚盤胞にまで発育するのは30~50%程度である。現在は38℃の培養器の中で胚盤胞に発育するまでの7~8日間、完全に体外で培養され、その後、移植あるいは凍結保存される。体外受精は屠畜場から得られる卵巣の有効利用を可能とした。日本の体外受精に関する基礎的・応用的研究は世界のトップを走っており、次いで開発された核移植・体細胞クローンへのスムーズな移行を可能にしている。

4. 核移植・クローン技術(Nuclear transfer, cloning)

クローン技術とは細胞の核を別な細胞の核と置き換える技術である。クローニングを行うためには、卵子の核を無傷で取り出す(除核)、細胞の核を卵子に導入する(核移植)、卵子の胚発生を開始するためのシグナルを与える(活性化)、というステップが必要である。このステップは基本的にはあらゆる動物種のいかなる細胞核にも共通である。核移植技術には従来から研究されてきた胚(受精卵)由来のものとしてロズリン研究所から発表された体細胞由来の方法があるが、基本的な手技には共通する点が多い。

1) 胚由来のクローン技術

哺乳動物の卵子の直径は0.1~0.15mmと小さいため、卵子への操作は顕微鏡の下でマイクロマニピュレータを用いて行う。ウシの核移植は、核を受け入れる細胞質として体外成熟卵子(未受精卵子)を、また、核を供与する細胞として、受精後5.5日目の発生初期胚(32~50細胞期胚)を子宮から回収し、その1つの細胞(割球)を用いる。まず、卵子を取り囲む蛋白質の層(透明帯)の一部を切開し、その切れ目から第一極体とその近くの細胞質に含まれている卵子の核(染色体)を透明帯の外へ押し出すか、ピペットで吸引除去する(除核操作)。一方、核を提供する分割期胚を物理的あるいは酵素処理によって単一の細胞にばらばらに分離し、1個の割球を除核卵に密着するように透明帯の下に挿入する。次いで、電気パルスにより除核卵と挿入割球を融合させ、核を卵細胞質内に導入する。この際の電気パルスは卵子の胚発生を開始させるための活性化刺激としての役割も担っている。融合した核移植卵子は、あたかも精子進入直後の卵子と同じように発生を開始する。ウシの場合は7日間の体外培養の後、受胚牛の子宮に移植して妊娠させる。日本初の核移植子牛は平成2年8月に畜産試験場の角田と千葉県畜産センターの牛島が共同で作成している。

2) 体細胞由来のクローン技術

英国ロズリン研究所における体細胞クローンの作成は以下のようなものである。6才の雌羊の乳腺上皮細胞を取り出し、3~6世代の継代培養を行い、その核を除核羊卵子に移植し電気融合した後に、別の羊の卵管で更に6日間培養してから、受胚羊へ本移植してドリーを得た。核移植に先立ち、培養液中に添加した子牛胎子血清濃度を5日間かけて10%から0.5%まで低下させる血清飢餓培養を行ったのが成功のポイントとされる。ロズリンの報告を基にして前述のウシの体細胞クローン研究が国内外で開始されている。畜産試験場では鹿児島県肉用牛改良研究所との共同研究において、3種類の体細胞を用いる核移植を開始しており、現在数例が妊娠継続中である。

5. 今後の展望

胚移植から開始された高度な繁殖バイオテクノロジーは、受胎率向上・安定化という第一関門が未だにクリアされたとはいえず、いくつかの解決を要する点が残されている。今後重点的に研究すべきクローン技術の最大の利点は、同一遺伝形質を持つ多子を得られることにあり、高泌乳牛群(雌)や高品質肉用牛群(雄及び雌)等の優良種畜の増殖を可能と

し、また、均質牛群による飼養管理の省力化や実験精度の向上も図れる。

欧米諸国では遺伝子導入研究を積極的に進めているが、そのねらいは、有用蛋白質・医薬品等を産生する家畜や、甚急性免疫拒絶反応を緩解させる遺伝子を組み込んだ臓器移植用家畜等、新産業の創設に資する新規形質転換家畜の作出にある。遺伝子組換え家畜を体細胞クローン技術で増産させることが最も効率的であろう。

日本は、動物・家畜での遺伝子導入実験に関する規制がドイツを除く欧米諸国と較べて厳しいことと、この分野への資金や設備投資の不足、国際特許等の制約、あるいは現実の遺伝子導入効率が必ずし

も高くないこと等の諸要因による研究の立ち遅れは否めない。しかしながら、遺伝子組換え・クローンは、今後、ますます重要になる技術であることは確実であり、我が国でも、リスクを伴う研究開発部分については国の研究機関が主として担当し、ある程度の目途がたてられる段階以降は産業界へと引き継いでいくシステムの構築を考える時期にきている。畜産試験場では形質転換実験棟において、遺伝子組換え技術を用いて、家畜本来の乳汁中のタンパク質含量の増加を目標とした研究を推進している。

そのための基盤技術は遺伝子の探索であるが、作成された胚を280日余、子宮内で安心して育てるような母体環境作りが重要である。

日本医学会だより

JAMS News

1998年5月 No.19

第25回日本医学会総会

第25回日本医学会総会(高久史麿会頭)は、基本理念「社会とともにあゆむ医学—開かれた医療の世紀へ—」の下に、学術講演、医学展示の準備を進めている。開会講演は伊藤正男氏に、閉会講演は立花隆氏に決定した。

学術講演の日程は平成11年4月2日(金)~4日(日)、会場については東京国際フォーラム、東京国際展示場、グランパシフィック東京を予定している。医学展示は3月30日(火)~4月8日(木)、東京国際展示場で行われる。

展示は、一般市民にも開かれた「生命(いのち)の博覧会」とし、第1館：人と病気との闘い、第2館：病院探検、第3館：安全都市・在宅ケア、第4館：世界に広がる医療、第5館：市民の広場という構想の下に展開される。

日医ニュースに第25回日本医学会総会ガイドを発行するなど、広報活動も活発である。

登録は、平成10年3月1日より事前登録の受付を開始した。登録料は据え置きとし、新たに団体割引制度を設けた。クレジットカードでの支払いもできるように便宜を図っている。

総会のホームページのアドレスは、<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ので、ご覧いただきたい。

第65回日本医学会定例評議員会

標記評議員会を、平成10年2月24日(火)に開催した。森日本医学会長の挨拶として「日本医学会は、この1年間、比較的平穏であった。しかし、世の中では、医学・医療の問題を含めてさまざまな出来事があり、そうした際に、日本医学会の意見を求められたことも少なくない。日本医学会としては、今後、政府、社会からのどのような協力依頼にも応えうるように、みずからの力を養い、実力をつけて期待に副いたいと考えている」と述べた。

同日に日本医学会役員の改選が行われ、会長に森巨現会長が再選、副会長は基礎系に伊藤正男理化学研究所脳科学総合研究センター所長が新たに選出さ

れ、社会系に小泉明産業医科大学学長、臨床系に高久史麿自治医科大学学長がそれぞれ再選された。任期は、平成10年4月1日から平成12年3月31日迄。

また、2003年に開催予定の第26回日本医学会総会の開催地が福岡に、会頭には杉岡洋一九州大学総長が決定した。

日本医学会に新たに加盟する分科会として、日本疫学会が決定した。これで日本医学会を構成する分科会は92を数えることとなった。

第110回日本医学会シンポジウム

「生活習慣と慢性疾患」が、平成10年6月26日(金、10:00~17:00)に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、田中平三、小林修平、古野純典の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。参加費用は無料。また本シンポジウム記録集は、刊行時、希望者に増呈の予定。

プログラムの概要は、下記のとおり。

I. 生活習慣と健康

1. 食事と健康/香川靖雄(女子栄養大)
2. 運動と健康/佐藤祐造(名大・総合保健体育科学センター)
3. ストレス、社会生活と健康/森本兼曩(阪大・環境医学)
4. 成長期から生涯を展望した生活習慣と健康/村田光範(東女医大・小児科学)

II. 生活習慣とがん予防

5. 喫煙関連がんの最近の知見/本荘哲(防衛医大・公衆衛生学)
6. 飲酒とがん/田島和雄(愛知がんセンター・疫学部)
7. 運動とがん予防/徳留信寛(名市大・公衆衛生学)
8. 食物・栄養とがんの1次予防/津金昌一郎(国立がんセンター・臨床疫学)

III. 生活習慣の改善と臨床医

9. 高血圧/久代登志男(日大・内科学)
10. 高脂血症/板倉弘重(国立健康・栄養研究所)
11. 肥満/嶋本喬(筑波大・地域医療学)
12. 糖尿病/清野裕(京大・病態代謝栄養学)

日本医学会の加盟申請

平成10年度の加盟申請の公示は、平成10年5月15日に行い、7月31日で申請を締切る予定。

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、最終的に決定される。ちなみに平成9年度の新規加盟は1学会のみであった。なお、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

医学用語管理委員会は、委員9名(草間悟委員長)により構成。「日本医学会医学用語辞典」、「医学用語標準化の調査研究」、「診療科別標準傷病名集」の実績を基礎として、医学用語辞典 英和 第2版(全面改訂)にむけて作業を開始した。まず各分科会に対し、現在の日本医学会医学用語辞典(第1版第2刷)に関し追加、訂正、削除したい用語の希望提出方を昨年5月に依頼した結果、12月末日までに65学会から回答を得た。分科会からのこれらの要望は、委員会で整理し、改訂版には、分科会用語委員の意向を十分に反映したいとしている。英和辞典第2版の刊行は、2001年3月を目指している。

医学賞・医学研究助成費

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任されている。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150万円)。

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。

認定医制についての三者懇談会

第20回懇談会において、学会認定医制協議会から、「学会認定医制協議会会報第2号」を発行したとの報告があり、その中には協議会の現状、医療提供体制の抜本的改革案、認定医の表示を目指した調整と整備等の状況が掲載されている。

1996年度には外科関連の学会による認定・専門医制度の再編成案が提示されたが、これに呼応して今年度、内科関連学会でも再編の動きがみられ、その報告が詳細に行われた。

これらが順調に整備されれば、学会主導型の専門医制の整合が一層進捗することになる。

投稿規定

(1997年12月20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、原則として刷り上がり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、200words以内の各抄録（題名、著者名、所属を含む）を添付する。各抄録の下に和文ならびに英語5語以内のKey wordsを付記する。英文はあらかじめ専門家の校閲を受けておくこと。ただし編集委員会で校閲が必要と認めた場合は、その費用を著者負担とする。
8. 投稿原稿は表紙（題名、著者名、所属、住所、ランニングタイトルを和文ならびに英文で明記）、英文抄録、和文抄録、本文（緒言、対象/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40letters以内とする。
9. 記述は和文または英文とし、和文は横書き、口語体、平かなを用い、現代かなづかいによる。
10. 海外の人名、地名などは原語、数字は算用数字とする。学術用語および諸単位は、それぞれの関連学会用語集に従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
11. 文献は次の形式により、引用順に末尾に一括記載する。著者、編者名は3名までとし、以下は他（et al.）とする。

a) 雑誌の場合

著者名(年次)題名、誌名 巻数:頁-頁 とする。
和文誌名は該当誌の規定または慣用の略名に従い、

英文誌名はIndex Medicusに従って略したものをを用いる。ページは通巻のページ数で最初と最終ページを記入する。

英文例) Daitoh T, Kamada M, Yamano S, et al. (1995) High implantation rate and consequently high pregnancy rate by in vitro fertilization-embryo transfer treatment in infertile women with anti-sperm antibody. Fertil Steril 63 : 87-91

和文例) 宮崎豊彦, 久慈直昭, 末岡 浩 他 (1995) 体外受精・胚移植不成功例に対する卵巣刺激前ダナゾール投与の効果. 日不妊会誌 40 : 104-109

b) 単行本の場合

著者名(年次)題名、書名、編者名、発行所、発行地、pp頁-頁 とする。(英文の場合は編者名、書名、の順)

英文例) Collins JA(1995) Unexplained infertility. In : Keye WR Jr.Chang RJ.Rebar RW, et al (eds), 1st ed, infertility : Evaluation and Treatment. WB Saunders Co, Philadelphia, pp249-262

和文例) 三浦一陽 (1994) 男性不妊症. アンドロロジーマニュアル. 白井將文編, 第1版, 新興医学出版, 東京, pp152-166

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. 別刷は著者負担とし、50部を単位とする。原稿表紙に別刷総部数を朱記する。
17. 項目5、15、16にある掲載に要した経費などは、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) 〒143-8541

東京都大田区大森西6-11-1

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室内

日本不妊学会編集委員会

平川 舜

Tel 03-3762-4151(代) 内線3585

Fax 03-3765-7671

日本不妊学会雑誌 投稿申込票

(この用紙をコピーしてご利用ください)

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：症例報告：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.	No. []	2.	No. []
3.	No. []	4.	No. []
5.	No. []	6.	No. []

本文ページ数：

文献件数：

和文抄録：600字以内(題名、著者名、所属を含む)

英文抄録：200words以内(題名、著者名、所属を含む)

表の数： 個

図の数： 個

写真の数： 枚

[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字以内)

別刷希望数：()部 50部を単位とし、希望部数を記入(別刷は有料です)。

フロッピーの添付 [有：無] →機種名：

ソフト名：

※フロッピー添付のない原稿は、初期入力時にミスタッチが生じる事があります。その為、校正時にご迷惑をおかけする場合がありますので、できるだけ原稿フロッピーを添付してください。

※フロッピー(あるいは他メディア)への文書登録はできるだけMS-DOSテキストファイル形式で行なってください。

※図・表組のデータは編集変換時にくずれますので、必ずクリアなプリントを添付してください。

投稿者の資格：本誌への投稿資格は、日本不妊学会会員に限定されていますので、非会員の方は、共著者共に本会事務局宛入会手続きを取ってください。

連絡先：代表者名：

連絡先住所(郵便番号)：

電話番号：

ファクシミリ番号：

編集後記

平成9年から編集委員をしております。主に基礎生理系・畜産系の分野の論文を担当しております。よろしくお願いたします。投稿論文を、安心して読まれ、かつ不安なく引用されるものにするのが本会の編集委員の役割と考えております。ややもすると厳しいレフェリーのコメントを仲介することになり、心苦しく思うこともあります。しかし、毎号の発行にあわせて編集委員会を開催し、そこでレフェリーのコメントと著者の返答を審査し、著者の意向を尊重して対応する点が本学会誌編集の特徴と思います。また、掲載論文は基礎生理系、産婦人科系、泌尿器科系に分類され、それぞれの分野から1件、日本不妊学会学術奨励賞が授与されます。若手研究者の登竜門となる論文が投稿されることを期待しております。環境ホルモンの動物やヒトへの影響、食糧危機に対応した食動物の改良と増殖など、今後、不妊学会の基礎生理系・畜産系においても対応の必要な課題がますます増えると予想されます。会員の協力の下に、これらの課題が対処され、その成果が本学会誌に反映されることを願っています。

(編集委員・佐藤英明)

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 第43巻第3号

1998年6月25日印刷
1998年7月1日発行

編集発行人 平川 舜
発行所 社団法人 日本不妊学会
東京都千代田区麹町5-4
クロスサイド麹町ビル8F
TEL・FAX (03) 3288-7266
郵便振替 00170-3-93207
印刷・製本 株式会社 パンメデア
東京都新宿区早稲田鶴巻町110
TEL (03) 3209-1810