

ISSN 0029-0629 CODEN: NFGZAD

Japanese Journal of Fertility and Sterility

日本不妊学会雑誌

Vol.44 No.2

第44卷 第2号

April 1999

平成11年4月1日

Jpn. J. Fertil. Steril./日不妊会誌

日本不妊学会・学会誌への投稿についてお願い

近年、本誌への原著論文の投稿数が減少傾向にあり、このままでは学会誌の編集が困難な状況です。今後優れた論文をこの分野の専門誌である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部門より推薦された計3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。

なお、日本不妊学会学術奨励賞の推薦方法の詳細は本誌44巻1号、2号に掲載されていますので、ご参照下さい。

1999年4月1日

日本不妊学会学術委員会
委員長 青野敏博

第44回日本不妊学会総会および学術講演会 (第3回予告)

第44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。多数の方々の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11年11月10日(水) 理事会，幹事会
11日(木) 学術講演会，評議員会，総会，総懇親会
12日(金) 学術講演会

II 会 場：赤坂プリンスホテル 新宴会場「五色」
〒102-8585 東京都千代田区紀尾井町1-2 (TEL：03-3234-1111)

III 学術講演会予告：

招請講演

- 1) Current Concepts and Concerns in Assisted Conception
演者：Peter R.Brinsden (Medical Director of Bourn Hall Clinic)
- 2) Testicular Torsion: physiology and cell biology of the response to torsion repair in the rat model
演者：Terry T. Turner (Professor of Urology and Cell Biology University of Virginia School of Medicine)

特別講演

Treatment of Male Infertility - Past Practices and Future Prospects
演者：Philip Troen (Professor of Medicine, Montefiore University Hospital)

会長講演

本邦における不妊治療の実態とその在り方
演者：矢内原 巧 (昭和大学医学部産婦人科教授)

教育講演

- 1) 生殖生理とエイコサノイド
演者：佐藤 和雄 (日本大学医学部産婦人科教授)
- 2) 初期卵胞発育を考える —卵細胞からのシグナル?—
演者：岡村 均 (熊本大学医学部産婦人科教授)
- 3) 閉塞性無精子症の診断と治療：ART時代の再吻合術の意義
演者：松田 公志 (関西医科大学泌尿器科教授)
- 4) 体細胞クローン技術と核のリプログラミング
演者：今井 裕 (京都大学大学院農学研究科教授)

シンポジウム

1. 機能性不妊症 — 病態とその対策 —
座長：吉村 泰典 (慶應義塾大学医学部産婦人科教授)
星 和彦 (山梨医科大学産婦人科教授)

シンポジスト：

- 1) 精子機能異常と機能性不妊
笠井 剛 (山梨医科大学産婦人科助手)
- 2) 卵・卵胞の発育からみた機能性不妊
斎藤 隆和 (山形大学医学部産婦人科助手)

3) Gamete 免疫と機能性不妊

繁田 実 (兵庫医科大学分婭新生児部助教授)

4) 子宮内胎 — ステロイドホルモンおよびその受容体と機能性不妊 —

田原 隆三 (昭和大学医学部産婦人科講師)

5) 着床率からみた機能性不妊治療の解析

松浦 講平 (熊本大学医学部産婦人科助教授)

2. 男性不妊の治療と医療連携

座長: 岩本 晃明 (聖マリアンナ医科大学泌尿器科教授)

並木 幹夫 (金沢大学医学部泌尿器科教授)

シンポジスト:

1) 薬物治療の効果判定の新しい試み (visual assessment)

馬場 克幸 (聖マリアンナ医科大学泌尿器科助手)

2) 精索静脈瘤に対する外科的治療の意義

奥野 博 (京都大学医学部泌尿器科助手)

3) 閉塞性無精子症の治療

岡田 弘 (神戸大学医学部泌尿器科講師)

4) MESA, PESA, TESE の実際と医療連携

近藤 宣幸 (兵庫医科大学泌尿器科助手)

5) ART の方法, 男性不妊症の治療成績 — 大学から —

柳田 薫 (福島県立医科大学産婦人科助教授)

6) 男性不妊 — 産婦人科と泌尿器科の役割分担

辰巳 賢一 (梅ヶ丘産婦人科副院長)

ワークショップ

1. 不妊とコンサルテーション

座長: 荒木 重雄 (自治医科大学産婦人科生殖内分泌不妊センター・同看護短大教授)

森 明子 (聖路加看護大学助教授)

1) 臨床医の立場から

中澤 直子 (東京厚生年金病院産婦人科医長)

2) 不妊をめぐる人々の心理

大日向雅美 (恵泉女学園大学教授)

3) 看護の立場から

有森 直子 (聖路加看護大学母性看護・助産学研究室講師)

4) IVF コーディネーターの立場から

福田貴美子 (蔵本ウイメンズクリニック婦長)

5) “不妊ホットライン” からみた不妊の当事者の悩みと医療への提言

北村 邦夫 (日本家族計画協会クリニック所長)

2. 卵管の機能とその異常

座長: 星合 昊 (近畿大学医学部産婦人科教授)

野口 昌良 (愛知医科大学産婦人科教授)

1) 卵管の生理とその病態

高倉 賢二 (滋賀医科大学産婦人科助教授)

2) 感染症と卵管機能

野口 靖之 (愛知医科大学産婦人科助手)

3) 子宮内胎と卵管機能

藤下 晃 (長崎大学医学部産婦人科助手)

4) 腹腔鏡による卵管機能の評価

三橋 洋治 (近畿大学医学部産婦人科講師)

5) 卵管鏡による卵管機能の評価

末岡 浩 (慶應義塾大学医学部産婦人科講師)

3. ARTの最前線

座長: 久保 春海 (東邦大学医学部第1産婦人科教授)

佐藤 英明 (東北大学大学院農学研究科動物生殖科学分野教授)

1) 生殖医療における配偶子・受精卵診断

雀部 豊 (東邦大学医学部第1産婦人科研究生)

2) Nuclear transplantation 技術のヒト生殖医療への応用

竹内 巧 (群馬大学医学部産婦人科)

3) 環境因子と精液性状

押尾 茂 (帝京大学医学部泌尿器科講師)

4) TMGT (Testis-mediated gene transfer) により導入された外来遺伝子の解析

林 克彦 (東京理科大学生命科学研究所助手)

5) 生殖医療におけるクローン技術の利用

三好 和睦 (東北大学大学院農学研究科動物生殖科学分野特別研究員)

6) ARTの適応拡大とその限界

苛原 稔 (徳島大学医学部産婦人科講師)

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、1999年度年会費(8,000円)を納入のうえ、会員になってください。

演題申込み要領

1. 抄録を所定の抄録用紙にタイプまたはワープロで打ち、書留郵便にて下記へお送りください。

〒102-0083 東京都千代田区麹町5-2 K-WING 3F

MA コンベンションコンサルティング内

第44回日本不妊学会事務局

TEL: 03-5275-1191 FAX: 03-5275-1192

2. 抄録は800字以内。図、表はつけないでください。

3. 演題の申込みは1演者1題とさせていただきます。

4. 倫理面を充分に考慮した研究発表として応募ください。

5. 別紙演題申込書、受領書、採用通知書に所定の事項を記入して切手を貼り、抄録用紙(原本)および抄録用紙のコピー4部と共にお送りください。

6. 申込み締切日: 1999年5月31日(月)(必着)

演題発表形式

口演発表および示説発表になります。

なお、演題の採否、分類の決定は会長にご一任ください。

V 参加申込み方法:

学会当日会場にて受け付けます。学会参加費 10,000円

総懇親会費 8,000円

総懇親会は学術講演会初日の11月11日(木)に赤坂プリンスホテルで行います。是非ご出席ください。

1999年(平成11年)4月

第44回日本不妊学会

会長 矢内原 巧

**第 44 回日本不妊学会総会および学術講演会
宿泊のご案内**

グレード	番号	ホテル名 (チェックイン / アウト)	料金(1室あたり)		住所 / 電話 / 最寄駅
			シングル 1名様1室利用	ツイン 2名様1室利用	
A	①	赤坂プリンスホテル(会場) 12:00/12:00	¥24,000	¥28,000	〒102-0094 東京都千代田区紀尾井町1番2号 電話: 03-3234-1111 地下鉄銀座線赤坂見附駅まで徒歩3分
B	②	赤坂東急ホテル 13:00/12:00	¥17,000	¥26,000	〒102-0094 東京都千代田区永田町2-14-3 電話: 03-3580-2311 地下鉄丸の内線赤坂見附駅まで徒歩1分
C	③	シャンピアホテル赤坂 14:00/10:00	¥9,000	¥16,000	〒107-0052 東京都港区赤坂7-6-13 電話: 03-3586-0811 地下鉄千代田線赤坂駅まで徒歩5分
	④	マロウドイン赤坂 16:00/10:00	¥7,300	¥11,800	〒107-0052 東京都港区赤坂6-15-17 電話: 03-3585-7611 地下鉄千代田線赤坂・乃木坂駅まで徒歩5分

◆ 上記料金は1泊朝食付きの1室あたりの料金(サービス料込、税金別)となっております。

お申込方法

申込書に必要事項をご記入の上、下記宛にファックスまたは郵送にてお送り下さい。
 予約に際しましては、予約金(1室につき1泊分)および通信手数料(¥800)を申し受けます。
 代金受領後、弊社より予約確認書をご送付申し上げます。
 尚、1999年9月10日をお申込締切日とさせていただきます。

お支払方法

予約金(1室につき1泊分)および通信手数料(¥800)を下記のいずれかの方法でお支払い頂きます。
 予約金を差し引いた宿泊代金の残額およびその他ホテルでのご利用代金は直接ホテルにてご精算頂きます。
 クレジットカード 下記クレジットカードがご利用いただけます。

1.ビザカード 2.マスターカード 3.ダイナースカード 4.アメリカンエキスプレス

銀行振込 振込先: 東京三菱銀行・新丸の内支店 口座番号: (替)1025740

口座名義: 日本交通公社 国際旅行事業部 国際会議口

注) 振込み手数料はお客様負担となります。予めご了承ください。

銀行振込の場合、領収書(振込書)のビ-を申込書に添付するかファックスにて弊社までご送付下さい。

変更・取消

予約を変更・取消される場合には、ファックス等、書面にてお知らせ下さい。

取消の場合は、下記の規定に基づき取消料を申し受けます。

宿泊日の9日前以前 ¥2,000
 宿泊日の8日前より2日前まで 一泊分の20% (最低額 ¥2,000)
 宿泊日の前日より 一泊分全額

尚、予約の変更・取消にともなうご返金は会議終了後となります。予めご了承ください。

お申込およびお問い合わせ先

日本交通公社 国際旅行事業部 「第44回日本不妊学会総会および学術講演会」係

営業時間: 9:30~17:30 (除 土日および祝祭日)

〒135-8520 東京都江東区木場 5-5-2 ファックス: (03)5620-9499 電話: (03)5620-9429

宿 泊 申 込 書

送付先 〒135-8520 東京都江東区木場 5-5-2 JTB 国際旅行事業部 国際会議センター 「第 44 回日本不妊学会総会および学術講演会」係 F A X : 0 3 - 5 6 2 0 - 9 4 9 9

申込締切日： 1999 年 9 月 10 日

(フリガナ) 申込者名	-----	(フリガナ) ご所属名	-----
(フリガナ) 住 所	-----		
電話：	-----		ファックス：

ホテル名	第一希望： -----	第二希望： -----
------	-------------	-------------

宿泊者名 (フリガナ)	同室者名(フリガナ)	部屋タイプ	到着日	出発日	泊数
-----	-----	<input type="checkbox"/> シングル <input type="checkbox"/> ツイン	___月___日	~ ___月___日	___泊
-----	-----	<input type="checkbox"/> シングル <input type="checkbox"/> ツイン	___月___日	~ ___月___日	___泊
-----	-----	<input type="checkbox"/> シングル <input type="checkbox"/> ツイン	___月___日	~ ___月___日	___泊

お支払額

宿泊代金全額： ￥ _____ (1泊分料金) × _____ (室数) = ￥ _____ (1)

通信手数料： ￥ 800 × _____ (室数) = ￥ _____ (2)

合計(1)+(2)： ￥ _____

上記金額を下記の方法にて支払います。

クレジットカード マスターカード ダイナースクラブ ビザカード アメリカンエキスプレス

カードナンバー _____ 有効期限 ___年 ___月

所有者氏名 _____ 署名 _____

銀行振込 ___月 ___日 _____ 銀行 _____ 支店より _____ 名義で

振込みました(振込みます)。

振込先： 東京三菱銀行・新丸の内支店 (昔) 1025740

口座名義： 日本交通公社 国際旅行事業部 国際会議口

注) 振込み手数料はお客様負担となります。予めご了承ください。

銀行振込の場合、領収書(振込書)のビ-を申込書に添付するかファックスにて弊社までご送付下さい。

日付 _____ 署名 _____

申込書のビ-を取り、控えとしてお持ち下さい。

支部評議員

下記462名の会員の皆様に、1999年1月1日より2000年12月31日まで支部評議員を委嘱します。本紙面をもって委嘱状といたします。

北海道支部 支部評議員 (39名)

東口篤司	石島芳郎	伊藤直樹	遠藤俊明
岡部泰樹	片桐成二	金川弘司	上口次郎
神谷博文	工藤正尊	小柳家知	小久一雄
櫻木範明	佐藤邦忠	清立木仁	小立裕幸
高岡康男	武田哲男	立木均	中尾彦兒
田中昭一	玉手健一	丹井穗	古屋敏聖
野々村克也	芳賀宏光	藤瀬美賢	丸田浩律
松崎重範	松澤好政	真山幸紀	
宮澤清志	森好田博	和田真一郎	
吉田俊明			

東北支部 支部評議員 (34名)

市川文隆	一條貞敏	梅津元昭	昭文一	太田博孝
小金田隆晴	利部越慎之助	鍵谷村正	晃宏	田寄治行
國本惠吉	児玉藤也	木齊佐中	和瑛	片村良唯
笹川角五	佐藤谷章夫	中村吉	節陽	木齋鈴永
藤井俊聰	前柳和			矢沢田浩
矢嶋宣弘				永矢吉之威
松宣弘				

関東支部 支部評議員 (162名)

合安池石石伊岩上太岡小甲加河木久保公	阪部内川橋藤下山田倉斐藤村下田平	幸裕隆博雅光亨耕久祥廣信裕俊昭	三司夫通晃夫利護二市男生英夫三郎男	赤荒池石岩伊岩白大冲長貝金岸久黒小	座木本田動藤田杵橋永田原山本慈島山	英重克孝元嘉正莊尚喜裕直淳基	之雄庸美一郎博行愨和一夫学一一昭子昭	味荒井石市稲上内岡冲押可兼木楠桑小	香木坂田川葉野島田永尾木子下原原寺	勝惠智憲詔洋久英浩慶重	也勤一肇彦之精豊子子茂幸智夫二紀行	安飯石石伊井植梅岡荻小片川木久小小	達田井塚藤上村田田野田山名下保磯林	知悦延文治正次清雅高英武謙善	子郎久平英人雄隆己弘久進尚親士吉宗
--------------------	------------------	-----------------	-------------------	-------------------	-------------------	----------------	--------------------	-------------------	-------------------	-------------	-------------------	-------------------	-------------------	----------------	-------------------

小齋	宮藤	顯裕	近坂	藤元	芳秀	仁樹	齊佐	藤賀	眞正	一彦	齊佐	藤木	博茂
佐塩	藤塚	夫彦	佐始	元藤	孝吉	樹道	佐白	賀藤	正芳	昭裕	澤末	村岡	勝浩
杉関	村谷	男英	鈴高	関木	吉啓	生悦	須須	須藤	和寛	裕人	関高	岡山	利臣
関多	賀島	吉晴	竹館	木内	啓耕	郎彌	波田	波田	寛真	治省	田田	山中	一貴
田田	中	夫治	田德	内	久	男彦	田巳	田原	眞佐	一三人	田豐	村田	治一
堤土	橋尾	慶一人	中永	内	清章	生郎	原木	木野	隆明	男雄	中西	田山	博朗
永西	田嶽	正也	根畑	岸	光一	治夫	野村	村口	眞末	美亮	野林	山島	彦樹
野林	川屋	信英	原福	谷	壮俊	啓子	口井	野島	和泰	彦子	平古	澤原	彦久
広古	井本	之亞	古正	岡本	惠健	一薰	野島	沼崎	眞末	夫浩	牧松	畑野	史樹
正松	岸崎	敬登	松和	田丸	文恒	泰滋	水宮	森安	和泰	樹彦	三村	田橋	郎人
峯目	沼中	恣寿	持矢	崎本	皓	雄忠	水沢	安吉	眞末	之彦	森矢	井野	哲淳
柳山	田吉	一郎	我	妻		一堯			佐	緑	吉	田	

中部支部 支部評議員 (26名)

浅大	井西	光裕	興之	朝比奈	俊俊	彦一	生風	田戸	克貞	夫之	今郡	井木	篤健	志郎
米鈴	谷森	国昌	男薫	小澤	富弘	夫忠	菅豊	沼田	信長	彦康	鈴成	田橋	正鉄	利収
野水	口野	金一	良一郎	辻花	征博	治之	藤望	田月	公	生修	正山	本	稔	夫彦
余語	野語	郁	夫	箕吉	文	彦								

北陸支部 支部評議員 (22名)

赤打	祖父	一忠	知雄	新大	居川	隆央	荒太	木田	克昌	己郎	岩岡	崎田	雅謙	志郎
風小	林間	泰文	藏和	加斎	藤藤	修滋	太小	池水	浩真	司夫	越高	田林	一晴	潔夫
山崎	辻鳥	哲洋	也洋	原山	田田	典良	生野	野田	紀	知	村	上	弘	一

関西支部 支部評議員 (90名)

足稻	高葉	善俊	彦夫	石岩	田浅	章彦	市植	川木	文徹	雄実	伊後	藤山	尚一	裕久
梅岡	咲伸	直伸	彦俊	歐岡	田田	東弘	大岡	谷田	裕	郎作	大奥	橋田	喜代	友司

明隆久隆基二通介哉保人樹修史二二吾修
 和 博文博賢尋良哲 正泰 正雄亮晋
 山田智治 倉田野村木澤井本宅田本辺田
 片龜倉佐島高玉仲野茨藤堀松三村安山吉
 行司城弘正造章郎生孝吾彦美侃英彦保夫
 善隆 和泰俊 敏光和信美清 光勝雅希
 野脇伯里井中地村田井井宮宅車田田本
 寛假北佐七泰竹寺野濱藤細松三六安山矢
 司郎哉二実瞭雄之伸幸恒浩雄治男晴行宝三
 啓征雅慎 秀芳吉孝正 英洋紀義則 栄
 倉藤村森田木内 川村岡原庄橋本本崎本辺
 小加北小繁鈴竹辻西橋福藤本三宮森山山渡
 博治利伸吾洋登美弘稔宏司彦也典肇理雄博
 洋武光俊 克貴 壽祐順和 樹貴
 野岡本田田並崎本山間口野越本崎川野元本
 奥勝岸越真杉高塚中羽樋藤堀松宮森矢山脇

中国四国支部 支部評議員 (44名)

久之征文郎壽也之孝均弘
 武一 尚一久幹利俊 忠
 東田川藤野橋塚 内岡本
 伊上香工河高中秦堀森吉
 彦任三夫豊郎脩敦介二隆
 東経紘泰秀健^太 敬康信
 谷橋濱西斐橋賀井井崎田
 池今大川己高奈永福宮吉
 夫徹亞弥子春輔彦保男好
 幹 清裕利克康 征雅
 川井井田岡保藤村藤川山
 井稲碓川栗神内中半宮横
 郎春憲晴巳郎史満省幸司
 次昌克正裕太博 保修
 敬藤田田文印原原田尾野
 東伊上謙公執瀧中原見山

九州支部 支部評議員 (45名)

晃夫昭郎之輝彦正弘明人
 成幸秀哲博知正廉政英明
 永田野本川田村富 崎
 岩長川佐久田津中納東増森
 三通郎弘夫幸雄司郎蔵郎
 俊利哲俊久信仁久喜^八大志
 丸 野藤沖中野原 内
 市沖河後角田中櫛秦堀宮
 之忠彦幸郎温平美士樹勇
 博好英弘哲 廉由進正
 名井桐池島中成田田施尾
 伊是大片小鮫田友詠野布松
 司史一一敏浩保弘裕一平夫
 厚隆敏淨正一通雅雅隆講徳
 口宮上澤野内枝村崎野浦氣
 井宇津尾熊佐竹戸中野姫松和

会 告

平成 11 年度日本不妊学会学術奨励賞について

日本不妊学会雑誌第 43 巻 1～4 号に掲載された原著論文で、その筆頭著者が掲載時に満 40 歳以下である論文を対象に、平成 11 年度日本不妊学会学術奨励賞の推薦を受付けます。

推薦資格は、本学会の理事、評議員、大学教授、学会誌レフリーに限り、所定の書式による推薦は平成 11 年 4 月末日まで受付けます。

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

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

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

推薦は、平成 11 年 4 月 30 日(木)までに(社)日本不妊学会事務局へお送り下さい(消印有効)。

[お問い合わせ・書式請求・推薦書送付先]

〒 102-0083 東京都千代田区麹町 5-4 クロスサイド麹町ビル 8 階
(社)日本不妊学会事務局
TEL 03-3288-7266(ファクシミリ兼用)

日本不妊学会学術奨励賞推薦書

日本不妊学会理事長 殿

下記の論文を日本不妊学会学術奨励賞に推薦いたします。
(論文名)

日本不妊学会雑誌 第43巻__号__～__頁(平成10年__月)

(筆頭著者氏名 生年月日)

生年月日：__年__月__日

(推薦理由)

平成__年__月__日

推薦者所属・現職

氏名

印

日本不妊学会雑誌

第44巻 第2号

平成11年4月1日

—目 次—

レプチンと生殖生理	佐川典正	1
精囊蛋白である精子運動抑制因子の生殖生理学的役割について	岩本晃明	7
ピル認可後の避妊法の変化—フランス・アメリカの避妊事情と比較しての考察—	菅 睦雄	13
原 著		
多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)と生活習慣病の関連性—体脂肪分布の観点から—(英文)	堂地 勉, 沖 利通, 丸田邦徳 桑波田理樹, 山崎英樹, 永田行博	23
ICSIを施行した婦人において加齢が多核胚の発生頻度におよぼす影響	藤井好孝, 本山洋明	31
予定月経発来前のhCG β 値による妊娠診断ならびにその予後判定に関する検討	假野隆司, 古殿正子, 加納万里子 石井みさ子, 後山尚久, 植木 實	37
カルシウムイオノフォアで処理したヒト精子を用いたアクロビーズテストの有用性(英文)	朱 亜明	43
ヒト卵巣表層上皮によるtPAならびにPAI-1の産生(英文)	大竹秀幸, 片渕秀隆, 田中信幸 福松之敦, 松浦講平, 岡村 均	51
In Vitroにおける着床前マウス胚のパルミチン酸とオレイン酸の酸化(英文)	王 公金, 辻井弘忠, M.A.M.Y.コンドカル	57
黄体機能評価における血中プロゲステロン値の変化と子宮内膜日付けの相関	上条隆典, 安藤一道, 伊藤理廣, 関 守利 山田清彦, 水沼英樹, 伊吹令人	63
男性不妊を主訴とした精巣腫瘍症例の検討	野澤英雄, 永尾光一, 原 啓 石井延久, 三浦一陽, 澤村良勝	69

二次性性腺機能不全症 30 例の治療経験

..... 野口和美, 武田光正, 斎藤和男
木下裕三, 岩崎 皓, 穂坂正彦 77

無精子症患者における azoospermia factor (AZF) の検討

..... 鈴木規之, 市川智彦, 太田 詔
細木 茂, 小宮 顕, 鈴木啓悦
湯浅讓治, 伊藤晴夫, 正井基之
村上信乃, 始関吉生, 山口邦雄 83

高感度尿中hCG検出試薬「MD367」を用いた体外受精血清検体に対するhCG半定量の検討

..... 田中宏明, 末岡 浩, 久慈直昭, 吉村泰典 91

症例報告

“やせ”を主訴に発見された男子性腺機能不全症の2例

..... 木村高弘, 池本 庸, 大石幸彦
東條克能, 佐野浩斎 97

地方部会講演抄録

..... 101

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 44, No. 2, 1999)

Japan Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Leptin and Reproduction	<i>N. Sagawa</i> ·····	1
Physiological Action and Role of Seminal Plasma Motility Sperm Inhibitor	<i>T. Iwamoto</i> ·····	7
Approval of the Pill and Changes to the Way Women Think about Contraception — A Comparative Study of the Situations in the France and United States —	<i>M. Suga</i> ·····	13
Originals		
Body Fat Distribution in Women with Polycystic Ovary Syndrome: Its Implication in the Future Risks for Life Style-Associated Diseases	<i>T. Douchi, T. Oki, K. Maruta R. Kuwahata, H. Yamasaki and Y. Nagata</i> ·····	23
The Effect of Maternal Age on the Frequency of Multinucleated Embryos in Patients Undergoing Intracytoplasmic Sperm Injection.	<i>Y. Fujii and H. Motoyama</i> ·····	31
Diagnosis of Pregnancy and Prognosis by hCG β Value before Onset of the Scheduled Menstruation	<i>T. Kano, M. Furudono, M. Kano M. Ishii, T. Ushiroyama and M. Ueki</i> ·····	37
Usefulness of the Acrobeads Test Using Human Spermatozoa Treated with Ca Ionophore	<i>Y. Zhu</i> ·····	43
Human Ovarian Surface Epithelial Cells can Produce Tissue-type Plasminogen Activator and Plasminogen Activator Inhibitor-1	<i>H. Ohtake, H. Katabuchi, N. Tanaka Y. Fukumatsu, K. Matsuura and H. Okamura</i> ·····	51
The Oxidation of Palmitic and Oleic Acids by Preimplantation Mouse Embryos Cultured <i>In Vitro</i>	<i>G. Wang, H. Tsujii and M.A.M.Y. Khandoker</i> ·····	57
Correlation between Endometrial Dating and Progesterone Secretion in the Evaluation of Corpus Luteum Function.	<i>T. Kamijo, K. Andoh, M. Itoh, M. Seki K. Yamada, H. Mizunuma and Y. Ibuki</i> ·····	63
Analysis of Patients with Testicular Tumor and the Chief Complaint of Male Infertility	<i>E. Nozawa, K. Nagao, H. Hara N. Ishii, K. Miura and Y. Sawamura</i> ·····	69

Hypogonadotropic Hypogonadism — Diagnosis and Treatment of 30 Cases —

..... K. Noguchi, M. Takeda, K. Saitoh
Y. Kinoshita, A. Iwasaki and M. Hosaka 77

The Azoospermia Factor (AZF) in Azoospermia Patients

..... N. Suzuki, T. Ichikawa, S. Ohta
S. Hosoki, A. Komiya, H. Suzuki
J. Yuasa, H. Ito, M. Masai
S. Murakami, Y. Shiseki and K. Yamaguchi 83

Examination of Semi-quantification for hCG in Serum Sample of *In Vitro*

Fertilization Using a Sensitive hCG Qualitative Urine Test "MD367"

..... H. Tanaka, K. Sueoka, N. Kuji and Y. Yoshimura 91

Case report

Two Cases of Male Hypogonadism Accompanied by Light Body Weight

..... T. Kimura, I. Ikemoto, Y. Ohishi
Y. Tojo and H. Sano 97

レプチンと生殖生理

Leptin and Reproduction

京都大学大学院医学研究科婦人科学産科学教室

佐川典正

Norimasa SAGAWA

Kyoto University Graduate School of Medicine, Department of Gynecology and Obstetrics

Kyoto 606-8507, Japan

緒言

脂肪細胞は従来エネルギーの貯蓄組織としてのみ考えられてきたが、最近、TNF- α など様々な生理活性物質を産生していることが明らかになり、生体最大の内分泌臓器として注目されるようになってきた。なかでもレプチンは脂肪細胞由来の新しいエネルギー代謝調節因子として注目されており、摂食調節因子として肥満の治療への応用の可能性もあり、活発な研究が行われている。また、レプチンには生殖機能調節因子としての作用があることも知られている。さらに、最近我々はレプチンがヒト胎盤絨毛細胞でも産生されていることを見出した。本稿では、生殖生理におけるレプチンの役割とヒト胎盤由来ホルモンとしてのレプチンの意義について、我々の成績を含めて概説する。

1 エネルギー代謝情報の担い手としてのレプチン Colemanによる遺伝的肥満マウス(*ob/ob*マウス)

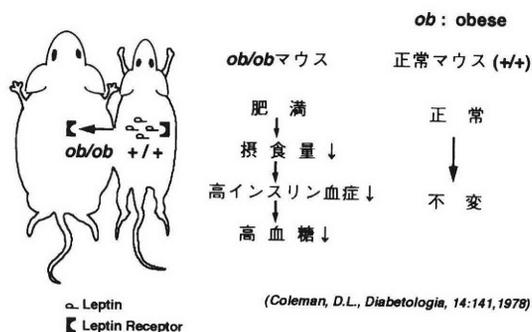


図1 *ob/ob*マウスと正常マウスの併体結合実験

と正常マウスとの併体結合実験を図1に示す。*ob/ob*マウスは遺伝的に肥満で、過食、高血糖、高インスリン血症を呈する。両者を手術的に結合すると、正常マウスでは変化なかったが、*ob/ob*マウスの摂食量は抑制され、高インスリン血症や高血糖は正常化した¹⁾。このことは、正常マウスから何らかの因子が*ob/ob*マウスへと移行し、*ob/ob*マウスの各種のエネルギー代謝異常を是正したことを示している。この因子の遺伝子は、Colemanの実験から約20年たった1994年にFriedmanらのグループによりcloningされ²⁾、その遺伝子がcodeする蛋白は、ギリシャ語で「やせ」を意味する"leptos"からleptinと命名された。

これとは別に、Colemanは、遺伝的に肥満と高血糖を有する*db/db*マウスと正常マウスを併体結合すると、*ob/ob*マウスの場合とは異なり、正常マウスの摂食量が低下し餓死することを報告している¹⁾。一方、*db/db*マウスには変化は生じない。この結果は、*db/db*マウスには摂食抑制因子が過剰に存在するにもかかわらず、その因子に対する感受性が欠如していることを示している。すなわち、摂食抑制因子に対する受容体に異常があることを示している。この実験から約20年後の1995年に、Tartagliaらによってレプチン受容体としてcloningされた^{3,4)}。レプチン受容体の細胞内ドメインは、IL-6受容体のgp130と共通の構造をしており、Janus kinase-STAT系を介してシグナル伝達が行われることが知られている。Janus kinase-STAT系の特性からすると、レプチンは標的臓器により様々な生理作用を有する可能性が推測される⁵⁾。

脂肪細胞由来の新しいエネルギー代謝情報の担い

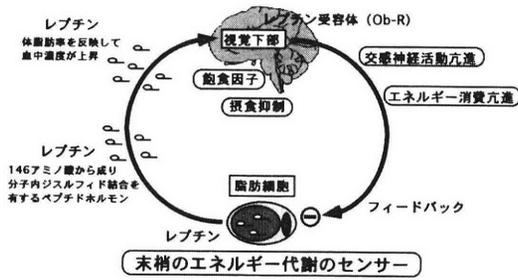


図2 生体の新しいエネルギー代謝情報の担い手
—レプチン—レプチン受容体系—

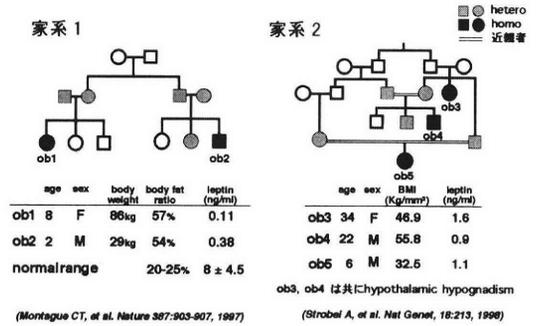


図3 人におけるレプチン欠損家系

手としてのレプチンの作用経路を図2に模式的に示した。すなわち、摂食量が十分で脂肪細胞からのレプチン分泌が増加すると、視床下部のレプチン受容体に作用しneuropeptide Y分泌を減少させ、食欲が抑制される^{6,7)}。同時に、交感神経系の活性化や運動量の増加等によりエネルギー消費を促進し、食欲低下と併せて、体脂肪量を減少させる方向にはたらくと考えられている⁸⁾。実際、動物モデルでもヒトでも、血中レプチン濃度は摂食量や肥満度と良く相関することが明らかとなった⁹⁻¹²⁾。このように、レプチンは脂肪細胞由来の新しいエネルギー代謝情報の担い手であることが明らかになり、これまで単にエネルギーの貯蓄組織としてのみ捉えられてきた脂肪組織は、生体最大の内分泌臓器として注目されることとなった。

2 生殖機能調節因子としてのレプチン

レプチン遺伝子に異常があり正常に機能するレプチンを持たない遺伝的肥満のob/obマウスでは、雌雄ともに生殖機能を欠如しているが、外因性にレプチンを投与すると機能が回復し、妊娠可能となることが報告¹³⁾されている。また、レプチンを欠如したob/obマウスにヒトレプチン遺伝子を発現させると、妊娠能が回復する¹⁴⁾。一方、正常未熟マウスに外因性にレプチンを投与すると、性周期が早期に発現する^{15,16)}。さらに、正常マウスを飢餓状態にすると血中レプチン濃度は低下し、性周期の異常が起こるが、これはレプチンを投与することで回復できる¹⁷⁾。これらの知見は、レプチンが生殖機能の維持に必須であること¹⁸⁾を示している。

ヒトにおいてもレプチン欠損家系が、1997年¹⁹⁾と1998年²⁰⁾に2家系報告された。いずれの系でもheterozygoteでは発症しないが、homozygoteではob/obマウスと同様に小児期から極端な肥満があり、血中

レプチン濃度は極めて低値で、高脂血症や高血糖を呈している(図3)。これらの患者では、FSH, LH共に低値で、GnRHに対しては反応性を有することから、hypothalamic hypogonadismの状態であると考えられる。

1998年には、レプチン受容体欠損家系も報告²¹⁾された。この場合も、homozygoteのみが発症するが、db/dbマウスと同様に、血中レプチン濃度は500~700ng/mlと正常の50~100倍高値を示している。3例ともFSH, LH, estradiol濃度は低値で原発性無月経で二次性徴を認めないとされている。

症例報告ではあるが、これらの知見はヒトにおいてもレプチンがエネルギー代謝調節因子としてだけでなく、生殖機能の調節因子として重要な役割を果たしていることを示唆している。

これまで述べた現象は、レプチン遺伝子あるいはその受容体遺伝子の異常による、レプチン欠乏状態によるものであったが、逆に、レプチンが過剰量存在した場合の生殖機能への影響に関しては、未だ一定の見解が得られていない。現在我々は、京都大学第2内科中尾教授らとの共同研究で、出生後レプチン遺伝子が肝臓に過剰発現するtransgenicマウスを用いて、視床下部・下垂体・卵巣機能におけるレプチンの意義を検討している。

レプチン過剰発現transgenicマウスの血中レプチン濃度は正常の10倍以上高値を示し、体重は正常の約70%で、肉眼的にも組織学的にも脂肪組織を全く認めない。これまでのレプチンの生殖機能に及ぼす影響に関する報告は、TNF-αなど様々な生理活性物質を分泌することが知られている脂肪細胞の存在下での検討であったが、このtransgenicマウスを使用することにより脂肪細胞の影響を除外し、純粋にレプチンの影響のみを解析することが可能と考えられる。

表1 レプチン過剰発現Tgマウスと他の脂肪組織異常モデル動物の比較

	<i>ob/ob</i> マウス	aP2/A- <i>zip</i> Tgマウス	Leptin Tgマウス
血中レプチン濃度	極めて低値	極めて低値	高 値
脂肪組織	増 加	消 失	消 失
肝 臓	腫 大 脂質含量↑ グリコーゲン含量↑	腫 大 脂質含量↑ グリコーゲン含量↑	縮 小 脂質含量↓ グリコーゲン含量↓
血中代謝 パラメーター	高血糖 高脂血症	高血糖 高脂血症	正常血糖 低脂血症
インスリン感受性	インスリン抵抗性	インスリン抵抗性	インスリン感受性亢進
生殖機能	なし	低下	あり

表2 レプチンの生殖機能調節作用

■ 神経内分泌調節作用

NPY↓ ACTH↓
GnRH↑ FSH↑ LH↑ PRL↑ TSH↑

■ 生殖機能調節作用

性周期回転の加速
二次性徴の早期発来
子宮・卵巣重量の増加
睪丸・精嚢重量の増加

卵巣でのエストロゲン産生を反映していると考えられる腔開口時期を、レプチン過剰発現transgenicマウスと正常マウスとで比較すると、正常対照群では生後25日目から徐々に腔開口が進み、観察した10匹全部の腔が開口するまでに34日目まで9日を要したが、transgenicマウスでは、生後24日目から腔開口が認められ、しかも6日後の30日目には10匹すべてで腔開口が認められた。この結果は、脂肪が全く存在しない状態下でも、レプチンは性周期の発来を促進することを示している。卵巣の組織所見や子宮湿重量の比較でも、transgenicマウスでは性周期が促進されていることを支持する成績が得られた(著者ら, Nat Med投稿中)。

脂肪組織は生殖機能の発現に密接に関与していることが知られているが、レプチン過剰発現transgenicマウスとその他の脂肪組織異常モデル動物の生殖機能を含めた表現型を表1に比較した。*ob/ob*マウスは正常な機能を有するレプチンが存在しないため、脂肪組織は増加している^{2,13)}。aP2/A-*zip* transgenic

マウスでは、A-*zip*という特殊な遺伝子を組み込んで脂肪細胞を破壊しているため、レプチンは極めて低濃度でかつ脂肪は消失している²²⁾。これら両者とも、機能するレプチンを欠如しているため、肝臓は腫大し高血糖やインスリン抵抗性があり、生殖機能は低下ないし欠如している^{2,13,22)}。これに対して、今回検討したレプチン過剰発現transgenicマウスでは、脂肪組織が消失している点ではaP2/A-*zip* transgenicマウスと同様であるが、血中レプチン濃度は高値で、肝臓は縮小している。血糖値は正常で、インスリン感受性はむしろ亢進している。そして、問題の生殖機能は、脂肪組織を欠如するにも関わらず、正常ないしは正常より促進されていた。

以上の成績は、脂肪組織由来の物質のうち、レプチンが生殖機能の調節因子として主要な役割を果たしていることを示唆している。

表2にレプチンの主な生殖機能調節作用をまとめた。摂食抑制作用や交感神経活動性亢進作用の他、下垂体ではACTH分泌の抑制やTSH, FSH, LH, PRL分泌の促進など、神経内分泌調節作用が報告^{8,23,24)}されている。さらに、この神経内分泌調節を介して下段に示すような生殖機能の調節が行われると考えられる。

3 ヒト胎盤由来ホルモンとしてのレプチン

非妊婦においては脂肪細胞がレプチンの主要産生臓器であるが、最近、我々はレプチン遺伝子がヒト胎盤絨毛細胞でも発現しており、レプチンを母体および胎児血中へと分泌していることを見出した²⁵⁾。

非妊婦では血中レプチン濃度はbody mass index (BMI)と比例するが、妊婦血中レプチン濃度はBMI

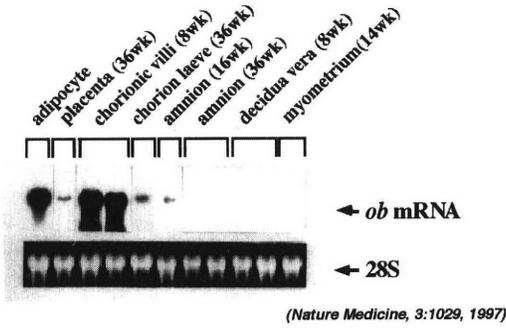


図4 妊娠子宮内組織におけるレプチン遺伝子発現
—Northern blot法による検討—

にかかわらず非妊婦の数倍高値を示していた。また、妊娠初期よりも中期および末期の方が高値を示し、胎盤娩出後には速やかに非妊時のレベルに低下した²⁵⁾。これらの成績は、妊婦血中に増加するレプチンは胎盤由来である可能性を示唆している。

実際、妊娠子宮内組織におけるレプチン遺伝子発現をNorthern blot法にて検討すると、妊娠初期絨毛組織に最も強い発現が認められ、妊娠末期胎盤組織や妊娠中期の羊膜組織にも弱いながらも発現が見られた(図4)。免疫染色では、レプチンは胎盤絨毛組織とくに、syncytiotrophoblastに最も強く染色された²⁵⁾。

また、分娩時に採取した臍帯静脈血中のレプチン濃度が臍帯動脈血中濃度より高かったことから、胎盤で産生されたレプチンは胎児側へも分泌されていると考えられた²⁶⁾。このことは、新生児期に血中レプチン濃度が有意に低下することからも支持される。

つぎに、絨毛細胞の異常を伴う妊娠中毒症および絨毛性疾患患者の血中レプチン濃度を検討した。まず、重症妊娠中毒症合併妊婦では正常血圧対照妊婦群の約3倍高値を示していたが、このように極めて高いレプチン濃度が、帝王切開術の4時間後には正常妊婦のレベルにまで低下し、24時間目には、正常非妊婦のレベルにまで回復した²⁷⁾。この成績は、妊娠中毒症合併妊婦の血中に増加したレプチンは、主に胎盤でのレプチン遺伝子発現の亢進に由来することを示唆している。実際、重症妊娠中毒症合併妊婦の胎盤組織ではレプチン遺伝子発現の亢進が認められた。動物実験ではあるが慢性的にレプチンを投与すると血圧が上昇することが報告²⁸⁾されており、このように高濃度のレプチンが、何らかの形で母体の高血圧の悪化方向に作用している可能性も考えられ

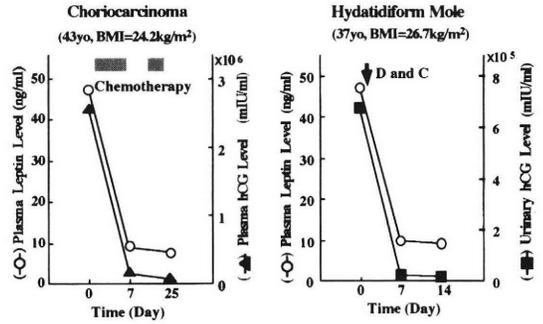


図5 絨毛性疾患治療経過中の血中レプチン
およびhCG濃度の推移

る。なお、ヒト胎盤絨毛でのレプチン遺伝子発現の亢進にはprotein kinase Aとprotein kinase Cの活性化が関与していることが報告²⁹⁾されており、妊娠中毒症胎盤でのレプチン遺伝子発現亢進との関連が推測されている。

つぎに、絨毛細胞の異常増殖を伴う絨毛性疾患患者の血中レプチン濃度は、body mass indexをマッチさせた非妊婦、あるいは正常妊娠初期妊婦いずれと比較しても、数倍高濃度を示した。また、胞状奇胎組織ではレプチン遺伝子発現が著しく亢進していた³⁰⁾。絨毛癌および胞状奇胎の治療経過中の患者血中レプチン濃度の推移を図5に示した。化学療法あるいは胞状奇胎組織の除去後、血中レプチン濃度は速やかに低下した。治療開始後1週間目には、血中hCG濃度はまだ数万単位と高値であったが、血中レプチン濃度は正常非妊婦の値にまで低下していた。これはレプチンの血中の半減期が数時間とhCGのそれより短いことによると考えられる。

胎盤由来レプチンの機能的意義について理論的に

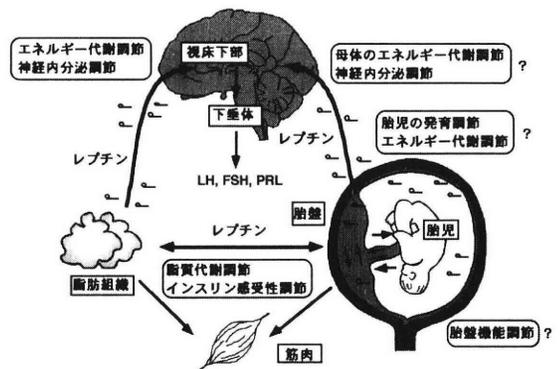


図6 胎盤(栄養膜細胞)由来レプチンの機能的意義

考える可能性を図6に模式的に示した。まず、胎盤から母体血中に分泌されたレプチンは、脂肪細胞由来のレプチンと同様に母体中枢への作用を介して母体のエネルギー代謝調節や神経内分泌の調節にも関与している可能性が考えられる。つぎに、脂肪組織や筋肉組織に作用して糖代謝や脂質代謝調節、とくにインスリン感受性の調節に関与する可能性が考えられる³¹⁻³³⁾。さらに、胎盤絨毛細胞から胎児循環へと分泌されたレプチンは胎児の発育やエネルギー代謝を調節する可能性が考えられる^{34, 35)}。最後に、胎盤にはレプチン受容体が存在することから autocrine 的に胎盤自身の増殖や機能分化に関与している可能性が想定される³⁶⁾。今後、動物モデルや *in vitro* の解析により、これらの可能性が明らかにされるものと期待される。

4 まとめ

以上、脂肪細胞由来のエネルギー代謝調節因子として発見されたレプチンが、生殖機能調節因子としての重要な機能を有すること、および新しい胎盤由来ホルモンとして多様な機能を有する可能性を紹介した。これまでの研究から、レプチンが排卵から妊娠の成立、維持、さらには胎児発育に至るまで、生殖現象の広範に亘って関与している可能性が示された。また、今回は紹介しなかったが、卵巣には機能を有するレプチン受容体の発現も報告されている³⁷⁾。しかし、レプチンと生殖生理に関する研究は始まったばかりで、未だ解明されていないことが多数残されている。近い将来、生殖現象におけるレプチンの役割の全容が解明されることを期待したい。

謝 辞

講演の機会を与えて頂いた不妊学会大会長永田行博教授、ならびに座長の労をお取り頂いた井上正樹教授に深謝致します。また、この研究の機会を与えていただいた森 崇英京都大学名誉教授、および藤井信吾教授に深謝致します。さらに、貴重な試料の採取にご協力頂いた関係者各位に心から感謝します。

共同研究者

京都大学大学院医学研究科婦人科学産科学教室
(主任：藤井信吾教授)

伊東宏晃、松本恒和、三瀬裕子、由良茂夫、Mercy A Nuamah

京都大学大学院医学研究科臨床病態医科学教室
(主任：中尾一和教授)

小川佳宏、益崎裕章、細田公則、中尾一和

参考文献

- 1) Coleman DL. (1978) Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia*. 14:141-148.
- 2) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 372:425-432.
- 3) Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, et al. (1995) Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*. 83:1263-1271.
- 4) Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, et al. (1996) Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: Identification of a mutation in the leptin receptor gene in *db/db* mice. *Cell*. 84:491-495.
- 5) Auwerx J and Staels B. (1998) Leptin. *Lancet*. 351:737-742.
- 6) Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, et al. (1995) Effects of the obese gene product on body weight regulation in *ob/ob* mice. *Science*. 269:540-543.
- 7) Halaas JL, Gajiwata KS, Maffei M, et al. (1995) Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*. 269:543-546.
- 8) Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, et al. (1995) Recombinant mouse OB protein: Evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*. 269: 546-549.
- 9) Ogawa Y, Masuzaki H, Isse N, et al. (1995) Molecular cloning of rat obese cDNA and augmented gene expression in genetically obese Zucker fatty (*fa/fa*) rats. *J Clin Invest*. 96:1647-1652.
- 10) Maffei M, Halaas J, Ravussin E, et al. (1995) Leptin levels in human and rodent: Measurement of plasma leptin and *ob* RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med*. 1:1155-1161.
- 11) Frederich RC, Hamann A, Anderson S, et al. (1995) Leptin levels reflect body lipid content in mice: Evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat Med*. 1:1311-1314.
- 12) Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, et al. (1996) Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*. 334: 292-295.
- 13) Chehab FF, Lim ME and Lu R (1996) Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nat Genet*. 12:318-320.

- 14) Ioffe E, Moon B, Connolly E, et al. (1998) Abnormal regulation of the leptin gene in the pathogenesis of obesity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95:11852-11857.
- 15) Chehab FF, Mounzih K, Lu R, et al. (1997) Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. *Science.* 275:88-90.
- 16) Ahima RS, Dushay J, Flier SN, et al. (1997) Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. *J Clin Invest.* 99:391-395.
- 17) Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, et al. (1996) Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature.* 382:250-252.
- 18) Cheung CC, Thornton JE, Kuijper JL, et al. (1997) Leptin is a metabolic gate for the onset of puberty in the female rat. *Endocrinology.* 138:855-858.
- 19) Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, et al. (1997) Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset of obesity in humans. *Nature.* 387:903-908.
- 20) Strobel A, Issad T, Camoin L, et al. (1998) A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet.* 18:213-215.
- 21) Clement K, Vaisse C, Lahlou N, et al. (1998) A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature.* 392:398-401.
- 22) Moitra J, Mason MM, Olive M, et al. (1998) Life without white fat; a transgenic mouse. *Genes and Dev.* 12:1368-1377
- 23) Yu WH, Kimura M, Walczewska A, et al. (1997) Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci USA.* 94: 1023-1028.
- 24) Shimon I, Yan X, Magoffin DA, et al. (1998) Intact leptin receptor is selectively expressed in human fetal pituitary and pituitary adenomas and signals human fetal pituitary growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 83:4095-4064.
- 25) Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, et al. (1997) Nonadipose tissue production of leptin: Leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med.* 3:1029-1033.
- 26) Yura S, Sagawa N, Mise H, et al. (1998) A positive umbilical venous-arterial difference of leptin level and its rapid decline after birth. *Am J Obstet Gynecol.* 178:926-931.
- 27) Mise H, Sagawa N, Matsumoto T, et al. (1998) Augmented Placental Production of Leptin in Preeclampsia: Possible Involvement of Placental Hypoxia. *J Clin Endocrinol Metab.* 83:3225-3229.
- 28) Shek EW, Brands MW, and Hall JE (1998) Chronic leptin infusion increases arterial pressure. *Hypertension.* 31[part 2]:409-414.
- 29) Yura S, Sagawa N, Ogawa Y, et al. (1998) Augmentation of leptin synthesis and secretion through activation of protein kinases A and C in cultured human trophoblastic cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 83:3609-3614.
- 30) Sagawa N, Mori T, Masuzaki H, et al. (1997) Leptin production by hydatidiform mole. *Lancet.* 350:1518-1519.
- 31) Cohen B, Novick D and Rubinstein M (1996) Modulation of insulin activities by leptin. *Science.* 274: 1185-1188.
- 32) Lepercq J, Cauzac M, Lahlou N, et al. (1998) Overexpression of placental leptin in diabetic pregnancy -A critical role for insulin-. *Diabetes.* 47: 847-850.
- 33) Wang J, Liu R, Hawkins M, et al. (1998) A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature.* 393: 684-688.
- 34) Cioffi JA, Shafer AW, Zupancic TJ, et al. (1996) Novel B219/OB receptor isoforms: possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. *Nat Med.* 2:585-589.
- 35) Hoggard N, Hunter L, Duncan JS, et al. (1997) Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc Natl Acad Sci USA.* 94: 11073-11078.
- 36) Sierra-Honigmann MR, Nath AK, Murakami C, et al. (1998) Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science.* 281:B3-B6.
- 37) Karlsson C, Lindell K, Svensson E, et al. (1997) Expression of functional leptin receptors in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab.* 82: 4144-4148.

(日不妊会誌 44:97-102 1999)

精囊蛋白である精子運動抑制因子の 生殖生理学的役割について

Physiological Action and Role of Seminal Plasma Motility Sperm Inhibitor

聖マリアンナ医科大学泌尿器科学教室

岩本 晃明

Teruaki IWAMOTO

Department of Urology St. Marianna University School of Medicine,
Kawasaki 216-8511, Japan

精囊からもっぱら分泌される精子運動抑制因子(Seminal plasma sperm motility inhibitor; SPMI)は精子の運動をコントロールする生理活性を持ち精子無力症の一因と考えられている。SPMI蛋白はdynein腕に存在するdynein ATPaseの活性を阻害することによって精子の運動を抑制する。これは除膜精子だけでなく、正常精子の運動をも止めたことから精子無力症の一原因に成っているものと思われる。しかしながら良好運動精子を有する精漿中も、運動不良な精子を有する精漿中でもSPMI活性は変わらなかった。このことはSPMIの精子細胞膜を介しての作用機序が想定された。また精囊液中のSPMI活性は精漿中の9倍あり、高分子であるSemenogelin(Seg)蛋白が射出中に前立腺特異抗原によって小さな分子に加水分解された結果であった。SPMIの前駆体が射出精液を凝固する蛋白、52kDaのSeg Iと71,76kDaの混合Seg IIと同一であった。そこでSPMIが精子の運動を抑制する分子機序を明らかにするためにBaculovirusを用いて昆虫細胞にSeg遺伝子の発現を試みた。その結果精製された組み替え型Seg I、II蛋白はnativeな蛋白と同等の精子運動を抑制する強い生物活性を有していたことが判明した。このSegの組み替え型蛋白の精製に成功したことは今後の男子不妊症、とくに精子無力症の原因究明の有力な武器になるものと思われる。

キーワード：精子運動抑制因子、精子無力症、セメノジェリン、精漿、精囊、

(日不妊会誌 44:103-108 1999)

精液は精子および各成熟過程にある精細胞あるいは他の細胞を含む有形成分と精漿という無形成分を含んでいる。後者の精漿はヒトの場合精巣から始まり精巣上体、精管膨大部、精囊、前立腺、カウパー腺(尿道球腺)そしてリトル腺(尿道腺)などからの分泌液が尿道への射出さらに尿道外への射精という過程の中でおそらく分泌の時間差とそれぞれの部位よりの分泌液がある一定の比率で混合されると思われる。ヒトにおいて精漿の主たる成分は精囊の分泌液が精漿液量の約60~65%を占め、ついで前立腺液が約15~25%を占めると言われている。また動物種間

によってかなり異なりそのため精液性状に差がでてくるがこれらの構成成分が精子に対してどのような働きを担っているか、十分には解明されていない。精漿は精子の輸送と運動性保持に重要な役割を演じていることは以前より知られている¹⁾。精囊から分泌されるものとして果糖、プロスタグランジンなどが知られている。前者は精子運動のエネルギー源として、後者は雄性性器における精子の上昇促進に働いていることが認められているものの、精囊の生理学的役割についてはまだまだ不明である。

筆者は精漿中に存在し精囊から分泌される精子運

動抑制因子(Seminal plasma sperm motility inhibitor, 以下SPMI)の精製分離に成功し、このSPMI蛋白の作用機序や生理学的意義について、また遺伝子の解析等、多方面から研究を進めていることからいくつかの知見を紹介する。

1981年Gagnonが精漿中に精子の運動を抑制する因子SPMIが存在することを発見した²⁾。筆者はこのSPMIが精子無力症の原因究明の糸口になるのではないかと考え1986年、Gagnonと共同でヒトとブタのSPMIの精製分離に成功した。

このSPMIは調べられたすべての哺乳類精漿中存在することが判明した³⁾。ウシの精漿に最も高濃度のSPMIが存在しつつヒト、ラム、ウサギの順であった。しかし一回の射精液あたりのSPMI量を見ると、ブタで一回の精液量が150~30mlも出ることからブタが一番多くSPMIが含んでいることになる。このSPMIの精製分離をブタおよびヒト精漿からそれぞれ行い、その作用機序、分泌機序、局在を明らかにした^{4,5)}。SPMIに対する抗体を作製し、その局在を免疫組織学的に検討したところ、光顕レベルでは精囊の細胞質と管腔内上皮表面に染色され、電顕像では細胞質内には認めず、精囊上皮のapical surfaceのmicrovilliのみに染色された⁶⁾。すなわちSPMIは精囊上皮表面に分泌されてはじめて抗原性を発揮する蛋白であることが判明した。そこで分泌機序を調べるために剖検より得られた組織抽出液および分泌液についてSPMI濃度を測定したところ、精囊液で600Units/mlと高値を示し、前立腺液をはじめとして他の組織にはSPMIを認めなかった。なお精漿中では44Units/mlであった。一方SPMI抗原量は精囊液が29.5 μ g/ml、精漿は19.1 μ g/mlで他の組織には存在しなかった。精囊液と精漿のSPMI濃度を比較すると、精漿の抗原量は精囊液より約65%低値となったことになる。これは精囊液量が精漿液量の約60%を占めることから単純に希釈されたとの理由で道理にかなったデータといえる。一方SPMI濃度をみると、理論上よりかなりSPMI濃度が低下したことになる。このことは多くの精漿蛋白が射出後直ちに小さな蛋白へ変換されることが知られており、SPMI蛋白も射出時、他の副性器よりの分泌液と混ざり、変性あるいは変化を来しSPMI濃度が低下するものと考えている⁷⁾。それではSPMIはどのような機序で精子の運動を抑制するのであろうか。SPMIは前述したダイニン腕に存在するdynein ATPaseの活性を容量依存性に抑制することからSPMIはダイニン腕の機能を障害することによって精子の運動をブロックすることを明

らかにした。さらに精子細胞膜を有し活発に運動する正常精子に対してのSPMIの影響を見たところ、SPMIの濃度依存性に運動率が低下し約1600Units/mlで運動が完全にストップした(図1)。1Unit/mlとは再賦活した除膜精子の運動をブロックするのに必要な最少の蛋白量として表している。従って精子細胞膜を有する正常精子の運動をストップさせるのに必要なSPMI量は、除膜精子の1600倍を必要とすることになる。すなわち精子細胞膜がSPMIの作用を阻止するのに十分な役割を果たしているものと思われる。またSPMIは精子の運動速度、精子鞭毛の振幅数にも濃度依存性に抑制的作用した⁶⁾。SPMIが濃度依存性に精子運動を抑制したことから、精子無力症患者の

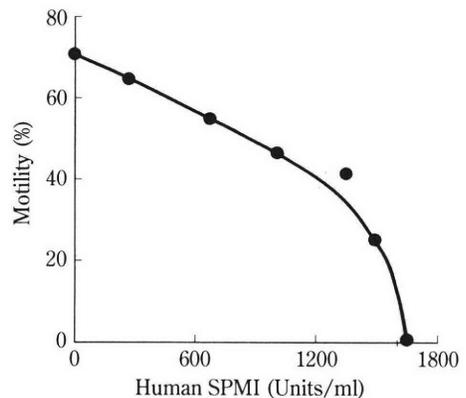


図1 SPMI蛋白が正常精子の運動におよぼす影響

健康男子より得られた精液から精漿を取り除くためにパーコール処理して得られた活発に運動する精子にSPMIを5分間反応させ精子自動分析機にて運動率を測定した。この結果精子はSPMIの低濃度で運動がストップするものもあれば高濃度でも運動し続けるものもある。すなわちそれぞれの精子の精子細胞膜自体の障害によるのではないかと推察された

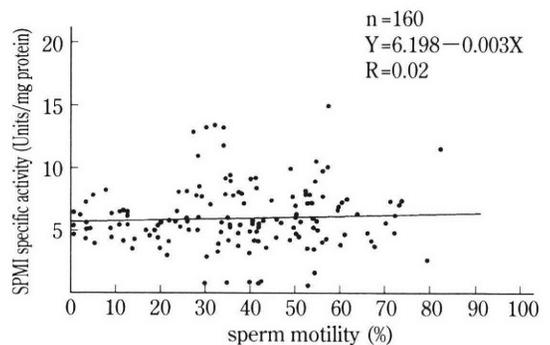


図2 精漿中SPMI濃度と精子運動率との相関

表1 男子不妊症患者の精漿中SPMI濃度と精子無力症の程度との関係

精 漿		SPMI ^a	
症 例	症 例 数	activity (Unit/ml)	specific activity (Unit/mg protein)
正常コントロール			
精子濃度 >40×10 ⁶ /ml 運動率 >60% 精子無力症	38	334.2±31.3 ^b	6.51±0.47 ^b
I. 40% < 運動率 < 60%	49	306.6±17.3 ^b	5.78±0.39 ^b
II. 20% < 運動率 < 40%	59	324.0±20.8 ^b	6.24±0.39 ^b
III. 0% < 運動率 < 20%	36	323.8±16.5 ^b	5.84±0.28 ^b

a Mean±SEM. b 有意差なし

精漿中SPMI濃度と運動率との関係を検討した⁸⁾。その結果精子無力症患者と正常の精液所見を持つ subfertile controlより得られた精漿とてSPMI濃度に有意の差を認めなかった。さらに運動率の程度でSPMI濃度を比較したが、表1、図2のように有意差および相関関係を認めなかった。これらの結果は精子の運動が不良な精子を含む精漿ではSPMIが高濃度に存在するのでは、と考えていた当初の考えと矛盾するものであった。すなわち精子無力症患者の精漿中に存在するSPMIが精子の運動を不良にさせている原因とはならないことを示唆している。と同時に、同じSPMI濃度の精漿中で活発に運動している精子もあれば、運動不良あるいは全く停止している精子も存在していることを意味している。これらの所見と前述しているが、活発に運動している精子に高濃度のSPMIを添加すると濃度依存性に運動が抑制されるとの結果を併せてSPMIの精子運動を抑制する機序を考えてみると、ひとつは精子細胞膜自体の障害によりSPMIが精子細胞膜を容易に貫通してダイニン腕に存在するdynein ATPaseの活性を低下させて運動を抑制する。2つ目はSPMIが精子細胞膜に付着しsecond messengerがdynein ATPaseの活性を抑制し精子の運動に障害を与えるとの考え方ができる⁹⁾。

それでは精子細胞内にSPMIが存在するののかとの疑問が起こる。de Lamirandeら¹⁰⁾は精子無力症患者より得られた運動不良な精子から精子内細胞抽出液(sperm extract)を作り、その中に1/3の症例で除膜精子の運動を抑制する因子が存在することを観察している。

一方活発に運動する正常精子の精子内細胞抽出液中には抑制因子が含まれていなかった。従ってこの精子内細胞抽出液中の運動抑制因子の存在は精子が運動不良となる原因のひとつに成り得ると考えられ

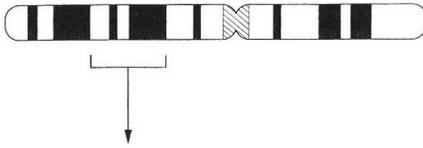
る。しかしながら現在のところこの抑制因子がSPMIであるとの確証が得られていない。

従来、分割射精の後半の分画は精囊から由来し精子運動に対して抑制因子が存在していると言われていたが、筆者らの研究により、このSPMIが抑制因子のひとつであることが明らかになった。精漿の主たる蛋白であるSPMIは、現在までのところ精子運動に対して悪玉としての役割しか明らかにされていない。しかし見方によっては駄目な精子の運動をストップさせて受精させないように精子のセレクションとして働く善玉的な役割を果たしている可能性も否定できない。

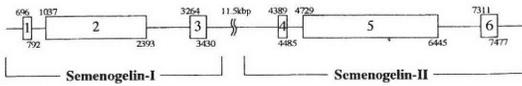
このSPMIの前駆体がすでにクローニングされているSemenogelin(Seg)¹¹⁾であることをRobertら¹²⁾が見いだした。Seg遺伝子は第20番染色体長腕に存在しSeg I、Seg IIの2種類が存在しそれぞれ3つのexonからなる4164bp、8224bpのDNAである(図3)。Seg I、Seg II蛋白は52および76kDaの塩基性蛋白で射出精液を凝固させるcoagulumの作用を有している。精囊より分泌されたSPMIの前駆体、Segは射出される際に前立腺液と混合され、前立腺液中の前立腺特異抗原(PSA)などのproteaseの作用により速やかに分解を受けさまざまな低分子量蛋白となる。この過程中に精子の運動が活発になっていくことが明らかになっている。SPMIの精子運動に対する作用機序を探るためには完全型で、活性、純度の高いSPMIが必要である。従来、精液からの精製分離は大量の精液を必要とし、教室の研究により、生成過程が短縮し、容易になったものの、まだまだSPMI活性を有する純度の高いSPMI蛋白の大量の精製は困難である。そこでSegの遺伝子工学的アプローチに着手した¹³⁾。

方法としてSeg I、IIのシグナルペプチドを含む1389bpおよび1981bpの全長蛋白cDNAをBaculovirus

A. Location : Chromosome 20, q12-q13.1



B. Genome : 6 exons in 13Kbp



C. Protein : Semenogelin-I ; 462 a.a. ; Semenogelin-II ; 582 a.a. } high homology (80%)

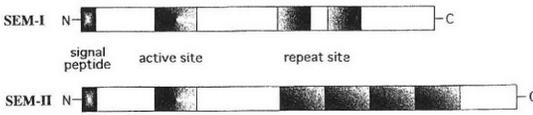


図3 Semenogelin遺伝子の局在と構造

のトランスファーベクターに組み込んだ。これをBaculovirusにトランスフェクトしSF 21細胞に感染させ、全長蛋白の発現しているvirusをクローニングした。純化したvirusを感染後、48時間培養したSf 21細胞中に発現された蛋白を抽出し、Ni-NTAresinを用いて精製した。精製した蛋白をSDS-PAGE, western blottingにて解析し、またこの蛋白が精子運動を抑制する生物活性を有するかをヒト精子を用いて検討した。その結果、Baculovirusを用いて発現させたSPMI蛋白は50%以上が可溶性で分子量はnative蛋白と同様Seg I, IIそれぞれ52および76kDaであった(図4)。抗SPMI抗体と強く反応し、Seg I, IIそれぞれが精子運動を抑制する強い活性を認め、ヒト精漿中から精製分離した天然型SPMIの約90%の活性であった(図5)。なお大腸菌を用いたヒトSPMI蛋白の発現も見したが量的には大量にとれるものの、Segの特徴である凝固作用が原因となり溶解することが困難で、尿素にて溶解可能であるがSPMI活性が低下してしまい、今後の研究に使えないことが分かった。Sf 21細胞中で発現させたSegはSeg I, IIともに可溶性であり、それぞれが単独でnative Segと同等のSPMI活性を有していることが明らかとなった。現在までにSeg I および II 単独でSPMI活性を測定した報告は無くSPMI活性はSeg I, IIの相互作用あるいはどちらか一方のみがその活性をになっていることも考えられてきたが今回の結果から両者の蛋白がSPMI活性を持つことも判明した。以上の結果は純度の高

いSegの大量生産を可能にしたことから、今後の研究の発展が大いに期待されることである。

おわりに

受精にとって必要な精子の条件として受精能獲得と先体反応である。これらの現象は精巣で完成された精子が男性副性器そして女性側の生殖路を通って卵に侵入するまでに行われ、この間に様々のドラマがある。精囊からの分泌蛋白について、我々の行ってきた研究の一端を紹介致したが、精子の運動の機序、運動不良な精子が出現する機序についてはまだまだ不明であり、研究の緒に着いたばかりである。現在、男子不妊症の治療方法がないことから、種々の方法によって採取した精子にART(assisted reproductive technology)を駆使していかにより運動能を高め、集めるかにかかっている。このような努力によって通常の体外受精における成績が着実に上がった

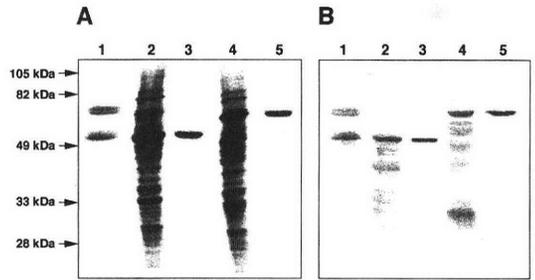


図4 精製Semenogelin I, II性質

Ni-NTAクロマトグラフィーによって精製されたSeg蛋白が10% SDS-PAGEによって分析された。A: CBB染色 B: ウェスタンブロット。レーン1: 天然Seg. 2: 精製前Seg I 蛋白. 3: 精製後Seg I. 4: 精製前Seg II. 5: 精製後Seg II

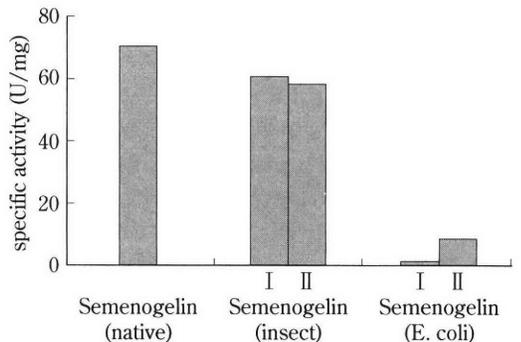


図5 精製したSemenogelinのSPMI活性

天然型Segと昆虫細胞と大腸菌で発現させたSegのSPMI活性

てきたが、男性因子、すなわち精子側に問題があるときには明らかに受精率、妊娠率が不良である。精子の運動機序の解明だけでなく、精子の質を判定する精子機能検査法の開発を含めて、我々臨床家と基礎医学者とのさらなる共同研究がぜひとも必要である。

本論文は第43回日本不妊学会学術講演会、教育講演で講演した一部であることを付記する。

本研究はMcGill大学医学部泌尿器科研究室Gagnon C., de Lamirande, エイジーン研究所古市泰宏博士、佐藤三佐子研究員、聖マリアンナ医科大学泌尿器科学教室村上純一博士、吉池美紀研究補助員との共同研究で行われた。

文 献

- 1) Mann T and Lutwak-Mann C (1981) General features of the seminal plasma. In: Male reproductive Function and semen composition of semen. Mann T, Lutwak-Mann C, eds. Springer-Verlag, Berlin, pp22-34
- 2) Gagnon C, Les Y, Bourget L, Bardin CW (1981) Control of sperm motility at the axonemal level: reactivation of demembrated spermatozoa from rabbit, rat and man. Can Fed Biol Soc Abstract, #73
- 3) de Lamirande E, Belles-Isles M and Gagnon C (1984) Characteristics of a seminal plasma inhibitor of sperm motility. Ann NY Acad Sci 438:125-131
- 4) Iwamoto T, Tsang A, Luterman M, et al. (1992) Purification and characterization of a sperm motility-dynein ATPase inhibitor from boar seminal plasma. Mole Reprod Develop 31: 55-62
- 5) Iwamoto T and Gagnon C (1988) Purification and characterization of a sperm motility inhibitor in human seminal plasma. Int J Androl 9:377-383
- 6) Iwamoto T, Tanaka H, Osada T, et al. (1993) Origin of a sperm motility inhibitor from boar seminal plasma. Mole Reprod Develop 3: 475-481
- 7) Luterman M, Iwamoto T and Gagnon C (1991) Origin of the human seminal plasma motility inhibitor within the reproductive tract. Int J Androl 14: 91-98
- 8) Iwamoto T and Gagnon C (1988) A human seminal plasma protein blocks the motility of human spermatozoa. J Urol 140: 1045-1048
- 9) 岩本晃明, 田中宏樹, 長田尚夫(1993) ヒト精漿中に存在する精子運動抑制因子の研究: 男子不妊症患者の精漿中濃度について. 日不妊誌 38:1-5
- 10) de Lamirande E, Sherins RJ and Gagnon C (1986) The presence of a motility inhibitor within spermatozoa may explain the poor sperm motility of some infertile men. J Androl 7:215-219
- 11) Liljya H, Abrahamsson P-A and Lundwall A (1989) Semenogelin, the predominant protein in human semen. Primary structure and identification of closely related proteins in the male accessory sex glands and on the spermatozoa. J Bio Chem 264:1894-1900
- 12) Robert M and Gagnon C (1994) Sperm motility inhibitor from human seminal plasma: presence of a precursor molecule in seminal vesicle fluid and its molecular processing after ejaculation. Int J Androl 17:232-240
- 13) Murakami J, Yoshiike M, Satoh M, et al. (1998) Characterization of recombinant precursor proteins of the human seminal plasma sperm motility inhibitor synthesized in insect cells. Int Molec Med 2: 693-700

Physiological Action and Role of Seminal Plasma Motility Sperm Inhibitor

Teruaki Iwamoto

Department of Urology St. Marianna University School of Medicine,
Kawasaki 216-8511, Japan

Human seminal plasma sperm motility inhibitor (SPMI) proteins which are exclusively secreted from seminal vesicles, inhibit sperm motility. SPMI has been found to be identical to Semenogelin (Seg) I, II a 52kDa and a mixture of 71 and 76kDa which are the major component of coagulum. The finding that the purified protein was potent dynein-ATPase inhibitor suggests that this is the mode of action SPMI on demembrated and intact sperm. SPMI was found to have a 9-fold higher specific inhibitory activity in seminal vesicle fluid than in seminal plasma. The difference turned out to be explained by the presence of 52kDa SPMI form in seminal plasma shortly after ejaculation which was rapidly transformed into smaller mass form by the prostate-specific antigen, during liquefaction. To understand the molecular mechanism underlying the inhibition of sperm motility by SPMI proteins, we expressed human Seg I and II genes in insect cells using a baculovirus system. Both the purified recombinant Seg I and Seg II showed strong SPMI activities with a complete inhibition of sperm

motility, equivalent to the natural proteins. This production system that permits the generation of purified Seg proteins, as well as mutant derivatives, will be helpful for further study on male infertility.

Key words : SPMI, Asthenozoospermia, Semenogelin, Seminal Plasma, Seminal Vesicle

(Jpn. J. Fertil. Steril., 44:103-108 1999)

ピル認可後の避妊法の変化 —フランス・アメリカの避妊事情と比較しての考察—

Approval of the Pill and Changes to the Way Women Think about Contraception

— A Comparative Study of the Situations in the France and United States —

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室

菅 睦 雄

Mutuo SUGA

First Department of Obstetrics and Gynecology,
Toho University School of Medicine, Tokyo 143-8541, Japan

はじめに

低用量経口避妊薬(ピル)が漸くわが国でも認可されることとなった今日、避妊事情はどのように変化して行くのだろうか、非常に興味のそそられるところである。カレル・ヴァン・ウオルフレンが「人間を幸福にしない日本というシステム」¹⁾で述べているように、「欧米の女性解放において、単独の一要因としては、避妊用ピルが手軽に入手できるようになったことほど役立ったことはない。これは広く認められているところだ。ピルのおかげで女性たちの人生が変わった。彼女たちの男性への経済的依存を大きく軽減することができたからである」とある。はたして、そうなのだろうか？

また、わが国における避妊法は、毎日新聞社の「第24回全国家族計画世論調査」²⁾でも明らかなように、コンドームによる避妊法が主体となっている。既婚女性の78%がコンドームで避妊しており、未婚女性では95%と世界では類をみないほどコンドームが使用されている。一部の専門家筋で、コンドームのおかげでエイズの日本上陸を防ぐことができていると指摘するほどである。確かに、コンドームは性感染症(STD)の予防には欠かすことのできないことは周知のところであろう。一方では、クラミジアや淋菌などによるSTDが増加している。とくに、若者の間での感染率は目を見張るものがある。はたして、ピルが使用されるようになると、コンドームの使用が

減り、エイズなどのSTDが蔓延して行くのだろうか？さらには、若者たちの間でピルが手軽に使用され、益々彼らの性行動が活発化し乱れて行くのだろうか？

一方、The Alan Guttmacher Institute(1995年)の報告³⁾によると、わが国の「望まれた妊娠での出産」は36%で、「意図しない妊娠での出産」が36%、「人工妊娠中絶」が25%とあり、意外と望まれた妊娠は少ない。フランスでは、「望まれた出産」が66%、「意図しない出産」12%、「中絶」は19%とある。アメリカは「望まれた出産」が43%、「意図しない出産」19%、「中絶」29%である。理想的な家族計画を図る上で避妊法の講じ方や考え方の違いが3カ国間にあるようにも思われる(図1)。ピルは、このような意図しない妊娠を避け、人工妊娠中絶は減少して行くのだろうか？などと、さまざまな疑問がわいてくる。このような疑

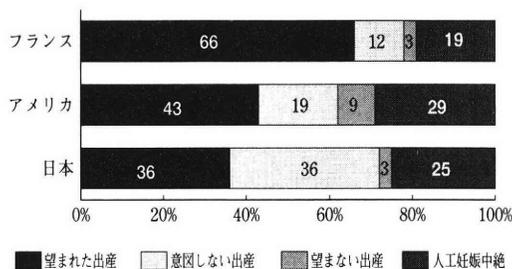


図1 日本、フランス、アメリカにおける妊娠の転帰

間について、フランスやアメリカの避妊事情を踏まえ、わが国の現状における性行動の実態と照らし合わせながら、低用量ピルが使用されるようになり、どのように変化していくのか推論してみたい。

現状分析-1:

日本、フランス、アメリカにおける避妊法の比較
各国における避妊法の実態をみるには、日本では毎日新聞社が隔年毎に行っている「全国家族計画世論

調査」²⁾がある。フランスではフランス政府の雇用・連帯省に基づき「Institut National d' Etudes Demographiques (INED)」と「Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques (INSEE)」が行っている「妊孕性と家族調査(Fertility and Family Survey)」⁴⁾がある。また、アメリカでは「全国家族構成力調査(National Survey of Family Growth; NSFG)」⁵⁾があり、いずれもが全国規模の調査である。それぞれの調査法は、当然のことながら異なり、日本は、現在実行中の避妊法を2つまでの記入方式、フランスやアメリカは面接調査を含め、実行中の主な避妊法をひとつ採択したものである。従って、3カ国間での比較は困難とは思われるものの、概ね避妊法の全体的な実態としての傾向を3カ国間でみるのには十分と考えるので、表1に示した。

これによると、日本は既婚女性のみを対象としたものであるが、周知のごとく「コンドーム」が77.8%と群を抜いて高い。しかも、オギノ式と基礎体温法を含めた「定期禁欲法」16.6%、「性交中絶法」が7.4%と続いているが、これらは男性の協力が不可欠な避妊法である。さらに、「子宮内避妊具(IUD)」3.1%、殺精子剤を含めた「腔内避妊法」1.9%、「ピル」1.1%とある。これら3者は女性が主体となる避妊法であるも使用率は全体として低い。いいかえるなら、日本

表1 日本、フランス、アメリカにおける避妊法の実態

	日本	フランス	アメリカ
調査年度	1998年	1994年	1995年
調査対象数	1,625名	2,944名	7,145名
避妊実行率	54.1	68.6	64.2
コンドーム	77.8	4.5	20.4
定期禁欲法	16.6	4.1	2.3
性交中絶法	7.4	2.4	3.0
IUD	3.1	16.0	0.8
腔内避妊法	1.9	0.6	2.3
ピル	1.1	36.3	26.9
その他	2.6	0.4	5.6
避妊手術	5.8	4.3	38.6
男性	1.2	0.2	10.9
女性	4.6	4.1	27.7

表2 フランスの年代別避妊法に関する実態(1994年調査)

	全体	20～24歳	25～29歳	30～34歳	35～39歳	40～44歳	45～49歳
避妊実行率	68.7	69.4	68.4	68.9	74.8	71.9	57.4
ピル	36.3	58.6	50.3	41	31.2	20.3	14.4
IUD	16	2.9	7.7	15	27.3	25.5	17.6
定期禁欲法	4.1	2.3	2.1	3.6	3.5	7.8	5.5
コンドーム	4.5	4	5.3	4.7	5.3	3.7	4
腔内避妊法	0.6	0.3	0.1	0.7	0.2	1.2	1.1
性交中絶法	2.4	0.7	2.4	2.2	1.8	5.1	2.2
その他	0.4	0.4	0	0.1	0.4	1.1	0.6
避妊手術	4.3	0.6	0.5	1.6	5.2	7	11.9
男性	0.2	0	0	0	0	0.1	1.2
女性	4.1	0.6	0.5	1.6	5.2	6.9	10.7
未実行	31.3	30.6	31.6	31.1	25.2	28.1	42.6
不妊手術	2.8	0	0	0	1.4	5.9	10.1
不妊症	3.8	0.4	0.7	2.5	2.9	4.7	12.3
妊娠中	4.3	3.6	11.4	7.1	3	0.2	0
拳児希望	4	2.9	8.5	7.6	3.2	1.1	0
相手がいない	11.1	21.3	7.5	8.6	10	9	10.5
子どもは欲しい・わからない	2.4	1.7	3.4	1.9	1.1	2	4.4
子供は要らない	3	0.8	0.1	3.4	3.5	5.4	5.3

は男性主導型の避妊法の形態をとっている。

フランスでは、未・既婚女性が対象となり「ピル」の使用が高く36.3%とある。ついで「IUD」16.0%で、「コンドーム」は4.5%と低率であり、女性主導型の避妊法の形態を取っている。一方、アメリカも未・既婚女性を対象とし、「避妊手術」が男女合わせ38.6%と高く、ついで「ピル」26.9%、「コンドーム」20.4%の順で、両性が巧く融合した形態を取っているともいえよう。また、全体として日本は避妊実行率が低いようにも思われる。

現状分析-2：フランスおよびアメリカの避妊事情

前述したフランスの避妊法の実態⁴⁾について、年代別にみると表2のごとくとなる。20歳前半の女性では、ピル服用が58.6%と最も高く、ついでコンドームの4.0%である。若い世代での避妊はピルしかないと思わせるほどの数値である。年齢が高くなるにつれ、ピルの使用が減りIUDへとシフトしている。それと同様に避妊手術も30歳後半から急速に増えている。また、定期禁欲法もわずかではあるが加齢とともに上昇している。コンドームの使用は各年代をとって5%前後で推移している。女性がコンドームで「避妊」と考えるのが10%以下に注目する必要がある。

一方、各年代をとって避妊未実行者は30%前後であるが、「相手がいない」、「妊娠中」、「子どもを望んでいる」、「不妊症」などを除いてみると、「望まない妊娠」のリスクを抱えているのは全年代で5%であり、避妊に対しては非常に高い意識で捉えており、

表3 アメリカの妊孕可能女性(15~44歳)の避妊の実行状況
(過去3カ月以内に性交渉のあるもので調査)

		1995年 (N=10,847)	
		避妊実行者	避妊未実行者
全体	15~44歳	64.2	5.2
	15~19歳	29.8	7.1
	20~24歳	63.5	6.0
	25~29歳	69.2	4.7
	30~34歳	72.8	4.4
	35~39歳	73.1	4.3
	40~44歳	71.4	5.1
人種/民族			
	ヒスパニック系	59.0	5.6
	非ヒスパニック白人	66.1	5.0
	非ヒスパニック黒人	62.1	7.0
総人口(×1,000人)		60,201	

しかも女性が主体となる避妊法で確実にできる方法を用いている。いいかえるなら、「望まない妊娠」を避けるためには、確実に女性自らの手で行うという考えが明らかといえる。

アメリカにおける全国規模の調査⁵⁾によると避妊実行中と答えるものが64.2%、未実行が35.8%とある。しかしながら、これらのうち子宮摘除などで避妊の必要がないもの5%、妊娠中・分娩後・妊娠希望が9%、性的関係がないもの11%、性的関係はあるものの過去3カ月間に性交渉を持たなかったもの6%とあり、実際に望まない妊娠のリスクを有していたのはわずか5.2%にすぎない。これを各年代別についてみても10歳代、20歳前半、40歳前半の群が5%を超えるほどである(表3)。また、年代別についても、10~20歳代女性ではピルの服用が中心で43~57%とあり、コンドームの使用も10歳代で36%、20歳代でも約4分の1は使用している。高齢になるにつれ避妊手術が増えている。コンドームの使用率が異なる点を除けば避妊に対する認識はフランスとほぼ同じといえよう。

次に未婚のカップルはどのような避妊法をとっているのだろうか? フランスでは、1970年頃より、未婚のままでも同棲生活を営むものが増え、結婚年齢の

表4 フランスの男女別同棲・非同棲者の
避妊法に関する実態(1994年調査)

	女性		男性	
	同棲	非同棲	同棲	非同棲
避妊実行率	70.0	50.9	70.6	46.6
ピル	36.1	36.9	37.6	25.6
IUD	20.0	6.5	19.7	1.0
定期禁欲法	5.2	1.5	5.3	2.2
コンドーム	4.6	4.4	4.2	17.0
腔内避妊法	0.6	0.4	0.6	0.1
性交中絶法	3.0	1.1	3.0	0.5
その他	0.5	0.1	0.2	0.2
避妊手術	5.1	2.4	5.0	0.0
女性	4.8	2.4	4.6	0.0
男性	0.3	0.0	0.4	0.0
未実行	24.9	46.7	24.4	53.4
不妊手術	3.4	1.2	2.2	0.0
不妊症	4.8	1.4	5.2	0.4
妊娠中	5.8	0.7	6.2	0.4
拳児希望	5.1	1.3	4.5	0.3
相手がいない	0.9	35.8	0.6	44.6
子どもは欲しい わからない	1.9	3.5	1.4	4.9
子供は要らない	3.1	2.9	4.5	2.9

遅れ、さらには離婚率も上昇しているといわれている。現代のフランスをまさに反映しているようでもある。その状況について触れてみたい。そこで姻戚関係を含む同棲者と非同棲者とに別けて、男女間の避妊法について調べている。非同棲女性ではピルが36.9%と高く、そしてIUD6.5%、コンドーム4.4%の順となっている。同棲女性も同様な傾向でありピル36.1%、IUD20.0%、コンドーム4.6%で、定期禁欲法が5.2%とわずかながら高くなっている。一方、男性についてみると、同棲者では女性とほぼ同じ避妊法の数値が示されているものの、ピルのみが37.6%と少し高めの数値で1.5ポイント高い。逆に非同棲者ではピルが25.6%とあり同じ非同棲女性に比べ11.3ポイント低い値を示している。IUDも同じように5.5ポイントも低い。逆に、コンドームが17%と12.6ポイントも高値を示している(表4)。共に相手側の避妊法について過少評価をしている。さらに、注意する点として単身女性が調査時に性的活動がない場合で

もピルやIUDを継続して使用しているという可能性があること、男性においてはコンドームの使用が低下することなどを指摘している。この留意点を考慮しても、フランスではお互いのパートナーとの関係の強さに応じた避妊法が選択されているようである。また、非同棲の女性は必ずしも相手に避妊法を告げていないようでもある。

フランスにおける避妊法の変遷を表5に示す。ピルの使用者は、1978、1988、1994年とそれぞれの間5.5、6.4ポイント上昇している。IUDは、10.3ポイントの上昇から、3.1ポイントの減少、コンドームは-0.7、+2.6ポイント、性交中絶法と定期禁欲法は、各年度間に減少が見られている。避妊手術も減少しており、最近の傾向としてはピルとコンドームの上昇が示されている。このコンドームの上昇は当然のことながら、HIV感染からの予防のための増加であることはいうまでもない。一方、ピルの上昇は、処方者である医師のほうにも変化が見られ、若い女性に対しては避妊もさることながら月経周期を安定化させる考えも持って処方し、中高年女性に対しては、更年期症状の予防を兼ね処方する医師も増えてきているようである。この理由として、より副作用の少ないミニピルや第三世代のピルが利用できるようになったためと指摘している。

図2は年代別にピルとIUDの各年度間で比較したものである。ピルについては、1973年から1983年にかけて20歳前半の服用者が急増していることが明らかであり、1994年には1983年に比べ各年代層で上昇していることが示されている。さらに40歳前半と後半でのピルの服用率が同じ比率となっている。これは前述したように更年期症状の予防的使用によるものといえる。一方、IUDについては1973年から1988年

表5 フランス女性の避妊法に関する年次推移

	1978年	1988年	1994年
可逆的避妊法	67.8	67.8	67.7
ピル	28.3	33.8	40.2
IUD	8.6	18.9	15.8
定期禁欲法	8.3	6.1	3.9
コンドーム	5.9	5.2	7.8
腔内避妊法	0.8	2.5	0.9
性交中絶法	22.2	8.4	3.7
避妊手術	7.3	5.8	4.4
避妊目的	4.1	3.9	3
その他の理由	3.2	1.8	1.5

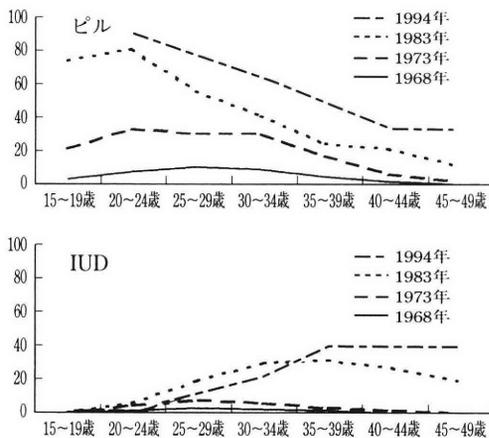


図2 フランスにおける年代別ピルおよびIUDの使用率の推移

表6 アメリカ女性の避妊法に関する年次推移

	1982年	1988年	1995年
可逆的避妊法	66.0	60.7	61.3
ピル	28.0	30.7	26.9
IUD	7.1	2.0	0.8
ホルモン避妊法(皮下・注射)	—	—	4.3
腔内避妊法	10.5	6.8	2.3
コンドーム	12.0	14.6	20.4
定期禁欲法	3.9	2.3	2.3
性交中絶法	2.0	2.2	3.0
その他	2.5	2.1	1.3
避妊手術	34.1	39.2	38.6
女性	23.2	27.5	27.7
男性	10.9	11.7	10.9

にかけて30歳以降の女性の使用が上昇しており、1994年では30歳前半の使用が減少し、35歳以降の年代では同じ使用率となっている。

このようにして、フランスでは各年代層において避妊法の特徴を理解した上で自分に合ったものを選択しているようである。

アメリカでの避妊法の年次推移については、ピルが1988年から1995年の間で3.8ポイントの減少を示し、逆にコンドームが1982年より、順次上昇しており13年間で8.4ポイントも上昇し、エイズキャンペーンの結果が確実に現れていることが伺われる(表6)。

それをさらに年代別で見ると若い世代ではピルの使用が減り、コンドームの使用の上昇が顕著である。教育レベルで見ると、11年以下や12年間の群では同様にピルの使用が減り、コンドームが上昇しているが、13年以上の高い群ではピルもコンドームも使用率が上昇していることが示されている(表7)。

アメリカでの避妊法は、若い世代では、ピルで確実に避妊をし、STDのリスクを考えるとコンドームの使用、そして高年代になるにつれ避妊手術へと移行していることが示されている。

表7 アメリカにおける主要避妊法の年次推移(年代別、姻戚別、教育期間別)

	避妊手術(女性)			避妊手術(男性)			ピル			コンドーム			子宮内避妊用具		
	82年	88年	95年	82年	88年	95年	82年	88年	95年	82年	88年	95年	82年	88年	95年
全体 15~44歳	23	28	28	11	12	11	28	31	27	12	15	20	7	2	1
15~19歳	0	2	0	0	0	0	64	59	44	21	33	37	1	0	0
20~24歳	5	5	4	4	2	1	55	68	52	11	15	26	4	0	0
25~29歳	14	17	17	6	6	5	35	45	39	11	16	24	10	1	1
30~34歳	31	33	29	15	14	10	16	22	28	12	12	18	9	3	1
35~39歳	42	45	41	18	20	19	6	5	11	12	12	17	8	3	1
40~44歳	45	51	50	23	22	20	1	3	6	11	11	12	6	4	1
姻戚状況															
未婚女性	4	6	9	2	2	1	53	59	44	12	20	30	5	1	1
最近結婚	27	31	31	16	17	17	19	21	20	14	14	17	7	2	1
既婚女性	39	51	49	3	4	4	28	25	21	2	6	15	12	4	1
教育レベル															
11年以下	40	52	54	8	7	6	22	23	14	9	6	14	12	4	1
12年間	27	34	38	14	15	13	28	29	22	9	11	15	6	2	1
13年以上	19	21	18	11	13	12	24	29	31	14	16	24	8	2	1
子供を持つとする意識															
ある	0	0	0	0	0	0	51	59	51	15	22	32	6	1	1
なし	40	46	46	19	19	18	13	13	13	10	10	13	7	3	1

表8 フランスにおけるコンドームの使用経験率(1994年調査)

—年代別、男女別、同棲有無別、期間別—

	全体	20~24歳	25~29歳	30~34歳	35~39歳	40~44歳	45~49歳
コンドームの使用経験有り							
男性	61	83	69	58	57	49	52
女性	46	58	53	41	42	44	37
過去1年間							
同棲男性	18	21	26	22	19	12	14
非同棲男性	61	74	60	65	48	42	34
同棲女性	14	20	23	16	11	8	8
非同棲女性	33	45	40	29	23	20	13
過去1ヶ月間							
同棲男性	7	8	8	7	11	4	5
非同棲男性	26	29	26	33	29	15	11
同棲女性	6	6	6	6	6	4	5
非同棲女性	10	17	8	6	8	8	1

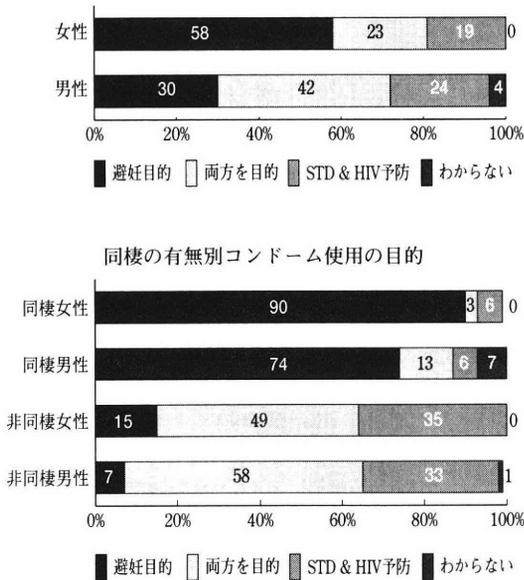


図3 フランスにおける過去1ヵ月間コンドーム経験者の使用目的

現状分析-3：コンドームに対するフランス人の考え

次にコンドームの使用経験に関するフランスの調査についてみると、コンドームの使用経験者は男性で61%、女性で46%と、現在コンドームによる避妊実行率に比べかなり高い数値が示されている。男性の20歳前半では83%と最も高く、年代が高くなるにつれ低下しているが約半数の男性はコンドームの使用経験者といえる。女性も男性よりは20歳前半で58%と高く以降低下している。過去1年間でのコンドーム使用経験者と過去1ヵ月での経験者の割合が後者で大きく減少しており、しかし非同棲者でコンドームの使用率は高い。このことは始めの頃の避妊法はコンドームで行い、お互いの関係が安定するようになると確実な避妊法へと移り変わっている。すなわち、コンドームは一時的な避妊法として捉えている(表8)。

過去1ヵ月間にコンドームを使用した彼らの目的についてみると、女性では避妊のみと答えるのが58%であり、STDやHIVの感染予防のみは19%、両者は23%という値である。男性は避妊のみが30%で、STD予防を考えるのが66%と高率であり、男性と女性の間でコンドームに対する意識が若干異なっているようである(図3)。

それを同棲者と非同棲者とに分けてみるとその意識の違いが明らかとなる。同棲女性のコンドームに対する考えは避妊が93%であり、STD予防は9%と少

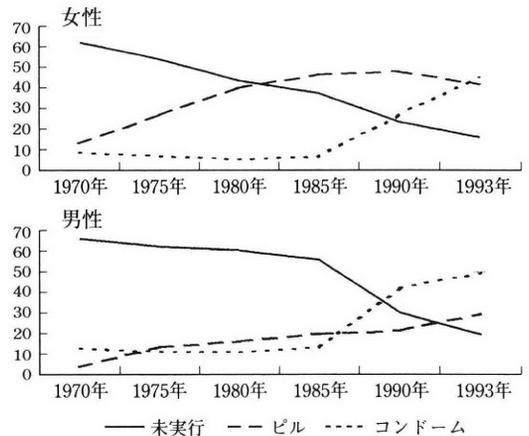


図4 フランス人の初体験時の避妊未実行率とコンドームおよびピル使用の年次推移

なく、非同棲女性は避妊のみが15%で、STDをも意識するのが84%と高い割合となっている。男性はSTD予防の考えがより顕著に現れている。このことは、「コンドームはSTDを予防する」という考えが強く浸透しているように思われる。また、女性がコンドームを避妊目的で使用するのは、ピルやIUDなどが使用できないためではないかとも考えられる。

現状分析-4：

フランス人の初体験における避妊に対する認識の変化

初体験時の避妊の有無とそのときのコンドームまたはピルの使用状況について、男女別に調べている(図4)。それによると女性は、1970年時では未実行率が60%であったのが直線的に減少し、1993年では20%を下回るほどとなっている。これは1985年頃までにピルの服用率が年次上昇していることからピルによる避妊の意識が高まったためといえよう。1985年から1990年はピル服用率が横這い状態となり、1993年では減少し、代わりにコンドームの使用が急増している。これは、1985年からのエイズキャンペーンを含めたSTDの問題についても認識を新たにしているものといえる。一方、男性は避妊未実行が1970年の60%半ばから1985年の50%半ばと大きな減少はみられず、しかも、相手女性のピル使用に対する認識も低く、避妊に関する若者男性の意識の低さが窺われる。しかしながら、1985年より避妊未実行が急速に低下しコンドームが上昇しているのは、エイズキャンペーンの成果ともいえよう。さらに、90年から93年にかけてコンドーム使用の伸びが緩徐となり、ピル使用率が上昇している。このことはお互い

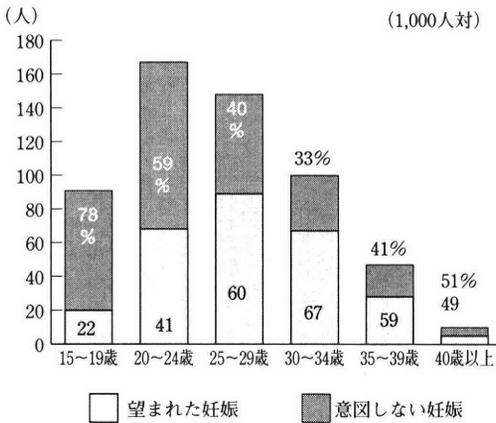


図5 アメリカ女性の望まれた妊娠と意図しない妊娠の比較

のカップルが避妊について話し合いができ、その会話の中にSTDの問題も組み込まれてきたためのと考えられる。

Warrenら⁶⁾のアメリカ高校生の性行動に関する報告によると、性交経験者は1990年男子で60.8%から1995年54.0%と減少し、逆に、女子では48.0%から52.1%と上昇しており、また最後に行った性交時のコンドームの使用率をみると、1991年の男子では54.5%であったのが、1995年では60.5%と6ポイントの上昇、女子38.0%から48.6%と10.6ポイントの上昇を指摘し、とくに、黒人男子にコンドーム使用率の上昇が著しいと述べている。

このようにして若者の間にも、女性にとっての確実な避妊法とSTD予防についての理解と実践が浸透されてきているともいえよう。すなわち、「望まない妊娠」とHIVを含めた「STDの問題」は教育レベルの重要性が指摘され若者の間に如何に浸透させていくかにある。

現状分析-5：望まない妊娠に関するアメリカの実情

アメリカの望まない妊娠に関するHenshowの報告⁷⁾によると、1994年の妊娠率は全体で対1,000人あたり90.8人とあり、そのうち「望まれた妊娠」が46.1人で、「意図しない妊娠」が44.7人とある。それを各年代別についてみると、20歳前半までは「意図しない妊娠」が78、59%と優位で、20歳後半と30歳代は60、67、59%と「望まれた妊娠」が優位となっている(図5)。しかも、全体では「意図しない妊娠」の帰結として54%が「中絶」を選択している。

これを年代別に「望まれた出産」、「意図しない出産」そして「人工妊娠中絶」の割合をみると、10歳代に

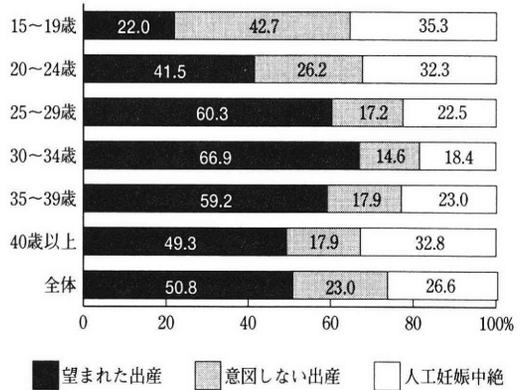


図6 アメリカ人女性の年代別妊娠の転帰

おいては「意図しない妊娠」であっても「中絶」を選択するよりも出産までに到っている割合が42.7%と高い(図6)。望まない妊娠でも、自らの胎内に宿した新たな生命の尊さを尊重し、育み産み育てることができるという環境の大切さが上げられるのではないだろうか。

いずれにしても、アメリカの女性は「望まれた妊娠」がわが国の現実よりも多く、20歳後半から30歳代の6割が「産む・産まない」の選択を確実な避妊法の選択肢を取り入れて実践していることが窺われる。

現状分析-6：

わが国女性の人工妊娠中絶の実態とその背景

わが国の女性が妊娠すると、どれくらいの割合で中絶をしているのかについて検討するため、厚生省の統計情報部からの出生数と中絶件数を全妊娠数⁸⁾と仮定してその中に占める中絶の割合を年代別に算出してみた。

図7は1985年と1996年とを対比したが、全体では28%から22%と約10年間に6ポイント減少してい

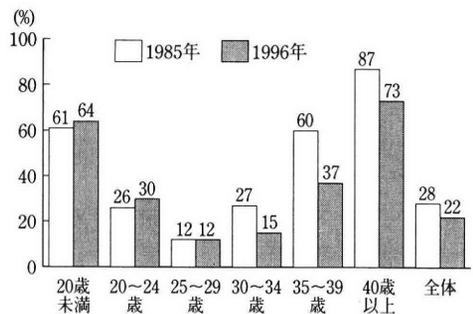


図7 わが国における各年代別人工妊娠中絶の割合 (中絶数/中絶+出生数)

る。20歳未満、20歳前半では85年に比べ上昇しており、30歳代以降で減少していることが示されている。また、40歳以上の妊娠は7割が、20歳未満では6割が中絶を選択している。ここには、晩婚化傾向からの高齢出産と20歳代前半の未婚ゆえの人工妊娠中絶の増加が反映されているといえよう。

次に、避妊に失敗した場合の処置に関する女性の考え方が、前述の全国家族計画世論調査²⁾に示されている。既婚女性では42%が「子どもを産む」と答え、27%が「中絶を受ける」、残りの27%は「わからない」である。残り4%は「無回答」。一方、未婚女性では46%が「子どもを産む」であり、14%が「中絶を受ける」、「わからない」は36%とある。未婚女性のほうが既婚者に比べ「産む」が高く、「中絶を受ける」が低い。さらに年代別についてみると、既婚女性では30歳代前半までは、「子どもを産む」が65%以上であり、「中絶を受ける」と「わからない」が、逆に年代を経ることに高くなっている。このことは彼女らの避妊に対する意識として、確実な避妊法という考えが低いとも思われる。すなわち、「今は産みたくないけど、もし妊娠したら産もう」という考えが窺われる。未婚女性では「産む」と答えるのが20歳後半で54%、20歳前半で49%と5割を占め、「中絶を受ける」が11~12%と著しく低い。「わからない」と答えるものが40歳以上を除いて32~48%と各年代層で高い。しか

しながら、実際にこの「産む」と「わからない」というのが現実に直面すると「産む・産まない」の選択となり後者のほうに大きく傾いて行くように思われる(図8)。このことは、1996年の報告による非嫡出子の出生数の割合が全出生数の中で1.3%と低いことから明らかであり、未婚の性に対する社会的偏見が根強く介在しているようにも思われる。

木村ら⁹⁾の中絶実施予定者のアンケート調査によると、今回妊娠時の避妊法について問い掛けている。はっきりと未実行と答えるものは未婚女性の10歳代で6%とあるも、他の年代層ではいずれも5%以下であり、ほとんどが何らかの避妊法をしていたことになる。未婚女性の20歳代ではコンドームによる失敗が49%とあり、10、30歳代ではおよそ25%前後である。膣外射精での失敗も多く27~35%を示している。オギノ式では年代が高くなるにつれ上昇しており、30歳代で27%となっている。一方、既婚女性ではコンドームによる失敗が多く、44~59%となっている。ついで多いのがオギノ式で17~28%と高年代になるにつれ上昇している。膣外射精による失敗は25~17%である。さらにオギノ式の理解度についても調査しており、正しい項目を選択しているのが、未婚女性で50~65%、既婚女性で60~74%と後者に高いものの、誤った項目をも選択しているのが未婚で19~43%、既婚21~52%とあり、年代が高く

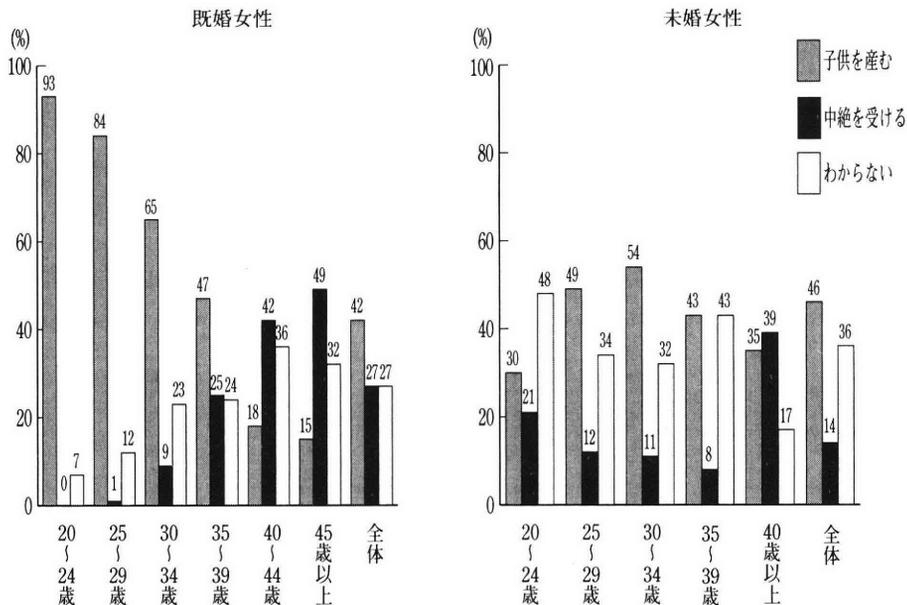


図8 日本人女性の避妊に失敗した時の処置

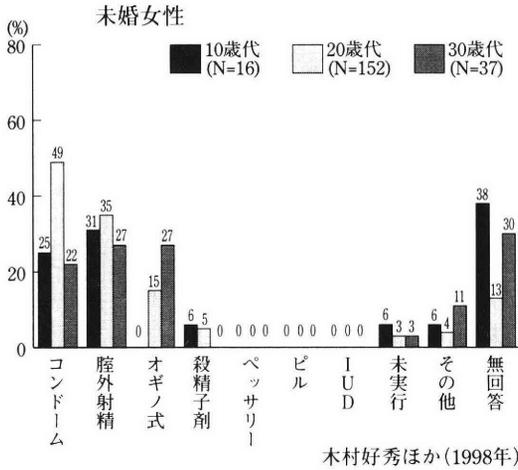


図9 今回妊娠時の避妊法

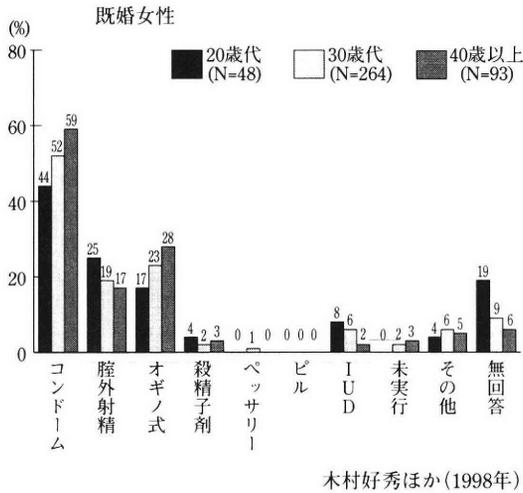
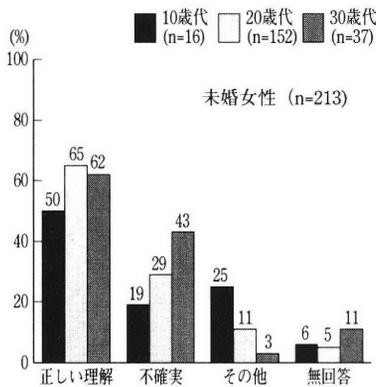


図10 今回妊娠時の避妊法



なるにつれ不確実な考えを持つことが明らかにされている(図9, 10, 11).

これらの結果からみて、わが国の女性は、避妊は相手がしてくれるものと考え、避妊に対する認識の甘さが強く窺われる。

現状分析からの予測:

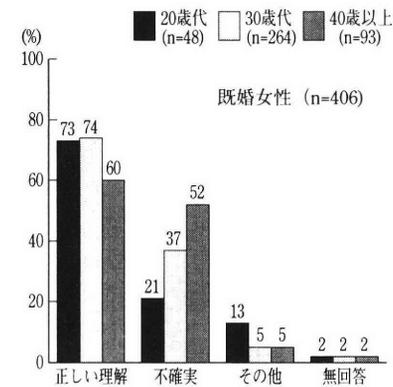
わが国におけるピル認可後の避妊法の変化

フランス、アメリカの避妊法について検討を加えてみた。これによると、フランスでは女性自らが確実な避妊法を選択し実践することが1980年代に確立され、STDのリスクが予測されるなら回避するための実践としてコンドーム使用が1980年代後半より徹底されてきた。このSTD回避のためには男性の認識と責任性が重要となり、お互いの関係が安定すると避妊法の選択肢を互いに諮り、その特徴を理解した上での自分に合ったものを選択していることが明らかとなった。

また、アメリカでも同じことが指摘され、自ら望まない妊娠を避けるための確実な避妊法の選択、STD回避における男性の大きな役割を担っていること。さらには、望まない妊娠であっても生命の尊重を育み産み育てることのできる環境の整備があげられた。

わが国の現状においては、避妊に対する認識が甘く、失敗すれば産めば良いという考えが垣間見られた。そして実践する避妊法は男性主導型に大きく依存し、男性の意識のもとに妊娠の帰結が左右されているように思われた。

ピルが認可され使用が可能になってくると、どのような変化が見られるのだろうか。



木村好秀ほか(1998年)

図11 オギノ式の正しい理解(重複回答あり)

1. 女性自ら選択できる避妊法の選択肢が新たに追加される。一女性主導の避妊法
2. ピルを服用するか否かは女性自らが考え選択することになる。一チョイスの余裕
3. 避妊を女性自ら選択するという意識が促される。一自我の確立
4. 男性の避妊に対する意識を問うことができる。一男性の避妊意識
5. 男女対等な性の営みが諮られる。

この5項目によってもたらせる変化として、女性自らが確実に避妊ができるという自覚で、自らが「産む・産まない性」を決めることができる。しかもそこには自らの意志と責任が介在することになり、相手となる男性に対しても避妊に対して責任ある行動を促すことが可能となろう。従って、冒頭に述べたヴァン・ウォルフレンの言葉が現実味を増してくると考えられる。

6. ピルを服用するためには専門の医師を訪ねなければならない。一産婦人科医の役割
7. ピル処方のためには婦人科的管理が要求される。一女性の健康管理
8. STDや子宮、乳がん等の検査・検診が行われる。一STD・がん早期発見・早期診断
9. STDのみならず女性特有の疾患などを理解できるようになる。一看護・助産婦職の役割
10. リプロダクティブ・ヘルス/ライツの遵守が可能となる。

この5項目は、ピル認可によって婦人科医および看護・助産婦職の担う役割は大きいと考える。これからの医学は予防医学に発展していくものと考えられるが、服用希望者の総てにピルが処方できるとはいえない。ピル処方の是非を判断し、女性の健康管理をはかることにかかわることが重要ではないかと考える。

ピルが使用されるようになり若者の性行動が乱れ

ることはない。その歯止めと教育できる現場は、産婦人科医と関連して携わる看護職等につく女性の役割に依存されると思われる。従って、性行動の乱れやSTDの問題は、ピル認可後の初期に増えるかも知れないが、フランスやアメリカにみられる如く、わが国でないがしろにされていた女性の性の尊さが明らかにされていくものと推察される。

文 献

- 1) カレル・ヴァン・ウォルフレン(1994) 第4章：官僚独裁主義、「人間を幸福にしない日本というシステム」、毎日新聞社、東京、87-125
- 2) 我妻 亮(1998)第V章未婚女性の性行動、女性の避妊・中絶の変化、「家族」の未来“ジェンダー”を越えて、第24回全国家族計画世論調査、毎日新聞社人口問題調査会編、毎日新聞社、東京、111-126
- 3) The Alan Guttmacher Institute(1995) Hopes and Realities, Canterbury Press, N.Y., USA. 24-26
- 4) Toulemon L and Leridon H (1998) Contraceptive practices and trends in France. Family Planning Perspectives, Vol.30, 114-120,
- 5) Piccinino LJ and Mosher WD (1998) Trends in contraceptive use in the United States: 1982-1995. Family Planning Perspectives, Vol.30, 4-10 & 46
- 6) Warren CW, Santelli JS, Everett SA, et al. (1998) Sexual behavior among U.S. high school students, 1990-1995, Family Planning Perspectives, Vol.30, 170-172 and 200
- 7) Henshaw SK (1998) Unintended pregnancy in the United States, Family Planning Perspectives, Vol.30, 24-29 and 46
- 8) 厚生省児童家庭局母子保健課 監修(1997) 母子保健の主なる統計、東京。
- 9) 木村好秀, 菅 睦雄(1998) 人工妊娠中絶希望者の実態と意識、第43回日本不妊学会学術講演会、日不妊会誌 43:523

(日不妊会誌 44:109-118 1999)

Body Fat Distribution in Women with Polycystic Ovary Syndrome: Its Implication in the Future Risks for Life Style-Associated Diseases

Tsutomu DOUCHI, Toshimichi OKI, Kuninori MARUTA,
Riki KUWAHATA, Hideki YAMASAKI and Yukihiro NAGATA

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine,
Kagoshima University, Kagoshima 890-8520, Japan

Abstract: To investigate the association of polycystic ovary syndrome (PCOS) with risks for life style-associated diseases, forty-five PCOS women and 746 women from the general population were studied. Age, height, weight, menopausal state (pre or postmenopause), and body mass index (BMI) were recorded. Serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), and high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) levels were measured. Total body fat mass amount, percent body fat, and the ratio of trunk fat mass to leg fat mass amount (trunk-leg ratio) were measured using dual-energy X-ray absorptiometry. In general population, only the trunk-leg ratio was correlated with age ($r=0.464$, $P < 0.001$). Trunk-leg ratio proved to be a principal determinant of hyperlipidemia on multiple regression analysis ($P < 0.001$). In PCOS women (28.0 ± 6.2 y), the trunk-leg ratio was 1.0 ± 0.42 , which almost corresponded to that at 50 y in the general population. TG levels were higher, while HDL-C levels were lower in PCOS women ($n=22$) with upper body fat distribution (trunk-leg ratio ≥ 1.0) ($P < 0.05$). In PCOS women, body fat distribution in part contributes to the future risks for hyperlipidemia.

Key words: PCOS, hyperlipidemia, life style-associated diseases, body fat distribution

(Jpn J Fertil Steril 44:119-125 1999)

Introduction

Obesity is related to life style-associated diseases including hyperlipidemia, hypertension, and diabetes mellitus. Polycystic ovary syndrome (PCOS) frequently accompanies obesity. It is supposed that obese PCOS women have risk factors for life-style associated diseases. In fact, some reports demonstrated that PCOS holds future risk for hypertension and diabetes mellitus^{1,2)}. However, it remains unclear as to whether non-obese PCOS women have risk factors for life-style associated disease. Obesity can be defined as an excess accumulation of adipose tissue. Recent evidence indicates that upper body fat distribution, independent of total adiposity, is an important risk factor for metabolic and cardiovascular disease³⁻⁵⁾. However, inadequate attention has been focused on body fat distribution, in discussing the relationship between PCOS and risks for life-style associated diseases.

Body fat distribution seems to reflect the sum of aging, life-style, metabolic and endocrine environment, and so on^{6,7)}. In particular, aging is an important contributing factor to body fat distribution⁸⁾. Hyperlipidemia is one of the life style-associated diseases. The purpose of the present study was to determine the age of body fat distribution in PCOS women, and then discuss the risk of hyperlipidemia from the perspective of body fat distribution.

Materials and Methods

Forty-five amenorrheic women with PCOS ranging from 20~38 years of age (mean, 28.0 ± 6.2 y) and 746 women from the general population were enrolled. The general population included both regularly menstruating women ($n=482$) and postmenopausal women ($n=264$). PCOS women were consecutively recruited from the infertility and endocrinology clinic, Kagoshima University Hospital, between January 1997 and March 1998. All women with PCOS showed

progesterin-induced withdrawal bleeding. Dydrogesterone (Daiichi Pharma. Co. Ltd. Tokyo, Japan), 10 mg orally, daily for 5 days, was administered as a progesterin agent. PCOS was diagnosed by the presence of premenarcheal oligomenorrhea or amenorrhea combined with an elevated serum LH level and a normal FSH level, with a LH to FSH ratio of at least 1.5. All subjects had normal prolactin (PRL) levels. Transvaginal ultrasonography (US) was performed on all PCOS women. However, the detection of enlarged or polycystic ovaries was not mandatory for the diagnosis of PCOS. During the same period, 746 women from the general population were recruited. These women were undergoing screening for uterine cancer ovarian cancer and/or osteoporosis. Exclusion criteria were pregnancy, chronic or acute illness, gynecologic malignancy, excess alcohol drinkers, cigarette smoking, and either previous or current oral contraceptive usage.

Age, height, menopausal state (premenopause or postmenopause), weight, body mass index (BMI; w/h^2) were recorded for each subject. BMI was calculated as weight (kg) divided by height squared (m^2). Body fat indices including total body fat mass amount, percent body fat, the ratio of trunk fat mass to leg fat mass amount (trunk-leg ratio) were measured by whole body scanning using dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA, QDR 2,000, Hologic, MA). Serum lipid levels including total cholesterol (TC), triglyceride (TG), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were measured.

In the general population, correlation of age with body fat indices and BMI were investigated. Correlations of the presence of hyperlipidemia with baseline characteristics and body fat indices were investigated. In PCOS women, the age of body fat distribution was determined by plotting their mean trunk-leg ratio on the linear regression curve of the relationship between age and trunk-leg ratio in general population. Serum lipid levels were compared between PCOS women with upper (trunk-leg ratio ≥ 1.0 , $n=22$) and lower body fat distribution (trunk-leg ratio < 1.0 , $n=23$)⁹⁾.

Default software readings divided body measurements into areas corresponding to arms, trunk, and legs. The trunk region was delineated by an upper horizontal border below the chin, vertical borders lat-

eral to the ribs, and a lower border formed by oblique lines passing through the hip joints. The leg region was defined as tissue below the oblique lines passing through the hip joints⁹⁾. The precision of these measurements was determined by five repeated measurements on six volunteers over 8 weeks. Precision of regional fat mass measurements showed a coefficient of variation $< 4\%$. All recordings were performed by the same experienced investigator. The examiner was blinded to the study status.

Hyperlipidemia was considered present when one of the following criteria was fulfilled: serum TC ≥ 220 mg/dl, TG ≥ 150 mg/dl, or HDL-C ≤ 45 mg/dl. The percentages of the general population showing TC ≥ 220 mg/dl, TG ≥ 150 mg/dl, and HDL-C ≤ 45 mg/dl were 14.5% (108/746), 13.8% (103/746), 13.3% (99/746), respectively. Blood was drawn after an overnight fast. The TC and HDL-C levels were determined by enzymatic methods using commercial kits (Wako, Osaka, Japan). Serum TG levels were also determined by enzymatic methods using commercial kits (Mizuho Medi, Tosu, Japan).

Fully informed consent was obtained from each subject and the study was conducted in accordance with both institutional guidelines and the Declaration of Helsinki of 1975, as revised in 1983.

Correlations of age with percent body fat, BMI, total body fat mass amount, and trunk-leg ratio were investigated using Pearson's correlation coefficients, because all of these variables were distributed normally. Correlation of the presence of hyperlipidemia with body fat indices and baseline characteristics were investigated using multiple regression analysis. The dependent variable was the presence or absence of hyperlipidemia. This variable was a nominal variable, so we registered normolipidemic women as 1, and hyperlipidemic women as 2. Independent variables were age, percent body fat, trunk-leg ratio, menopausal state, and BMI. Menopausal state was nominal variable, and then we registered premenopausal women as 1 and postmenopausal women as 2. Inter-subgroup comparison between PCOS women with upper body fat distribution and lower body fat distribution was made using Student-t test. Confidence intervals were calculated to evaluate the strength of correlation. $P < 0.05$ was considered significant.

Results

Table 1 presents the baseline characteristics and body fat indices in 45 women with PCOS. Table 2

presents the baseline characteristics in 746 women from the general population consisting 482 premenopausal and 264 postmenopausal women. Figure 1 shows the correlation of age with body fat indices and

Table 1 Baseline characteristics and body fat indices in women with PCOS

n	45	
Age (y)	28.0 ± 6.2	(20~38)
Height (cm)	155.9 ± 5.2	(143~170)
Weight (kg)	57.2 ± 13.1	(39~95)
Body mass index (kg/m ²)	23.8 ± 5.4	(16.2~37.1)
Percent body fat (%)	33.7 ± 7.3	(17.4~46.3)
Trunk-leg ratio	1.0 ± 0.42	(0.27~2.17)
Total body fat mass (kg)	19.6 ± 8.1	(6.7~39.4)

Data are presented as mean ± standard deviation or n. Parentheses indicate ranges.

Table 2 Baseline characteristics and body fat indices in women from the general population

n	746	
Premenopausal women	482	
Postmenopausal women	264	
Women with hyperlipidemia (%)	30.4 (227/746)	
Age (y)	46.1 ± 14.5	(16~83)
Height (cm)	154.0 ± 6.2	(135~170)
Weight (kg)	54.0 ± 10.0	(33.4~105)
Body mass index (kg/m ²)	22.8 ± 3.8	(14~41)
Percent body fat (%)	32.3 ± 7.5	(6.1~55.2)
Trunk-leg ratio	1.06 ± 0.45	(0.18~2.86)
Total body fat mass (kg)	17.9 ± 7.1	(3.1~51.8)

Data are presented as mean ± standard deviation, %, or n. Parentheses indicate ranges.

Table 3 Correlation of the presence of hyperlipidemia with body fat indices and baseline characteristics on multiple regression analysis

Dependent and independent variable	Multiple regression coefficient	95% CI		Standadized regression coefficient	P
		Lower	Upper		
The presence of hyperlipidemia					
Age	-0.005	-0.049	0.004	-0.013	0.844
Percent body fat	0.029	-0.005	0.010	0.045	0.456
Trunk-leg ratio	0.277	0.161	0.393	0.254	<0.001
Menopausal state	0.046	-0.083	0.175	0.046	0.487
Body mass index	0.007	-0.008	0.023	0.058	0.336

CI: confidence interval.

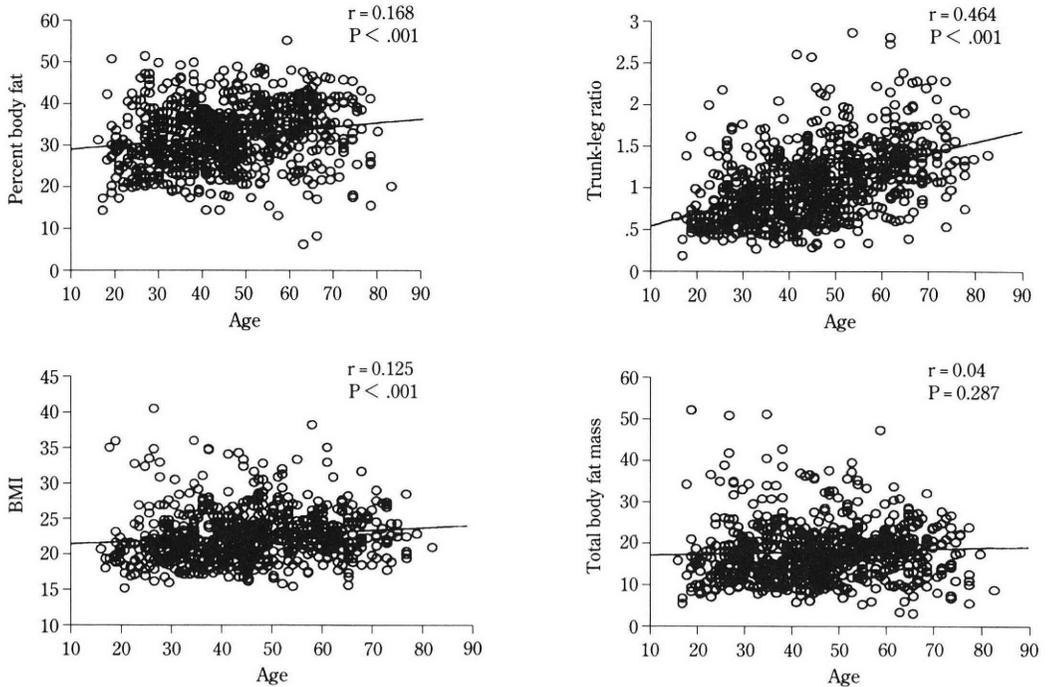


Figure 1 The correlation of age with body fat indices and BMI.

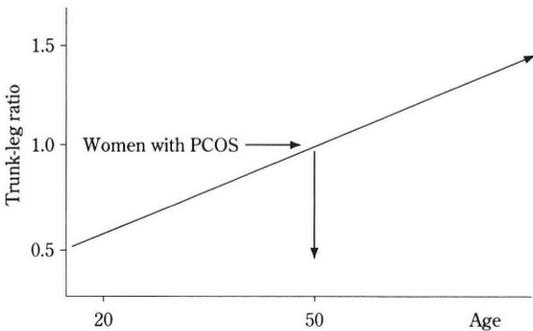


Figure 2 Schematic representation of single linear regression curve of the relationship between age and trunk-leg ratio in the general population. In PCOS women, the age of body fat distribution was determined by plotting their mean trunk-leg ratios on the linear regression curve.

BMI. Trunk-leg ratio was significantly correlated with age ($r=0.464$, $P < 0.001$). Although BMI and percent body fat were correlated with age based on P values, the strength of correlations were inconsiderable. Total body fat mass amount was not correlated with age. Table 3 shows the correlation of the presence of hyperlipidemia with body fat indices and baseline characteristics on multiple regression analysis. Only the trunk-leg ratio proved to be the principal determinant of hyperlipidemia ($P < 0.001$), irrespective of age, menopausal state, percent body fat, and BMI.

Figure 2 shows schematic representation of single linear regression curve of the relationship between age and trunk-leg ratio in the general population. Mean (\pm SD) trunk-leg ratios in PCOS women were 1.0 ± 0.42 , which almost corresponded to that at 50 y in the general population. Table 4 presents comparisons of serum lipid levels between PCOS women with upper and with lower body fat distribution. TG levels were higher, while HDL-C levels were lower in women with upper body fat distribution ($P < 0.05$).

Table 4. Comparison of serum lipid levels between PCOS women with upper and lower body fat distribution

	Upper body fat fat distribution	Lower body fat distribution	P
Trunk-leg ratio	≥ 1.0	< 1.0	
n	22	23	
Age (y)	25.3 ± 6.8	26.1 ± 5.1	NS
Height (cm)	155.8 ± 4.2	155.8 ± 4.3	NS
TC (mg/dl)	202 ± 118	179 ± 95	NS
TG (mg/dl)	134 ± 82	86 ± 37	< 0.05
HDL-C (mg/dl)	55 ± 13	64 ± 15	< 0.05

Data are presented as mean \pm standard deviation or n.

TC, total cholesterol; TG, triglyceride; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol.

NS, not significant.

Discussion

Dahlgren et al.¹⁾ reported that an increased prevalence of both hypertension and hyperinsulinemia was found in perimenopausal women with previously biopsy-proven PCO compared with controls of similar age and BMI. Holte et al.²⁾ also demonstrated increase in day-time blood pressures in women with PCOS. These studies linked future risks for life style-associated diseases with metabolic and endocrine abnormalities in PCOS. PCOS frequently accompanies upper body fat distribution⁹⁾, which is more closely associated with hyperlipidemia, hypertension, and insulin resistance than the degree of obesity^{3-5,9-12)}. These health risks seem to be primarily mediated by increases in visceral intraabdominal fat mass, rather than subcutaneous abdominal fat mass¹²⁾. However, a retrospective cohort study by Dahlgren et al.¹⁾ omitted body fat distribution from the analysis. The study by Holte et al.²⁾ denied the contribution of body fat distribution to the risk for hypertension, measuring the waist-hip ratio, sum of trunkal-abdominal skinfolds, sum of thigh skinfolds, and trunk-thigh skin folds ratio were used. However, skin fold thickness and waist-hip ratio are indirect and include tissue other than fat; In particular, hip girth measurement does not reflect precise hip fat⁹⁾. Thus, these indices do not always reflect precise body fat distribution. Whole-body measurements with DEXA were taken, enabling quantification of bone, lean mass, and fat mass^{13,14)}. In the

present study, body fat distribution was estimated by whole-body scanning with DEXA. Hyperlipidemia, hypertension, and glucose intolerance associated with upper body fat distribution have a common background of insulin resistance¹⁵⁾. Thus, we investigated the relationship between PCOS and hyperlipidemia, as a representative of life-style associated diseases.

In the general population, we found that body fat distribution is an important determinant of hyperlipidemia irrespective of obesity, age, and menopausal state. PCOS women with upper body fat distribution proved to be in a pre-hyperlipidemic state. This finding agrees with previous reports³⁻⁵⁾. Body fat distribution showed age-dependent change, while age-related changes in the percent body fat and BMI were negligible. Thus, we propose age of body fat distribution as a new concept. Based on this concept, the age of PCOS women can be estimated as approximately 50y. The incidence of some metabolic and endocrine diseases including hyperlipidemia, hypertension, and hyperinsulinemia increases after menopause. Increases in these diseases are in part attributable to a shift toward upper body distribution after menopause⁹⁾. In reproductive-aged women with PCOS, higher prevalences of hyperlipidemia¹⁶⁾, hypertension²⁾ and hyperinsulinemia^{1,17)} have been reported. Considering these findings, it is likely that the onset of some metabolic and endocrine diseases, which tend to increase after menopause, shifts to earlier age in PCOS women. Similarly, Dunaif¹⁸⁾ demonstrated that non-

insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) in PCOS women has a substantially earlier age of onset (third to fourth decades) than NIDDM in the general population (sixth to seventh decades).

To reduce future risks for life style-associated diseases in PCOS women, prevention of upper body fat distribution is important. Many factors influence body fat distribution. These factors include age⁷⁾, weight gain (obesity), hyperinsulinemia, menstrual disorders, menopause, reduced physical activity, smoking, and alcohol consumption¹⁹⁾. In particular, hyperandrogenemia, hyperinsulinemia, and obesity are important in PCOS. Although androgen shifts body fat distribution to the upper region^{20, 21)}, treatment with low doses of spironolactone, antiandrogen agent, has little effect on body fat distribution²¹⁾. The insulin-sensitizing agent troglitazone improves metabolic and endocrine abnormalities in PCOS women^{22, 23)}. However, Ehrmann et al.²³⁾ did not show any change in body fat distribution after a 12-week treatment with troglitazone. In their study, morbidly obese women with PCOS (mean baseline BMI \pm SEM, 39.9 ± 1.4) were studied. Thus, possible reasons for these discouraging results may include the relatively short study period, the presence of excessively obese PCOS cases, and small sample size. To date, definitive conclusions can not be drawn regarding the effects of antiandrogen and insulin-sensitizing agents on body fat distribution. Further extensive studies are needed to clarify the effects of these drugs on body fat distribution. Weight loss is generally associated with improved body fat distribution, insulin sensitivity, and reduction in circulating plasma insulin concentration in obese women^{24, 25)}. To date, general means, such as appropriate diet and regular physical activity to avoid weight gain, appear to be the best tools for improving insulin sensitivity in PCOS women. However, half of the PCOS women showed lower body fat distribution in the present study. Hyperlipidemia was not found in this subgroup. Thus, we are not concerned about this subgroup.

Based on these results, we conclude that a higher age of body fat distribution partially contributes to future risks for life style-associated diseases in PCOS women. The contribution of body fat distribution is obesity-independent.

References

- 1) Dahlgren E, Johansson S, Lindstedt G, et al. (1992) Women with polycystic ovary syndrome wedge resected in 1956 to 1965: a long-term follow-up focusing on natural history and clinical hormones. *Fertil Steril* 57 : 505-513.
- 2) Holte J, Gennarelli G, Berne C, et al. (1996) Elevated ambulatory day-time blood pressure in women with polycystic ovary syndrome: a sign of a pre-hypertensive state? *Hum Reprod* 11 : 23-28.
- 3) Despres JP, Allard B, Tremblay A, et al. (1985) Evidence for a regional component of fatness in the association with serum lipids in men and women. *Metabolism* 34 : 967-973.
- 4) Lapidus L, Bengtsson C and Bjorntorp P (1994) The quantitative relationship between "the metabolic syndrome" and abdominal obesity in women. *Obesity Res* 2 : 372-377.
- 5) Haffner SM, Mitchell BD, Hazuda HP, et al. (1991) Greater influence of central distribution of adipose tissue on incidence on non-insulin-dependent diabetes in women than men. *Am J Clin Nutr* 53 : 1312-1317.
- 6) Kaye SA, Folsom AR, Prineas RJ, et al. (1990) The association of body fat distribution with lifestyle and reproductive factors in a population study of postmenopausal women. *Int J Obes* 14 : 583-591.
- 7) Borkan GA, Hults DE, Gerzof SG, et al. (1983) Age changes in body composition revealed by computed tomography. *J Gerontol* 38 : 673-677.
- 8) Ley CJ, Lees B and Stevenson JC (1992) Sex- and menopause-associated changes in body-fat distribution. *Am J Clin Nutr* 55 : 950-954.
- 9) Douchi T, Ijuin H, Nakamura S, et al. (1995) Body fat distribution in women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 86 : 516-519.
- 10) Kissebah AH, Videlingum N, Murray R, et al. (1982) Relation of body-fat distribution to metabolic complication of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 54, 254-260.
- 11) Larsson B, Svarsudd K, Welin L, et al. (1984) Abdominal adipose tissue distribution, obesity and risk of cardiovascular disease and death: 13 year follow up of participants in the study of men born in 1913. *Br Med J* 288 : 1401-1404.
- 12) Bjorntorp P. (1993) Visceral obesity: a "civilization syndrome." *Obesity Res* 1 : 206-222.
- 13) Mazess RB, Barden HS, Bisek JP, et al. (1990) Dual-energy x-ray absorptiometry for total-body and regional bone-mineral and soft-tissue composition.

- Am J Clin Nutr 51:1106-1112.
- 14) Mazess RB, Barden HS and Ohlrich ES (1990) Skeletal and body-composition effects of anorexia nervosa. Am J Clin Nutr 52 : 438-441.
 - 15) Yamashita S, Nakamura T, Shimomura I, et al. (1996) Insulin resistance and body fat distribution. Diabetes Care 19 : 287-291.
 - 16) von Eckardstein S, von Eckardstein A, Bender HG, et al. (1996) Elevated low-density lipoprotein-cholesterol in women with polycystic ovary syndrome. Gynecol Endocrinol 10:311-318.
 - 17) Norman RJ, Masters S and Hague W (1996) Hyperinsulinemia is common in family members of women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 66 : 942-947.
 - 18) Dunaif A (1995) Hyperandrogenic anovulation (PCOS): a unique disorder of insulin action associated with an increased risk of NIDDM. Am J Med 98:33-39.
 - 19) Laws A, Terry RB and Barrett-Connor E (1990) Behavioral covariates of waist-to-hip ratio in Rancho Bernardo. Am J Public Health 80:1358-1362.
 - 20) Bruce R, Lees B, Whitcroft SI, et al. (1991) Changes in body composition with danazol therapy. Fertil Steril 1991; 56 : 574-576.
 - 21) Lovejoy JC, Bray GA, Bourgeois MO, et al. (1996) Exogenous androgens influence body composition and regional body fat distribution in obese postmenopausal women-a clinical research center study. J Clin Endocrinol Metab 81 : 2198-2203.
 - 22) Dunaif A, Scott D, Finegood D, et al. (1996) The insulin-sensitizing agent troglitazone improves metabolic and reproductive abnormalities in the polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab 81 : 3299-3306.
 - 23) Ehrmann DA, Schneider DJ, Sobel BE, et al. (1997) Troglitazone improves defects in insulin action, insulin secretion, ovarian steroidogenesis, and fibrinolysis in women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab 82 : 2108-2116.
 - 24) Letiexhe MR, Scheen AJ, Gérald PL, et al. (1995) Post-gastroplasty recovery of ideal body weight normalizes glucose and insulin metabolism in obese women. J Clin Endocrinol Metab 80:364-369.
 - 25) Holte J, Bergh T, Berne C, et al. (1995) Restored insulin sensitivity but persistently increased early insulin secretion after weight loss in obese women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab 80 : 2586-2593.

(Received November 8, 1998)

(Accepted January 20, 1999)

多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)と生活習慣病の関連性

—体脂肪分布の観点から—

鹿児島大学医学部産婦人科学教室

堂地 勉, 沖 利通, 丸田邦徳,

桑波田理樹, 山崎英樹, 永田行博

肥満が脂肪組織の過剰な蓄積であるとするならば、肥満度よりも体脂肪分布の異常が高脂血症などの生活習慣病と関連する。PCOSは肥満と関連するが、本邦のPCOS患者の肥満の頻度は低い。そこで、PCOSと生活習慣病との関連性を体脂肪分布から検討した。PCOS患者45例と一般婦人(有経婦人=482例、閉経婦人=264例)を対象とした。年齢、身長、体重、BMI、閉経の有無、TC、TG、HDL-C値などの血清脂質値を調査した。体脂肪量、体脂肪率、躯幹脂肪量/下肢脂肪量(T/L)をDEXAで測定した。一般婦人のT/Lは年齢と正の相関($r=0.464$, $P<0.001$)を示したが、体脂肪率やBMIは年齢と相関しなかった。重回帰分析で高脂血症を規定する責任因子はT/Lであり、年齢、閉経の有無、BMI、体脂肪率は責任因子でなかった。PCOS患者(28.0±6.2歳)のT/Lは1.0±0.42であり、一般婦人の50歳に相当した。上半身型体脂肪分布($T/L \geq 1.0$)を示したPCOS患者($n=22$)は下半身型($T/L < 1.0$)を示したPCOS患者($n=23$)に比較してTG値が有意に高く、HDL-C値が有意に低かった($P<0.05$)。PCOS患者は若くして高脂血症などの生活習慣病のリスクを有していることが体脂肪分布の観点から明らかにした。

キーワード：PCOS, 体脂肪分布, 高脂血症, 生活習慣病

(日不妊会誌 44:119-125 1999)

ICSIを施行した婦人において加齢が 多核胚の発生頻度におよぼす影響

The Effect of Maternal Age on the Frequency of Multinucleated Embryos in Patients Undergoing Intracytoplasmic Sperm Injection

倉敷成人病センター医科学研究所

藤井好孝

Yoshitaka FUJII

Institute of Medical Science, Kurashiki Medical Center

Kurashiki 710-8522, Japan

倉敷成人病センター産婦人科

本山洋明

Hiroaki MOTOYAMA

Department of Obstetrics and Gynecology, Kurashiki Medical Center

Kurashiki 710-8522, Japan

体外受精では、女性の加齢に伴う妊娠率の低下が大きな問題となっている。本研究では高齢者における胚の質について従来の形態的評価と分割速度に加えて核の観察も行い、高齢者で多核の胚が増えているか検討した。多核胚が存在した周期は卵細胞質内精子注入法(ICSI)を行った周期全体の43.0% (89/207周期)であった。女性年齢別で比較すると、24~34歳の42.4% (42/99周期)に対し、35~44歳では43.5% (47/108周期)で有意差はなかった。胚別にみると多核胚は観察したすべての胚の内の18.9% (154/817個)に認められた。女性年齢別に比較すると、24~34歳の17.1% (78/457個)に対し35~44歳では21.1% (76/360個)でやはり有意差はなかった。しかし胚を形態的評価と分割速度で4つのclassに分けて多核胚の頻度を検討したところ、最高ランクのclass 4 (grade Aで4細胞期以上)の胚では、24~34歳の3.5% (7/203個)に対し、35~44歳では13.6% (22/162個)で有意に増加していることが明らかとなった (χ^2 検定, $p < 0.0004$)。最高ランクの胚は移植に優先的に選ばれる胚であることから、高齢女性における妊娠率の低下はこれらの質の低い胚の移植によるものであることが示唆された。

キーワード：高齢女性、ヒト胚、多核胚

(日不妊会誌 44:127-131 1999)

緒言

体外受精では、女性の加齢に伴う妊娠率の低下が大きな問題となっている。妊娠率低下の原因の一つとして胚の質の低下が考えられる。胚の質の評価は一般にfragmentの量と割球の形状と均一性による形態的評価(grade分け)に分割速度を組み合わせた評価

が行われてきたが、近年では高性能倒立顕微鏡の普及により細胞核の観察も可能となってきた。4細胞期前後の胚ではしばしば核が一つの割球に2個以上あるのが観察されるが、これらの多核割球を有する胚は異常な多核胚である。もし高齢者において胚の質が低下しているとすれば、異常な多核胚も増えている可能性がある。そこで本研究では高齢者における胚

の質について従来の評価に核の観察を加え、高齢者で多核胚が増えていないか検討した。

対象および方法

対象は1997年4月から1998年7月までに当院でICSIを施行した207周期(145症例)で、女性患者の年齢別では24~34歳(30.4±2.6, 平均±SD)が99周期(75症例)、35~44歳(38.9±2.5, 平均±SD)が108周期(70症例)である。

卵巣刺激、採卵、ICSIおよび黄体補充方法は既報¹⁾のとおり行った。胚の培養は2重dish(Falcon #3037)に入れた10%ヒト合成血清(Irvine)添加HTF培地中で行い、毎日培地交換した。このdishはガラスプラスチックに入れ、5% O₂, 5% CO₂, 90% N₂のガスを充填し、37℃のインキュベーターに入れた。

胚の観察は光路に紫外線遮断フィルムを入れ、37℃の保温板を取り付けた倒立顕微鏡(Nikon Diaphot, Hoffman modulation contrastを装着)で対物20倍にて行い、形態的評価と分割速度の評価に加え核の観察を行った。胚の評価は、顕微鏡に接続した21インチモニターに映し出した胚を見ながら2人の観察者が協議して行った。胚の形態的評価は当院の基準²⁾に従い、Fragmentの量と割球の形状と大きさの均一性に基づき、A, B, C, D, Xの5段階のgradeに胚を分類した。Grade Aはfragmentが無く割球が均等かつ球形のもの、grade Bは小数のfragment、または軽度不均等な割球を有するもの、grade Cは多数のfragment、または強度不均等な割球を有するもの、grade Dはfragmentが全体を占有し、割球の大小が極めて強度なもの、grade Xは分割進行が認められないものである。

胚はさらにICSI後40~44時間での分割速度と形態的評価(grade)で4つのclassに分類した。すなわちClass 1: 2~3細胞期で、grade BかC。Class 2: 2~3細胞期で、grade A。Class 3: 4~8細胞期で、grade BかC。Class 4: 4~8細胞期で、grade A。

胚の核観察はICSI後40~44時間で行い、2個以上の核を有する割球がひとつでもあれば多核胚とした。核の観察時間は移植時間に関係なくこの時間帯で行った。これは核の観察が4細胞期なら容易だが8細胞期では極めて困難になるためである。しかし4細胞期でも核は小さく観察が困難であり、核の観察は絞りをやや開放ぎみにし、Hoffmanのコントラストも弱めにして細胞質全体が明るく見える条件下にし、一個一個の割球に対して焦点を何度も微調整しながら慎重に行った。核の同定に関しては核小体

の存在を重視し、核小体なきものは単なる小胞構造とみなした。移植はICSI後41~45時間か64~70時間、まれに92~93時間で行い、良好胚から順にgrade A, B, Cまでを3個以内子宮に戻した。妊娠例は子宮内に胎嚢を認めた症例とした。

統計処理は χ^2 検定で行った。

結 果

多核胚が存在した周期は全体の43.0%(89/207周期)であった(表1)。女性年齢別で比較すると、24~34歳の42.4%(42/99周期)に対し、35~44歳では43.5%(47/108周期)で有意差はなかった。採卵数は24~34歳の8.9±4.9個(平均±SD)に対し、35~44歳では5.8±3.1個(平均±SD)で有意に少なかった($p < 0.001$)が、正常2前核が得られた受精率はそれぞれ平均71.1%(500/703個)と73.5%(387/528個)で差がなかった。採卵周期当たりの妊娠率は24~34歳の49.5%に対し、35~44歳では29.6%と有意に低かった($p < 0.0035$)。

移植胚中にClass 4の胚がある場合の妊娠率は24~34歳では56.5%だったが、ない場合では39.1%と低

表1 採卵周期別にみた多核胚の発生頻度と妊娠率

女性年齢	採卵周期	多核胚が存在した周期	妊娠
24~34歳	99	42(42.4%)	49(49.5%)
35~44歳	108	47(43.5%)	32(29.6%)
計	207	89(43.0%)	81(39.1%)

*: 有意差あり(χ^2 検定, $p < 0.0035$)

表2 移植胚中のClass 4の胚の存在が妊娠率に与える影響
Superscript

女性年齢	妊娠率	
	Class 4の胚有り	Class 4の胚無し
24~34歳	56.5% (39/69)	39.1% (9/23)
35~44歳	33.8% (25/74)	25.9% (7/27)
計	44.8% (64/143)	32.0% (16/50)

Superscript: 妊娠率は移植周期当たり

表3 胚別にみた多核胚の発生頻度

女性年齢	分割胚	多核胚
24~34歳	457	78 (17.1%)
35~44歳	360	76 (21.1%)
計	817	154 (18.9%)

表4 胚をclass別に分けた場合の多核胚の発生頻度

女性年齢	分割胚	多核胚/分割胚			
		Class 1	Class 2	Class 3	Class 4
24~34歳	457	34/85 (40.0%)	13/41 (31.7%)	24/128 (18.8%)	7/203 (3.5%)
35~44歳	360	25/67 (37.3%)	9/21 (42.9%)	20/110 (18.2%)	22/162 (13.6%)
計	817	59/152 (38.8%)	22/62 (35.5%)	44/238 (18.5%)	29/365 (7.9%)

* : 有意差あり (χ^2 検定, $p < 0.0004$)

く、同様に35~44歳でも33.8%に対し25.9%と低かったが、どちらも有意差はなかった(表2)。また、すべての胚が多核胚で、仕方なく多核胚だけを移植した周期は24~34歳では2周期あり、どちらも妊娠には至らず、35~44歳では6周期あり、1例が妊娠し胎嚢は確認出来たが心拍動は確認出来ず、流産に終わった。

胚別にみると多核胚はすべての胚の内の18.9% (154/817個)に認められた(表3)。女性年齢別で比較すると、24~34歳の17.1%(78/457個)に対し35~44歳では21.1%(76/360個)で有意差はなかった。

多核胚の発生頻度は最高ランクのClass 4の胚では、24~34歳の3.5%(7/203個)に対し、35~44歳では13.6%(22/162個)が多核胚であり有意に多かった(χ^2 , $p < 0.0004$) (表4)。その他のclassでは有意差はなかった。

考 察

女性の加齢に伴う妊娠率の低下は患者と体外受精関係者を大いに悩ませている。本来妊娠の成否は移植胚の数ではなく質で決まるはずであり、質が低ければ数を増やしても妊娠しない。高齢者で移植胚数を増やしても妊娠率が改善されないのは当然胚の質が低下しているためと考えられる。本研究では、質の評価に核の観察を加えることで胚に外科的侵襲を加えることなしに評価水準の向上を試み、高齢者における胚の質の本質に迫った。

採卵周期別にみた場合、全体の43.0%が多核胚が存在した(表1)。この値はBalakierとCadesky²⁾の44%と一致したが、Jacksonら³⁾の74%より少なかった。女性年齢別では、24~34歳で42.4%の周期が多核胚が存在し、35~44歳の43.5%と有意差はなく、高齢者でも多核胚が存在する周期は増えていなかった。

胚別にみた場合、すべての胚の内の18.9%が多核胚であった。この値はBalakierとCadesky²⁾の15%に近かったがJacksonら³⁾の31%より少なかった。後者との差は過排卵刺激の違いや胚の培養環境の違い、

核の観察時間の違い等が考えられるが、詳細は不明である。ただし、ここで重要なのは無染色の胚を観察する以上、核観察は確実に出来ないとということである。核は細胞周期の進行に伴って消失出現を繰り返す。一方各細胞の分裂速度は異なっているため、すべての割球の核を観察するには長時間の連続的な観察が必要とされるが、それはヒト胚では不可能である。また、核の形は変化に富んでおり、極端に小さな核とか中途半端に分離してダルマ状になった多核、葡萄の房状の多核等があるし、細胞質中には核と錯覚しやすい小胞構造も存在し、多核の正確な判定をさらに困難にしている。また、多量のfragmentが存在するgrade Cの胚の場合(図1)、fragmentが核を覆うと核観察は極めて困難となる。核を少しでも確実に観察するには細胞数の少ない2~4細胞期が適しており、翌日の8細胞期以後では極端に

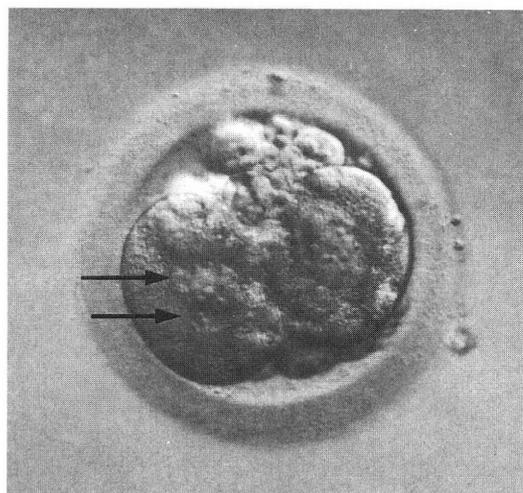


図1. 多量のfragmentを有するヒト多核胚(3 cell, grade C)。

左の割球には2個の核(→)がある。右の割球には葡萄の房状になった核が4個あるのだがfragmentに覆われ見えにくい。

(Hoffman modulation contrast, 対物20倍)

困難となる。

女性年齢別では、24～34歳で17.1%が多核胚で、35～44歳の21.1%と有意差はなく(表3)、胚別でもやはり高齢者で多核胚は増えていなかった。BalakierとCadesky²⁾も多核胚の出現率は女性年齢と無関係であったと報告しており、我々の結果と一致する。

しかし本研究ではさらに詳細に検討するため、胚を形態的評価と分割速度で4つのclassに分け女性年齢別に比較したところ、最高ランクのclass 4 (grade Aで4細胞期以上)の胚では24～34歳の3.5%に対し35～44歳では13.6%と多核胚が有意に多いことが明らかとなった(表4)。実際には多核の確認は核膜が存在しない時間帯では行えないので、その時間帯では多核を見落としている可能性もある。従って、高齢者の最高ランクの胚で多核胚が高頻度で認められたが、これら未確認の多核胚も同様に高頻度に存在する可能性がある。また核の数が増えるといった大きな異常ではなく、染色体レベルでの小さな異常に至ってはさらに高頻度で発生していると思われる。一般に最高ランクの胚は最優先で移植用に使われる胚である。本研究でもclass 4の胚を移植できた周期の方が年代に関係なく妊娠率が高かった(表2)ことから、同じ移植胚の中でも最高ランクの胚が優先的に着床して胎児へと発育している可能性が高い。高齢者においてその最高ランクの胚に多核が多いということはその胚の質が低下していることを意味し、妊娠率や流産率への影響が考えられる。本研究の結果でもclass 4の胚を移植できた周期における妊娠率は高齢者の方が低かった(表2)。

多核化の発生機構については幾つかのパターンが存在すると考えられている。すなわち、細胞質分裂なしで核の分裂が進行する、あるいは核膜が分葉分断する、細胞分裂時において染色体が移動に失敗する等である⁴⁾。多核胚の発生原因について、Jacksonら³⁾は多核胚が存在した周期では存在しなかった周期に比べ、hCG投与日のE₂レベルが約2倍も高く、採卵数も約2倍であったことを見出し、同じように過排卵刺激をしても刺激に敏感な卵は多核胚になりやすいことを示しており興味深い。一方ICSI特有の問題として、傷付けた精子を卵に入れていることが原因で多核胚になることが考えられるが、ヒトでは精子のcentrioleが細胞分裂に関与する⁵⁾と推測されていることから、精子の頭部と頸部の境目あたりに存在するcentrioleを損傷しないよう注意すれば問題ないはずである。実際、StaessenとVan Steirteghem⁶⁾は通

常のIVFとICSIで多核胚の頻度に差がなかったと報告している。

多核胚の発育能力に関しては、多核胚だけの移植による妊娠例や出産例も報告されており、発育能力が全くないわけではない^{2,7)}。これは早期分割胚においては、多核割球以外に正常な割球が存在すればそれらが発育し、正常な産子になることの証明であるように思われる。とはいえ、Kligmanら⁸⁾は受精4日目以降では胚の多核の発現に染色体異常を伴わないが、2日目か3日目では染色体異常を伴うことを示している。彼らはfluorescent in-situ hybridization (FISH)法でX, Y, 18, 13/21番の染色体を標識し、2日目(2～4細胞期)または3日目(8細胞期前後)の胚で正常胚の50.9%に対し多核胚では76.6%と有意に高率の染色体異常を認めている。Jacksonら³⁾は多核胚の低い着床能力と高い流産率を報告している。これらの報告は多核胚の発育能力が明らかに低いことを意味している。本研究でも、症例数は少ないが多核胚だけを移植した場合の妊娠率は12.5%(1/8移植周期)と低く、その1例も心拍動は確認出来なかった。結論として、高齢女性では移植胚の質の低下と不正確な質の評価が妊娠率低下の一因であると思われる。先進的な方法として3日目の胚にembryo biopsyを行い、FISH法で染色体数を確認した後正常と判定された胚だけを移植したところ、高齢者(39歳以上)における胚当たりの流産率が34%から4%に減少した⁹⁾という報告があり、今後有効な方法と思われる。

謝 辞

本研究の一部は日本自転車振興会の援助によるものであり、感謝する。

文 献

- 1) 本山洋明, 藤井好孝(1998) ICSIにおける3日目胚移植の有用性. 日受着会誌, 15:58-61
- 2) Balakier H and Cadesky K. (1997) The frequency and developmental capability of human embryos containing multinucleated blastomeres. Hum Reprod 12:800-804
- 3) Jackson KV, Ginsburg ES, Hornstein MD, et al. (1998) Multinucleation in normally fertilized embryos is associated with an accelerated ovulation induction response and lower implantation and pregnancy rates in *in vitro* fertilization-embryo transfer cycles. Fertil Steril 70:60-66
- 4) Munne S and Cohen J. (1993) Unsuitability of multinucleated human blastomeres for preimplantation diagnosis. Hum Reprod 8:1120-1125

- 5) Palermo G, Munne S and Cohen J. (1994) The human zygote inherits its mitotic potential from the male gamete. *Hum Reprod* 9:1220-1225
- 6) Staessen C and Van Steirteghem A. (1998) The genetic constitution of multinuclear blastomeres and their derivative daughter blastomeres. *Hum Reprod* 13:1625-1631
- 7) Joris H, Nagy Z, De Vos A, et al (1997) Cleavage and morphology of embryos which are multinuclear on day 1 and normal on day 2. *Hum Reprod* 12:Abstract Book 1, pp95
- 8) Kligman I, Benadiva C, Alikani, et al (1996) The presence of multinucleated blastomeres in human embryos is correlated with chromosomal abnormalities. *Hum Reprod* 11:1492-1498
- 9) Munne S, Magli C, Morton P, et al (1998) Decrease in spontaneous abortions after genetic diagnosis of aneuploidy at the 8-cell stage. *Fertil Steril* 70:Suppl 1, pp56

(受付：1998年11月11日)

(受理：1999年2月2日)

The Effect of Maternal Age on the Frequency of Multinucleated Embryos in Patients Undergoing Intracytoplasmic Sperm Injection.

Yoshitaka Fujii

Institute of Medical Science, Kurashiki Medical Center

Kurashiki 710-8522, Japan

Hiroaki Motoyama

Department of Obstetrics and Gynecology, Kurashiki Medical Center

Kurashiki 710-8522, Japan

The purpose of this study was to determine if multinucleation of embryos is increased in embryos from aged female patients. Among intracytoplasmic sperm injection cycles analyzed, embryos exhibiting multinuclear blastomeres (EMNB) were present in 43.0% (89/207 cycles) of cycles. Among embryos analyzed, 18.9% (154/817 embryos) were EMNB. The presence of EMNB was not correlated with maternal age when compared between two age groups (24-34 and 35-44 years). The presence of EMNB was further analyzed by dividing the embryos into four classes with their morphology and developmental speed. Then significantly high proportion of EMNB was demonstrated in aged group (13.6%) (22/162 embryos) compared to young group (3.5%) (7/203 embryos) among highest class embryos (grade A, ≥ 4 cell) analyzed (χ^2 , $p < 0.0004$). Since highest class embryos were usually selected for transfer, it is possible that the decrease in pregnancy rates in aged female patients was caused by transfer of these low quality embryos.

Key words : aged female patient, human embryo, multinucleation

(Jpn J Fertil Steril 44:127-131 1999)

予定月経発来前のhCG β 値による 妊娠診断ならびにその予後判定に関する検討

Diagnosis of Pregnancy and Prognosis by hCG β Value before Onset of the Scheduled Menstruation

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

大阪医科大学産婦人科学教室

後 山 尚 久 植 木 實
Takahisa USHIROYAMA Minoru UEKI

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

予定月経発来前のBBT+12Day(基礎体温高温相12日目)の血中hCG β 値による、早期妊娠診断ならびにその予後の判定をretrospectiveに検討した。さらに流産者の予後別の各種不育症因子を調べることにより、妊娠最終経過による不育症原因の予知の可能性も検討した。hCG β 値はIMXアナライザーによるhCG β ダイナパックEIA法(ダイナボット社)によって、即日自家assayした。対象はBBTの高温相と低温相が明瞭に鑑別可能な、23歳から44歳の137例(原発性96例、続発性41例)153周期でretrospectiveに非妊娠群(45周期)、非妊娠hCG製剤使用群(40周期)、妊娠群68例(流産; 40例、生児獲得28例)に分類した。各群のhCG β 値はそれぞれ 0.54 ± 1.08 mIU/ml、 5.14 ± 2.85 mIU/ml(最高値; 9.60 mIU/ml)、(流産; 26.82 ± 27.17 mIU/ml、生児獲得; 85.26 ± 118.17 mIU/ml)であった。20 mIU/ml以上の予後良好率は61.5%であった。

流産者の妊娠最終経過別の各種不育症因子の診断率は予後と関係なくhCG群(hCG β 値 10 mIU/ml以上、GS未確認)とGS群(GS確認、Heart Beat未確認)では自己免疫異常不育症が、Heart Beat群(Heart Beat確認後胎児死亡; すべて予後良好判定例)では同種免疫異常不育症の診断率が高かった。

以上より、月経発来前のBBT+12Dayの血中hCG β 値により、妊娠ならびに予後の診断が可能であり、cut off値はそれぞれ10 mIU/ml、20 mIU/mlが妥当と結論された。また予後良好と判定されたにもかかわらず流産に終わったHeart Beat群は同種免疫異常不育症の可能性が高いと推察された。

キーワード: hCG β , 妊娠, 流産, 不育症

(日不妊会誌 44:133-137 1999)

緒 言

不妊症の診療現場では、診療側も患者側も一日も早い妊娠診断を望み、さらに予後判定法の確立も期待されている。我々はこの課題を実現するために研究を重ね^{1,4)}、BBT+16Day(基礎体温高温相16日目)のhCG β 値により妊娠の早期診断ならびに予後判定が可能なることを報告してきた。我々の施設では既に患者にそれらの情報を即日知らせる診療システムを完成して、日常的に運用している。妊娠早期診断に限れば同時期は一般に市販されているモノクロナール抗体による尿の妊娠試薬でも勿論可能である。しかし、不妊症・不育症を専門とする医療施設が同じレベルで満足するわけにはいかない。そこで我々は、より早い時期での妊娠ならびに予後診断を実現すべく、予定月経発来前であるBBT+12Dayの血中hCG β 値による妊娠の早期診断と予後判定について内分泌学的に検討した。予定月経発来前に妊娠診断が可能となれば、従来、月経と誤診されてきた早期流産が表面化し、不妊症が着床障害に基づく不育症が原因であったという症例が判明し、その後の検査・治療方針がよりの確になると考えられ、不妊症・不育症診療への貢献は計り知れない。しかし、これらの問題点に関する報告は未だにみられない。本稿では我々のBBT+16Dayでの報告^{3,4)}を一歩すすめて、BBT+12Dayにおけるより早い診断を試み、同時に流産予知、さらには不育症の原因についても検索、考察を試みた。

対象および方法

1 対 象

1991年から1998年にかけて、挙児希望で来院した、BBTの高温相と低温相が明瞭に鑑別できる、23歳から44歳の137例(原発性;96例, 続発性;41例)153周期を、以下の基準によりretrospectiveに三群に分類した。

1) 非妊娠群(45周期)

AID休止周期、卵管完全閉鎖例など妊娠が成立しないことがあらかじめ判明しており、検査の趣意を説明して同意を得た症例

2) 非妊娠hCG製剤使用群(40周期)

排卵誘発あるいはluteal support目的でBBT+5DayまでhCG製剤(プレグニール5000IU, 日本オルガノン)を最高3回筋注したが、臨床経過(各種不妊因子が不良である)から妊娠の可能性が極めて低く、高温相

の持続が14日以内で月経様出血を認めた症例。

3) 妊娠群(68症例)

免疫不育症に焦点を絞るため、子宮筋腫、頸管無力症、子宮奇形、甲状腺機能障害は対象から除外した。また2回以上の流産の既往を有する症例はあらかじめ染色体検査(末梢血液培養G分染法;夫婦)、HLA-A(1~3, 11, 23~26, 28, 29, 30~34, 36, 66), B(7, 8, 13, 14, 17, 18, 27, 35, 37~39, 41, 42, 44~63, 67, 70, 73, 75), C(W1~7), DR(1~12, 52, 53), DQ(1~4)抗原typing(リンパ球細胞毒試験法;夫婦)を行い、クラスII抗原sharing2個以上あるいは夫固有同抗原2個以下は同種免疫異常^{3,5)}と診断した。

自己免疫異常因子としては抗核抗体(ANA:FA法, cut off; 40倍), 抗cardiolipin抗体(ACA IgG, ACA IgM:ELISA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)。

初めての妊娠が流産に終わった症例には不育症の可能性を説明して同意を得たうえで上記の検査を行った。本群は妊娠の最終経過から以下の四群に分類した。

hCG群

hCG β 値は10mIU/ml以上であったが、GSの確認に至らなかった症例。

GS群

GSは確認したが、Heart Beatの確認に至らなかった症例。

Heart Beat群

Heart Beatを確認したが、生児獲得に至らなかった症例。

生児獲得群

生児を獲得した症例。

2 血中hCG β 値の測定

hCG β 値はBBT+12DayにIMXアナライザーによるhCG β ダイナパックEIA法(ダイナボット社)によって測定した。本法による正常非妊婦のcut off値は平均0.64mIU/ml(0.00~1.50mIU/ml)で、LH、FSHは1000mIU/ml、TSHは2000mIU/mlまで交叉反応は認められないと報告されている⁶⁾。尿検査で同時再現性の2.04~3.57%に対して4.13~5.54%と高率になる日差変動⁷⁾に配慮して、採血後直ちに血清を分離し、5時間以内に自家assayした。

結果はM \pm SDで示し、有意検定はStudent-t testによった。

結 果

1 非妊娠群のhCG β 値(図1)

39症例45周期の最高値は4.71mIU/ml, 最低値は0mIU/ml(18周期; 40.0%)であり, 平均値は0.54±1.08mIU/mlであった.

2 非妊娠hCG製剤使用群のhCG β 値(図1)

30症例40周期の最高値は9.60mIU/ml, 最低値は0mIU/ml(2例; 5.0%)であり, 平均値は5.14±

2.85mIU/mlであり, 非妊娠群より有意(P<0.01)に高値であった.

3 妊娠群のhCG β 値(図2)

生児獲得28症例の最高値は640.76mIU/ml, 最低値は11.2mIU/ml, 平均値は85.26±118.17mIU/mlであった. 流産40症例では最高値156.17mIU/ml, 最低値10.27mIU/ml, 平均値は26.82±27.17mIU/mlであり, 有意(P<0.01)に低値であった.

予後良好率はcut off 20mIU/mlで61.5%, 30mIU/mlで67.9%, 50mIU/mlで80.0%であった.

4 流産例の妊娠最終経過別hCG β 値(図3)

hCG群(20例)の平均値は13.08±2.23mIU/ml, GS群(12例)は26.53±13.35mIU/ml, Heart Beat群(8例)は61.08±44.16mIU/mlであり, それぞれ前群に比して有意(P<0.01, P<0.05)に高値であった.

5 妊娠最終経過別不育症因子診断率(表1)

各群の予後不良例(流産例)と良好例(生児獲得例)の頻度はhCG群(19例; 95.0%, 1例; 5.0%), GS群(5例; 41.7%, 7例; 58.3%), Heart Beat群(0例; 0.0%, 8例; 100.0%)であり, 妊娠経過の進行につれて

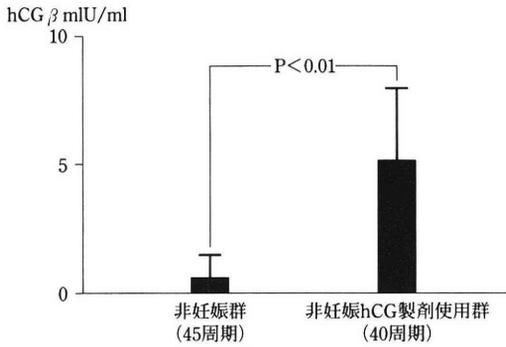


図1 非妊娠群のBBT+12DayのhCG β 値

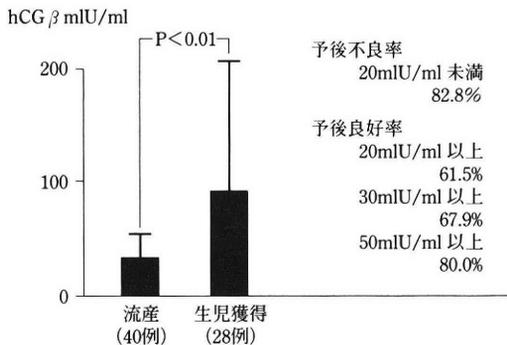


図2 妊娠群のBBT+12DayのhCG β 値

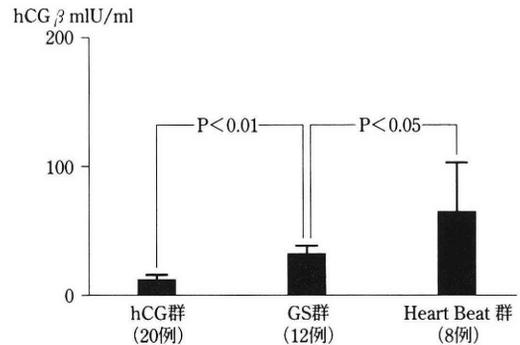


図3 流産群の妊娠最終経過とBBT+12DayのhCG β 値

表1 流産の最終経過と不育症因子診断率

		なし	ANA	ACA IgG	ACA IgM	同種免疫異常
hCG群	予後不良(19例)	52.6%	15.8%	0.0%	31.6%	26.3%
	予後良好(1例)	100.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
GS群	予後不良(5例)	60.0%	0.0%	20.0%	0.0%	20.0%
	予後良好(7例)	28.6%	0.0%	14.2%	0.0%	57.1%
Heart Beat群	予後不良(0例)	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	予後良好(8例)	12.5%	25.0%	0.0%	25.0%	75.0%

予後良好例が高率になった。また、各種不育症因子の診断率(重複例が存在するので合計は100%以上になる)は予後不良例においてはANA・ACA等の自己免疫異常因子が、予後良好例では同種免疫異常の診断率が高かった。さらに後者の診断率は妊娠経過の進行に伴って高まった。

hCG β 値20mIU/ml以上で予後良好と判定されたものの、流産に終わった16例中、各種不育症因子と診断されたのが11例(68.8%)であったのに対して予後不良群では24例中12例(50.0%)と低率であった。不育症因子重複例は予後良好群では11例中2例(18.2%)であるのに対して、予後不良群では12例中4例(33.3%)と高率であった。

考 察

最初にhCG β ダイナパックEIA法によるBBT+12Dayの妊娠診断値について論考する。杉内等⁶⁾は本法による正常非妊婦のcut off値は平均0.64mIU/ml(0.00~1.50mIU/ml)で、交叉反応は非生理的レベルであるLH、FSH 1000mIU/ml、TSH 2000mIU/mlまで認められないと報告している。

今回の非妊娠群のhCG β 値のM+3SDは3.78mIU/mlであった。この99%の分布最高値に杉内等の報告以上の交叉反応を加えて、妊娠診断のcut off値を切りの良い5mIU/mlに設定したとしても低きに過ぎることはないと考えられる。

不妊症の診療においては排卵誘発あるいはluteal supportを目的としてhCG製剤が頻用されている。従って、同製剤の血中hCG β 値に及ぼす影響を検討する必要がある。我々は既にBBT+16Dayを対象とした研究²⁾で、測定7日前までに5000IU製剤を複数回筋注した場合のcut off値を10mIU/mlと報告したが、BBT+12Dayではどうであろうか。hCG β 値の最高は9.60mIU/ml、平均値は5.14 \pm 2.85mIU/mlであり、同製剤を筋注しなかった症例に対する有意の増加は4.60mIU/mlであった。同製剤の代謝の個人差を考慮しても、その影響は最大10mIU/mlに留まると考えられた。従って、hCG製剤5000IUを筋注している場合でも7日以上の間隔があれば、BBT+12Dayの妊娠cut off値はBBT+16Dayと同様に10mIU/mlに設定してよいと結論された。

次にhCG β 値による妊娠の予後判定(生児獲得予知)について考えたい。今般、10mIU/ml以上をもって妊娠と診断された症例のhCG β 値と予後を解析すると、予後不良の最高値は156.20mIU/ml、予後良好例の最低値は11.20mIU/mlであり、予後良好率は

20mIU/ml以上で61.5%、30mIU/ml以上で67.9%、50mIU/ml以上で80.0%であった。また、予後良好例においては20mIU/ml以上の症例が92.86%に及んだ。以上より予後診断のcut off値は20mIU/mlが妥当と考えられた。

流産症例の妊娠最終経過別のhCG β 値はBBT+16Dayの場合と同じく³⁾妊娠の進行に伴って有意に増加した。この事実は妊娠の予後はhCG β 値で評価し得る、着床状況によって規定されることを意味しており、BBT+12Dayの場合も同様に考えてよいと思われる。

ところで、我々はBBT+16DayのhCG β 値が予後判定のcut off値200mIU/ml以上であったにもかかわらず、流産に終わった症例の60.5%(膠原病感受性HLA-DR4抗原保有例を含めれば81.3%)に各種免疫学的不育症因子が証明される事実を報告⁴⁾しているが、今回のBBT+12Dayの研究においても20mIU/ml以上の流産例で、より高率である68.8%(膠原病感受性HLA抗原保有例を除く)に診断された。それ故、ここでも予後良好例が流産に終わった場合、その原因を各種不育症因子にもとめることに不合理はない。

BBT+16Dayの研究においては予後良好のhCG群とGS群では自己免疫異常不育症が、Heart Beat群では同種免疫異常不育症の診断率が高かったが⁴⁾、今回の研究でも同様な傾向が認められた。ただし、hCG群とGS群での自己免疫異常因子の診断率は予後不良例の方が高率であった。

この事実は、例え初めての流産でも予後良好例が流産に終わった場合は既往流産回数に拘泥することなく、少なくとも妊娠最終経過から推測される不育症因子は積極的に調べる必要があると考えられた。

以上のことから、予定月経発来前のBBT+12DayにおけるhCG β 値定量による妊娠診断の利点は数多く、単に早期診断にとどまらず、予後の診断、月経と誤診されてきた超早期流産の判明、さらには流産経過による不育症の判明などが挙げられ、不妊症・不育症診療での有用性はきわめて高いと考えられる。さらに、今後は問題となっている良好胚の着床障害への各種不育症因子の関与⁸⁾を解明する糸口になると思われ、IVF-ETの成績向上にもつながると思われる。

文 献

- 1) 假野隆司(1988) Two-stepsandwich法応用ディスク式HCG EIA test(HCGテストパック)の半定量判

- 定の妊娠の早期予後診断. 日不妊誌 33:719-724
- 2) 假野隆司, 出馬淳名, 伊藤正尚(1988) BBT高温16日のhCG値による妊娠およびその予後の判定. 日不妊誌 33:330-337
 - 3) 假野隆司(1992) 妊娠早期予後診断を応用した習慣性流産の早期診断の試み. 日不妊誌 37:527-249
 - 4) 假野隆司, 古殿正子, 奥山恵子 他(1995) hCG値による不育症の早期診断の試み. 日不妊誌 40:245-249
 - 5) 假野隆司(1998) 反復流産(不育症)と漢方療法. 産婦世界 50:227-234
 - 6) 杉内 淳, 村上圭子, 松田莊正 他(1990) IMXアナライザー(全自動EnzymeImmunoassayKit)による β -HCG測定. 産婦世界 42:1151-1156
 - 7) 西村忠孝, 南雲文男, 植田 寛 他(1996) IMXを用いた産婦人科領域における迅速・高感度尿中 β hCG測定法の検討. 臨産婦 50:113-117
 - 8) 星野恵子, 正岡 薫, 根元 央 他(1998) IVF-ETの反復流産における移植免疫学的機序と免疫療法の有効性について. 受精着床誌 15:109-112
- (受付: 1998年11月30日)
(受理: 1999年1月27日)

Diagnosis of Pregnancy and Prognosis by hCG β Value before Onset of the Scheduled Menstruation

Takashi Kano, Masako Furudono, Mariko Kano and Misako Ishii

Medical Corporation Kano Clinic, Osaka 542-0073, Japan

Takahisa Ushiroyama and Minoru Ueki

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

We examined early diagnosis of pregnancy and prognosis based on the blood concentration of hCG β on BBT+12th Day before onset of the scheduled menstruation. We also examined estimation of the causes of habitual abortion based on the last term of pregnancy of the patients who had miscarried by prospective prognosis. The hCG β value was assayed by ourselves on the same Day by the hCG β Dynapack EIA method (Dynabott, Co., Ltd) using IMX analyzer.

Subjects were 153 periods of 137 cases (96 primary cases and 41 secondary cases) aged between 23 and 44 years old in which the high- and low-temperature phase of BBT(basal body temperature) are clearly distinguishable and these were divided retrospectively into the non-pregnant group (45 periods), non-pregnant hCG group (40 periods) and pregnant group (68 cases: abortion;40 cases, live child birth; 28 cases). The hCG β concentrations in the respective groups were 0.54 ± 1.08 mIU/ml, 5.14 ± 2.85 mIU/ml(9.60 mIU/ml at the maximum), 26.82 ± 27.17 mIU/ml and 85.26 ± 118.12 mIU/ml. The rate of satisfactory prognosis in the cases with 20 mIU/ml or above was 61.5%.

The diagnostic rate of habitual abortion factors by the last term of pregnancy in subjects suffering miscarriage was independent of prospective prognosis. In the hCG group and the GS group, the diagnosis rate was high, and in the Heart Beat group (prospective prognosis was good in all), the diagnosis rate as abnormal allogenic immunity habitual abortion was high.

From these observations, it was concluded that diagnosis of pregnancy and that of prognosis are possible from blood hCG β level on BBT +12th Day before onset of the scheduled menstruation, and appropriate cut-off values were 10 mIU/ml and 20 mIU/ml, respectively. In addition, a high probability of allogenic abnormal immunity habitual abortion was inferred in the Heart Beat group in which prospective prognosis was good.

Key words: hCG, pregnancy, abortion, habitual abortion.

(Jpn J Fertil Steril 133:137 1999)

Usefulness of the Acrobeads Test Using Human Spermatozoa Treated with Ca Ionophore

Yaming ZHU

Department of Obstetrics and Gynecology, Hiroshima University, Faculty of Medicine,
Hiroshima 734-8551, Japan.

Abstract: To evaluate the usefulness of the Acrobeads test, the test as originally described (original test) and also modified by using Ca ionophore-induced acrosome reaction (AR) of the spermatozoa (AR-induced test) were performed simultaneously. The results were also compared to the percentage of acrosome reacted spermatozoa (%AR) as determined by staining with FITC-PSA and Hoechst 33258. Highly motile spermatozoa were collected by a swim-up method from 37 patients. The sperm suspension was then divided into three aliquots: one for the original test; one for the AR-induced test and one for acrosomal staining to determine the %AR. In the latter two suspensions, the spermatozoa were treated with Ca ionophore A23187 (10 μ M) for one hour before evaluation.

The Acrobeads score in the AR-induced test (AR-induced score) at 3, 6 and 24 hours showed a linear correlation with that in the original test (original score) at 24 hours ($r=0.65$, $r=0.62$, $r=0.65$, respectively) ($p<0.01$). In 4 patients the original score at 24 hours was 0, indicating severely impaired acrosomal function. The AR-induced score of these 4 patients was also 0 at 3, 6 and 24 hours. The %ARs of the 4 patients ($5.6 \pm 2.4\%$) were lower than those of the patients with original scores from 1 to 4 ($23.0 \pm 9.9\%$, $30.6 \pm 24.6\%$, $36.4 \pm 12.4\%^*$, $34.5 \pm 17.8\%^*$, respectively) ($^*: p<0.01$), and this agreed with the previous report in which all of the patients with a %AR of less than 11% effected no fertilization in IVF. These results indicate that the new Acrobeads test applied to the spermatozoa treated with the ionophore can accurately and rapidly evaluate sperm acrosomal status, and an AR-induced score of 0 at 6 hours indicates severe impaired acrosomal function.

Key words: spermatozoa, Acrobeads test, acrosome reaction, fertilizing ability

(Jpn J Fertil Steril 44:139-145 1999)

Introduction

Knowing the fertilizing ability of a patient's spermatozoa is essential for infertility treatments. Therefore, various sperm functional tests have been developed and applied in clinical practice, as well as the conventional semen analysis.

The acrosome reaction (AR) is an exocytotic process which involves multiple fusions of the plasma membrane and outer acrosomal membrane, resulting in release of the acrosomal contents and exposure of the inner acrosomal membrane¹). Since the AR is essential for human spermatozoa to fertilize the oocyte, evaluation of the sperm's ability to undergo AR was

expected to be a useful sperm functional test. Indeed, by use of fluorescein isothiocyanate-conjugated *Pisum sativum* agglutinin (FITC-PSA) it has been demonstrated that the percentage of acrosome-reacted spermatozoa after exposure to Ca ionophore A23187 (ionophore) as an AR-inducer is significantly lower in subfertile or infertile patients than in fertile men^{2,3}). In these reports, however, no decrease in the rate of acrosome-reacted spermatozoa in the subfertile or infertile patients was observed when the spermatozoa were not exposed to the ionophore.

The Acrobeads test was developed to evaluate sperm AR utilizing the MH61 monoclonal antibody which recognize CD46 antigen expressed on

acrosome-reacted spermatozoa⁴⁾. In the Acrobeads test as originally described, spermatozoa were incubated in medium containing no AR-inducer such as the ionophore, and the proportion of acrosome-reacted spermatozoa was determined by the degree of agglutination between the spermatozoa and the MH61-coated beads. A correlation was observed between the results of the Acrobeads test (Acrobeads score) and the results of a sperm penetration assay using zona-free hamster oocytes⁴⁾. The Acrobeads score was significantly higher in fertile men than in infertile men with normal or abnormal seminal findings⁵⁾. However, the clinical usefulness of the Acrobeads test is still controversial. The clinical usefulness of the Acrobeads test in predicting the outcome of IVF was reported by a multi center study in Japan⁶⁾, but there is also a report of a study that failed to demonstrate usefulness of the Acrobeads test in IVF⁷⁾. In general, the percentage of spermatozoa that undergo AR in capacitation media without any AR-inducer (spontaneous AR) is considerably lower than that which occurs in the presence of an AR-inducer such as the ionophore (induced AR). In fact, when the Acrobeads test is applied to spontaneous AR, incubation times of up to 24 hours are required, and this may obscure the results of the test.

In the present study, the Acrobeads test was applied to both AR-induced spermatozoa and non-induced spermatozoa as originally described, and the results were compared. In addition, the results of the Acrobeads test were compared to the acrosomal status determined by FITC-PSA staining of the spermatozoa.

Materials and Methods

Semen preparation

The following experiment was performed under the Guidelines of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology (1985) and the registration to the Society.

Semen samples were obtained from 37 patients attending the infertility clinic of the Hiroshima University Hospital. Semen samples were obtained by masturbation after at least 4 days of abstinence and allowed to liquefy for 30 minutes at room temperature. Completely liquefied semen was analyzed for the standard semen parameters according to the World Health

Organization (WHO) (1987)⁸⁾. Highly motile spermatozoa were obtained by a swim-up method as follows. A semen sample (0.5~1 ml) was gently layered under 2 ml of modified Biggers-Whitten-Whittingham medium (mBWW) supplemented with 0.3% human serum albumin (HSA) (Fr. V) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) in a sterile tube. The tube was inclined at a 30° angle and incubated for 1 hour (37°C, 5% CO₂ in air). Subsequent incubation was performed under the same conditions. The uppermost 1.2 ml of the mBWW containing spermatozoa was collected in a tube and centrifuged for 5 minutes at 180×g. The sperm pellet was washed once with fresh mBWW supplemented with 0.3% HSA, and the spermatozoa were resuspended in mBWW supplemented with 3.5% HSA (this medium was used in all subsequent steps).

The sperm suspension was then divided into 3 aliquots: one for the Acrobeads test as originally described (original test), another for the modified Acrobeads test using the ionophore-induced AR (AR-induced test) and the third for acrosomal staining by FITC-PSA and Hoechst 33258 to determine the percentage of acrosome reacted spermatozoa (%AR). The first aliquot of the sperm suspension was incubated for 1 hour, and then the sperm concentration was adjusted to 4×10⁶ motile spermatozoa/ml in medium. A stock solution of the ionophore (Nacalai Tesque Inc., Kyoto, Japan) was added to the second aliquot of the sperm suspension to make a final concentration of 10 μM before the spermatozoa were incubated for 1 hour. The sperm suspension was centrifuged for 5 minutes at 180×g and the supernatant was discarded. The sperm pellet was washed once in medium before the sperm concentration was adjusted to 4×10⁶ motile spermatozoa per ml.

The Acrobeads tests

The original and AR-induced tests were performed as follows. The Acrobeads tests (Fuso Pharmaceutical Co. Ltd., Osaka, Japan) were performed according to the directions provided with the kits except that the sperm suspensions were incubated for 1 hour with or without the ionophore before the Acrobeads test was applied. The test was carried out in 4 wells of a FALCON 96-well flat-bottomed tissue culture plate (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). Four serial

of the sperm suspension were pipetted into the wells. Ten microliters of suspended immunobeads (1.5×10^6 /ml) were added to each well. After incubation for 3, 6 and 24 hours, the degree of sperm-beads agglutination was determined by examination at $\times 100$ magnification of an inverted phase-contrast microscope (Nikon Co., Tokyo, Japan). Five different fields (upper, center, lower, left and right) were observed in each well. When all beads were bound to spermatozoa, a field was considered to be positive. A negative field was defined by the presence of free beads. The agglutination for a particular sperm concentration was considered positive when 3 or more of the 5 fields were positive. The Acrobeads scores are shown in Table 1. The sperm motility was examined after 24 hour's incubation.

Measurement of the %AR

Sperm acrosomal status was ascertained according to the methods described by Cross et al.⁹, with some modifications. An aliquot of the sperm suspension in mBWW supplemented with 3.5% HSA was incubated for 5 hours, and then treated with the ionophore ($10 \mu\text{M}$) for 1 hour. The suspension was centrifuged for 5 minutes at $180 \times g$, and the supernatant was removed leaving approximately 0.25 ml of the medium and sperm pellet. Hoechst 33258 (Sigma; $1 \mu\text{g}/\text{ml}$) was added and the preparation was incubated for 7 minutes. The sperm suspension was then centrifuged for 5 minutes at $180 \times g$. The sperm pellet was smeared onto a glass slide and air-dried. The slide was immediately dipped into 100% methanol for at least 30 min-

utes at 4°C to permeabilize the sperm membrane. After the sperm slide was air-dried, it was stained with FITC-PSA ($100 \mu\text{g}/\text{ml}$) (Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA) for 15 minutes. The sperm slide was washed with distilled water and air-dried before it was observed under an epifluorescence microscope (Nikon, X2F-EFD2) using UV and B2 exciting filters (Nikon) with $\times 1000$ (oil lens) magnification.

Only spermatozoa with faint staining (not bright staining) in the posterior head region by Hoechst 33258 (alive) and with staining at the equatorial segment by FITC-PSA were considered to be normally acrosome reacted. At least 300 spermatozoa per aliquot were examined and the percentages of normally acrosome reacted spermatozoa (%AR) were calculated.

Statistical analyses

All statistical analyses were performed with StatView-J 4.5 software (Hulinks, Tokyo, Japan). Statistical significance was set at $P < 0.01$. The statistical significance of the difference between the mean values of the %AR was analyzed by Student's t-test. The statistical significance of difference between the mean Acrobeads scores was analyzed by using Wilcoxon Summed Rank Test. To estimate the relationship of the Acrobeads score and %AR, data were analyzed by Spearman's Rank Order Correlation.

Results

Twenty-nine samples were diagnosed as normozoospermic (sperm concentration $\geq 20 \times 10^6$ /ml and progressive motility $\geq 50\%$), and 8 samples as oligo- and/

Table 1 Evaluation of the Acrobeads score

Serial dilution of sperm	Well 1	Well 2	Well 3	Well 4	Acrobeads score
	1	$\times 2$	$\times 4$	$\times 8$	
	-	-	-	-	0
	+	-	-	-	1
	+	+	-	-	2
	+	+	+	-	3
	+	+	+	+	4

Well 1 contains 4×10^6 /ml of motil sperm. Each well contains 0.15×10^6 MH61-coated beads. Each well was observed in 5 different fields (upper, center, lower, left and right). If all beads were bound to spermatozoa, the field was judged to be positive. If free beads were present, the field was judged to be negative. The agglutination was positive when 3 or more of the 5 fields were considered positive (+), otherwise it was negative (-). The Acrobeads score represented the number of positive wells (from Ohashi et al.⁴).

or asthenozoospermic. The sperm motility after swim-up was significantly higher than that in the semen sample ($91.0 \pm 21.8\%$ vs $71.5 \pm 21.8\%$). After treatment with the ionophore for one hour, the sperm motility decreased significantly to $67.6 \pm 21.2\%$. After incubation for 24 hours, the sperm motility further decreased to $33.0 \pm 23.2\%$ in the original test and to $18.3 \pm 18.5\%$ in the AR-induced test.

The Acrobeads scores from the original test (original score) and from the AR-induced test (AR-induced score) at 3, 6 and 24 hours were compared (Fig. 1). Both the original and AR-induced scores increased significantly with greater incubation periods, and the AR-induced score was significantly higher than the original score at 3 and 6 hours.

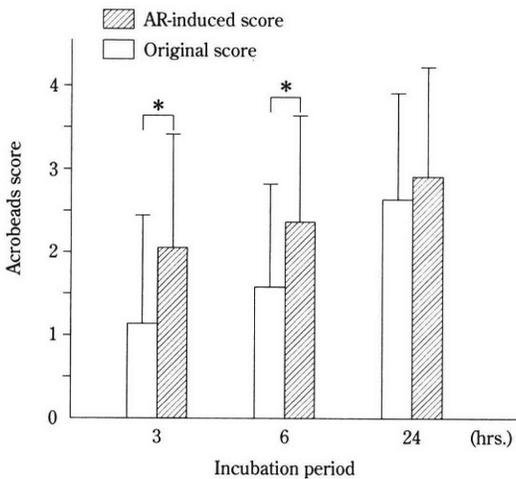


Fig.1 Comparison between the original score and AR-induced score (n=37).

*P<0.01.

The AR-induced score at 3, 6 and 24 hours showed a linear correlation with the original score at 24 hours (Fig. 2). In samples from 16 patients (43.2%) the AR-induced score at 3 hours was the same as the original score at 24 hours. This coincidence rate increased to 59.5% for the AR-induced scores at 6 hours and slightly decreased to 48.6% for the AR-induced scores at 24 hours. According to a report⁶⁾ comparing the results of the original Acrobeads test and the outcome of IVF, patients with an original score of 0 at 24 hours are considered to have impaired sperm fertilizing ability. Of the 37 patients examined, 4 patients (10.8%) had an original score of 0 at 24 hours, and the AR-induced

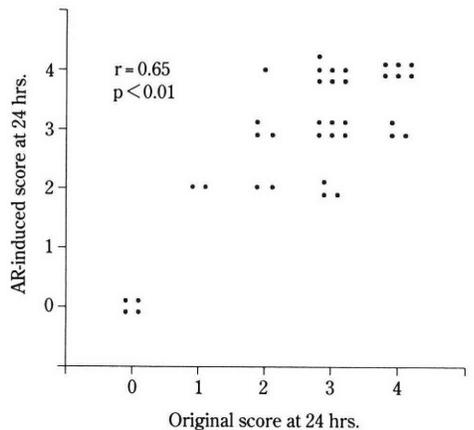
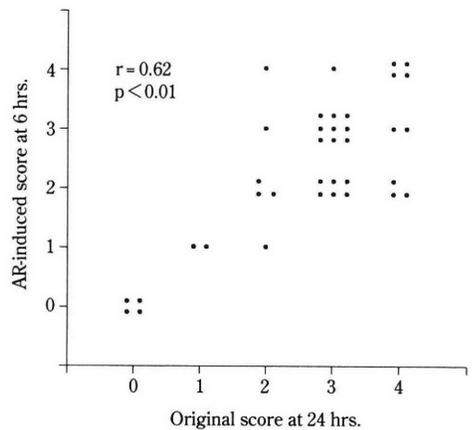
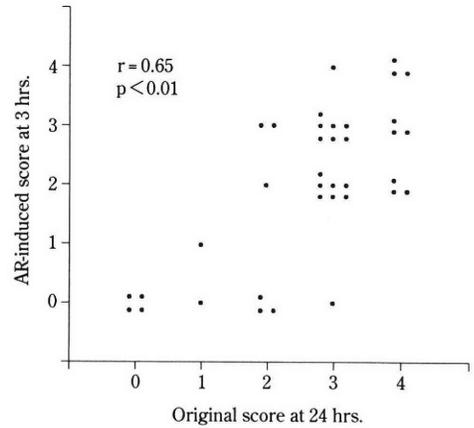


Fig.2 Correlation between the AR-induced scores and the original score at 24 hrs. (n=37).

score of the 4 patients remained at 0 up to 24 hours (Fig. 2). In the other patients that showed an original score from 1 to 4 at 24 hours, the AR-induced scores generally increased with the incubation period.

Table 2 The Acrobeads scores and the %AR

Acrobeads score	No. of samples	No. of samples with the %AR of less than 11%	%AR (mean \pm SD)
original at 24 hrs.			
0	4	4	5.6 \pm 2.4
1	2	0	23.0 \pm 9.9
2	6	2	30.6 \pm 24.6
3	16	0	36.4 \pm 12.4 *
4	9	0	34.5 \pm 17.8 *
induced at 3 hrs.			
0	9	6	16.1 \pm 16.4
1	1	0	16.1
2	11	0	28.8 \pm 10.5
3	12	0	44.9 \pm 17.3 *
4	4	0	32.0 \pm 6.4 *
induced at 6 hrs.			
0	4	4	5.6 \pm 2.4
1	3	0	28.7 \pm 12.1
2	12	2	23.1 \pm 11.8
3	12	0	41.9 \pm 15.1 *
4	6	0	42.3 \pm 16.8 *
induced at 24 hrs.			
0	4	4	5.6 \pm 2.4
1	0	0	—
2	7	0	28.2 \pm 9.1 *
3	12	2	32.5 \pm 18.2 *
4	14	0	38.2 \pm 17.0 *

* compared to the score of 0, $P < 0.01$

The %AR of the patients with original (at 24 hours) and AR-induced scores of 0 were considerably lower than those of the patients with scores from 1 to 4 in each group, although statistical significance was not always observed due mainly to the small number of samples with some scores (Table 2). Previous results¹⁰ in the author's laboratory showed that semen samples with less than 11%AR have impaired sperm fertilizing ability in IVF. Of the 37 patients examined, 6 had a %AR of less than 11% and the %AR's of the 4 patients with an original score of 0 at 24 hours and an induced score of 0 up to 24 hours were 3.0%, 4.3%, 7.0% and 8.3%.

Discussion

The present data indicate that the Acrobeads score increases when the spermatozoa are treated with Ca ionophore before the Acrobeads test is applied. As the

acrosome-reacted spermatozoa selectively bind to the beads¹¹) and the Acrobeads score increases as the number of acrosome-reacted viable spermatozoa increases⁴), the observed increase in the induced score was due to an increase in acrosome-reacted spermatozoa following treatment with the ionophore. When the Acrobeads test is performed without any AR-inducer (= original test), the cumulative number of spermatozoa that undergo spontaneous AR during the incubation influences the score. In contrast, the ionophore-induced AR occurs more rapidly and synchronously after exposure, resulting in higher induced scores than original scores at the same incubation period. Since spermatozoa are required to swim to the bottom of the well to make contact with and bind to beads in the Acrobeads test¹¹), a decrease in sperm motility after treatment with the ionophore may reduce the Acrobeads score. However, this is overcome by the increase in acrosome-reacted spermatozoa. In the present study, an incubation period of 6 hours in the AR-induced test resulted in similar scores as in the original test at 24 hours. Therefore, results of the Acrobeads test would be more rapidly obtained by introducing the AR-induced test.

The clinical usefulness of the Acrobeads test in predicting the outcome of IVF is still controversial. The FAB-25 Study Group⁶) performed a multicenter study in which a total of 210 cases of IVF were collected from 20 University Hospitals in Japan. It was found that 31 patients had an (original) Acrobeads score of 0 at 24 hours and 15 of the 31 patients (48%) effected no fertilization in the IVF attempt. As to the patients with Acrobeads scores of 1 to 3 and 4, the percentage of patients that had no fertilization in IVF was 13% and 0%, respectively. From these results, the Study Group concluded that the Acrobeads test is useful for assessing the fertilizing capacity of human spermatozoa in IVF. On the other hand, Hershlag et al.⁷) reported that there was no correlation between the original Acrobeads score at 6 hours or 24 hours and the fertilization rates in IVF for 97 patients. In this study, 3 patients (3.1%) had an Acrobeads score of 0 at 24 hours and the fertilization rate of the patients in IVF was around 80%. The Acrobeads scores at 24 hours in 3 patients who showed no fertilization in IVF were 1, 2 and 3.

Since many different processes enable human spermatozoa to fertilize, we should not expect a test that evaluates only a limited set of functions (e.g. ability to undergo the AR or to bind to the zona pellucida) to have a high predictive value for "good" fertilization. However, a negative finding in the test will probably indicate impaired fertilizing ability. In this respect, no fertilization in IVF and an Acrobeads score of 0 should be regarded as the most important parameters in such studies. Since the percentage of patients who had no fertilization in IVF and patients with an Acrobeads score of 0 at 24 hours was very different between the two studies, the fertilizing potential of the subjects is apparently different and the results cannot be directly compared. Further studies on patients who have a poor fertilization rate in IVF are needed.

Sperm staining by FITC-PSA is a more widely used method to examine sperm AR. Yovich et al.¹²⁾ reported that semen samples with good AR ($\geq 10\%$) as determined by FITC-PSA staining after ionophore challenge have a higher fertilization rate in IVF than samples with poor AR ($< 10\%$) (67.6% vs 40.3%). Similarly, Tasdemir et al.¹³⁾ found a significantly lower percentage of acrosome loss after ionophore treatment in patients with fertilization failure in IVF than in patients with successful fertilization (23.0% vs 28.7%). Determination of the AR rate by FITC-PSA staining was also found to be useful in predicting fertilization outcome in IVF after treatment with human follicular fluid¹⁴⁾ instead of with the ionophore. The author's laboratory has examined the AR using double staining of FITC-PSA and Hoechst 33258 and reported that the %AR measured by the same protocol as in the present study was a reliable parameter for evaluating the sperm fertilizing ability in IVF¹⁰⁾. In 32 IVF attempts in which at least 4 mature oocytes were retrieved, fertilization failure was observed in 11 patients. The %AR in the failure group was significantly lower than in the fertilized group ($17.4 \pm 5.0\%$ vs $32.8 \pm 3.0\%$), and all of the 8 patients with a %AR of less than 11% effected no fertilization. From these results, a %AR of less than 11% is considered to represent severe acrosomal dysfunction in IVF.

In the present study, 4 of the 6 patients with a %AR of less than 11% had an original (at 24 hours) and induced score of 0. Therefore, the induced score of 0 at

6 hours indicates severely impaired acrosomal function as confirmed by a %AR of less than 11%. Although the clinical usefulness of the AR-induced Acrobeads test should be confirmed by the outcome of the patients in future follow-ups or by treatments including IVF, it is concluded that the AR-induced Acrobeads test is a reliable and quicker test for evaluation of sperm fertilizing ability.

Acknowledgments

The author thanks Dr. K. Ueda and Professor K. Ohama (Dept. OB/GYN, Hiroshima University) for their advice in performing the study, Professor T. Usui (Dept. Urology, Hiroshima University) for providing some semen samples and Dr. C. A. Brown (Dept. of OB/GYN, University of California, Davis) for assistance in writing the English manuscript.

References

- 1) Zaneveld LJD, Jonge CJD, Anderson RA, et al. (1991) Human sperm capacitation and the acrosome reaction. *Hum Reprod* 9 : 1265-1274
- 2) Cummins JM, Pember SM, Jequier AM, et al. (1991) A test of the human sperm acrosome reaction following ionophore challenge. relationship to fertility and other seminal parameters. *J Androl* 12 : 98-103
- 3) Fenichel P, Basteris B, Donzean M, et al. (1991) Dynamics of human sperm acrosome reaction: relation with in vitro fertilization. *Fertil Steril* 55 : 994-999
- 4) Ohashi K, Okabe M, Saji F, et al. (1992) Evaluation of acrosomal status using MH61-beads test and its clinical application. *Fertil Steril* 58 : 803-808
- 5) Fuse H, Sakamoto M, Takamine T, et al. (1995) Acrobeads test using monoclonal antibody-coated immunobeads: clinical application. *Arch Androl* 34 : 1-7
- 6) Tanizawa O, Inoue M, Saji F, et al. (1995) Multi-center study of FAB-25, a test kit of the Acrobeads test, to evaluate the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Jap J Fertil Steril* 40 : 768-773
- 7) Hershlag A, Paine T, Scholl GM, et al. (1997) Acrobeads test as a predictor of fertilization in vitro. *AJRI* 37 : 291-299
- 8) World Health Organization (1987) WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge University Press, Cambridge, pp3-15

- 9) Cross NL, Morales P, Overstreet JW, et al. (1986) Two simple methods for detection acrosome reacted sperm. *Gamete Res* 15 : 213-226
- 10) Ueda K, Shinko Y, Kinutani M, et al. (1994) Sperm acrosome reactions induced by Ca ionophore A23187 reflect the fertilizing ability in vivo and in vitro. *Fertil Steril (Suppl.)* S10
- 11) Okabe M, Matzno S, Nagira M, et al. (1992) Collection of acrosome-reacted human sperm using monoclonal antibody-coated paramagnetic beads. *Mol Reprod Dev* 32 : 389-393
- 12) Yovich JM, Edirisinghe WR and Yovich JL (1994) Use of the acrosome reaction to ionophore challenge test in managing patients in an assisted reproduction program: a prospective, double-blind, randomized controlled study. *Fertil Steril* 61 : 902-910
- 13) Tasdemir M, Tasdemir I, Kodama H, et al. (1994) Lack of calcium ionophore (A23187) induced and inducible acrosome reactions correlates with fertilization failure in vitro. *Jpn J Fertil Steril* 39 : 96-100
- 14) Calvo L, Dennison-Lagos LD, Banks SM, et al. (1994) Acrosome reaction inducibility predicts fertilization success at in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 9 : 1880-1886

(Received December 2 : 1998)

(Accepted January 27 : 1999)

カルシウムイオノフォアで処理したヒト精子を用いたアクロビーズテストの有用性

広島大学医学部産科婦人科学教室

朱 亜明

アクロビーズテストの有用性を検討する目的で、原法にしたがったアクロビーズテスト(原法)およびCaイオノフォアで先体反応を誘起した精子を用いたアクロビーズテスト(誘起法)を同時に行った。また、テストの成績を FITC-PSA および Hoechst 33258 染色による精子先体反応率と比較した。37名の患者精液から運動性良好な精子を swim-up 法で回収した後、精子浮遊液を3検体に分け、1検体は原法に、1検体は誘起法に、また1検体は先体反応率の算定に用いた。誘起法と先体反応率の算定では、精子をCaイオノフォア(10 μ M)で1時間処理した。

その結果、原法の24時間後のスコアと誘起法での3、6および24時間後のスコアの間には直線的な相関が認められた(各々、 $r=0.65$, $r=0.62$, $r=0.65$) ($p<0.01$)。原法により重症の先体反応障害と判定される24時間後のスコア0を示した例が4名認められたが、これら4名の誘起法でのスコアは3、6および24時間後ともに0であった。また、4名の先体反応率($5.6 \pm 2.4\%$)は原法のスコアが1から4であった患者の先体反応率(各々、 $23.0 \pm 9.9\%$, $30.6 \pm 24.6\%$, $36.4 \pm 12.4\%$ *, $34.5 \pm 17.8\%$ *) に比較して低値であり(*: $p<0.01$)、これは先体反応率が11%未満の症例ではIVFでの受精が認められなかったとの従来の報告と一致した。

以上の成績から、イオノフォア処理精子を用いた新しいアクロビーズテストは正確にしかもより迅速に精子先体機能の評価が可能であり、6時間後のスコアが0の場合は重症の先体反応障害と判定できると結論された。

キーワード：精子、アクロビーズテスト、先体反応、受精能

(日不妊会誌 44:139-145 1999)

Human Ovarian Surface Epithelial Cells can Produce Tissue-type Plasminogen Activator and Plasminogen Activator Inhibitor-1

Hideyuki OHTAKE, Hidetaka KATABUCHI, Nobuyuki TANAKA,
Yukitoshi FUKUMATSU, Kohei MATSUURA and Hitoshi OKAMURA

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

Abstract: We investigated the production of tissue-type plasminogen activator (tPA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) by cultured human ovarian surface epithelial (OSE) cells. After isolation OSE cells were cultured with or without hCG, epidermal growth factor (EGF), and basic fibroblast growth factor (bFGF). The concentrations of tPA and PAI-1 antigens in the conditioned medium were measured by ELISA. While tPA production was not detected in the conditioned medium from OSE cells isolated from normal ovaries, it was found in OSE cells isolated from an inflamed ovary. On that ovary, the tPA production from OSE cells was increased in 48 h culture with hCG (10.0IU/ml), EGF (0.1 or 1.0ng/ml), or bFGF (1.0ng/ml). PAI-1 was detected in the conditioned medium of OSE cells from the normal ovaries and the inflamed one. After 24 h in culture, PAI-1 production was significantly reduced by the addition of hCG (1.0U/ml), EGF (1.0ng/ml), or bFGF (1.0ng/ml) in the normal ovaries, but their inhibitory effects were not shown in the oophoritis. Human OSE produces and secretes both tPA and PAI-1 in response to hormonal and other changes.

Key Words: Human ovarian surface epithelium, Tissue-type plasminogen activator, Plasminogen activator inhibitor-1

(Jpn J Fertil Steril 44:147-152 1999)

Introduction

The human ovarian surface epithelium (OSE) is composed of a single layer of flat, cuboidal, or columnar cells that are loosely attached to the underlying connective tissue through a distinct basement membrane. Electron microscopy revealed small granules and lipid droplets distributed in the basal cytoplasm¹. In rabbit OSE cells, the dense granules are the most conspicuous feature and are similarly present on the basal side of cytoplasm. Cajnader and Bjersing suggest that these granules may contain hydrolytic enzymes, such as acid phosphatase, that can disrupt the wall of the developing follicle and lead to its rupture². We have shown that collagenolytic enzymes are important in the follicular rupture of humans, rats, rabbits, and other animals³⁻⁶. Plasminogen activator (PA) is also involved in ovulation and serves to activate col-

lagenase and a proteolytic enzyme⁷. The expression of PA and PA inhibitor (PAI) has been revealed in the granulosa-luteal cells of humans⁸ and rats⁹. However, little information is available on the production of proteolytic enzymes by human OSE cells.

We recently established a method for isolating human OSE cells¹⁰. This culture system can be used to clarify the relationship between human OSE and proteolytic enzymes. The present study used this method for evaluating the production of tissue type-PA (tPA) and PAI-1 in cultured human OSE cells.

Materials and Methods

Tissue and Cells

Fresh specimens of ovary were obtained from seven Japanese women who underwent total abdominal hysterectomy or radical hysterectomy for gynecologic disorders at Kumamoto University Hospital. Approval

for this study was obtained according to the guidelines of Ethics Committee of Kumamoto University School of Medicine. Informed consent for participation was obtained from all patients. The patients ages ranged between 39 to 64 years (mean 51.7 years). Of these patients, four patients had regular menstrual patterns and their cycle days were 26, 26, 27 and 30. One patient had an irregular menstrual cycle and two were postmenopausal. Shortly after the procedure described below to isolate human ovarian surface epithelial cells, all specimens were fixed in 10% buffered formalin for producing routine paraffin sections and staining with hematoxylin and eosin.

Human OSE Collection and Cell Culture

OSE cells were isolated according to the procedure described previously by Nakamura et al.¹⁰⁾. Under aseptic conditions, isolated OSE cells were suspended in 0.05% trypsin and 0.02% EDTA (Gibco, Grand Island, NY, USA). Viability of these cells was more than 95%, as evaluated by the trypan blue dye exclusion test. Subsequently, the cells were dispersed into four-well multi-dishes at 1.0×10^4 cells per well. Each well contained Dulbecco's MEM-Ham's F12 (1:1) with 15% fetal bovine serum (FBS; HyClone Laboratories Inc., Logan, Australia), supplemented with 100 U/ml penicillin and 100 mg/ml streptomycin (Gibco). The lack of fibroblast contamination was confirmed by immunocytochemistry with anti-human cytokeratin gp 56 kD mouse monoclonal antibody (Immunotech, Marseille, France). Cultured cells were maintained at 37°C in 5% CO₂ in the air. The medium was exchanged twice in a week and the cells were subcultured when they reached confluency. To examine the secretion of tPA and PAI-1, the cultured cells were placed into plastic 96-well plates at 10,000 viable cells per well containing 200 μ l of the medium supplemented with 15% FBS, and cultured at 37°C in 5% CO₂ in the air. After incubation for 72h, the medium was discarded and each well was washed with phosphate-buffered saline. Cells were also cultured for 24h and 48h in media containing hCG (1.0 or 10.0 U/ml, Mochida, Tokyo, Japan), human epidermal growth factor (EGF, 0.1 or 1.0 ng/ml, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), and human basic fibroblast growth factor (bFGF, 0.1 or 1.0 ng/ml, Sigma Chemi-

cal Co.). Control cells were cultured in a serum free medium. Following incubation, the media from all samples were collected and stored at -80°C until tPA and PAI-1 determination.

tPA ELISA

tPA antigen was measured using the Biopool TintEliza® tPA ELISA kit (BioPool International Inc, Umea, Sweden), an enzyme immunoassay kit for the quantitative determination of human single and two-chain tPA antigen. The immunoreactivity to single and two-chain tPA in complexed form with α -2-antiplasmin, PAI-1, and PAI-2 was approximately 90%. This assay can measure tPA antigen in the range of 0.03 - 0.60 ng per well. Its maximal sensitivity was 1.5 ng/ml. For plasma samples, the intra- and inter-assay coefficients of variation were 6% and 10%, respectively, and no cross-reactivity was observed with urokinase. ELISA was performed according to the procedures described by the manufacturer.

PAI-1 ELISA

Plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1) antigen was measured using the Biopool TintEliza® PAI-1 ELISA kit (BioPool International Inc.), a kit that detects active and inactive forms of endothelial type PAI-1. The tPA/PAI-1 and urokinase-type plasminogen activator (uPA)/PAI-1 complexes are recovered with the same efficiency as free PAI-1. The limit of detection is 2 ng/ml.

Statistical Analysis

Data are presented as the mean \pm SEM of duplicate samples. The significance of the difference between group means was determined by Student's *t*-test. A level of $P < 0.05$ was considered to be statistically significant.

Results

All seven ovaries appeared grossly normal. Six ovaries were also normal by microscopic examination and the seventh patient exhibited a nonspecific inflammatory response in the ovarian cortex as indicated by the presence of lymphocytes, plasma cells, and macrophages. She had a regular menstrual pattern. Treatment with special stains showed no organisms in any

tissue of the seven ovaries.

Fig. 1 shows the concentration of the tPA antigen secreted by human OSE cells. After 24 and 48h of incubation, the concentration of tPA antigen in the normal ovaries ranged from 0 to 0.27ng/ml (0.12 ± 0.07 ng/ml, n=4), and from 0 to 0.89ng/ml (0.36 ± 0.2 ng/ml, n=4). The tPA antigen values did not increase by the addition of hCG (n=4), EGF (n=4) or bFGF (n=4). However, the concentration of tPA antigen in the inflamed ovary was 1.33ng/ml and 1.93ng/ml at 24 and 48h of culture. A stimulatory effect of hCG, EGF, and bFGF was observed at 48h in culture. The tPA antigen values were significantly increased in the presence of 10.0IU/ml of hCG, both 0.1 and 1.0ng/ml of EGF, and both 0.1 and 1.0ng/ml of bFGF.

The concentration of the PAI-1 antigen secreted by human OSE is shown in Fig. 2. The concentration of PAI-1 antigen in the normal ovaries ranged from 19.2 to 59.3ng/ml (43.0 ± 7.1 ng/ml, n=5) after 24h in culture, and from 0.55 to 61.7ng/ml (40.4 ± 13.6 ng/ml, n=4) after 48h in culture. The addition of hCG (n=2), EGF (n=2), and bFGF (n=2) resulted in decreased PAI-1 production. A significant decrease in PAI-1 was observed after 24h in culture at concentrations of 1.0IU/ml of hCG, 1.0ng/ml of EGF, and 1.0ng/ml bFGF ($P < 0.05$). In the inflamed ovary, the PAI-1 antigen concentration was 61.9ng/ml at 24h in culture and 63.6ng/ml at 48h in culture. No inhibitory effects of hCG, EGF, or bFGF were observed in the inflamed ovary.

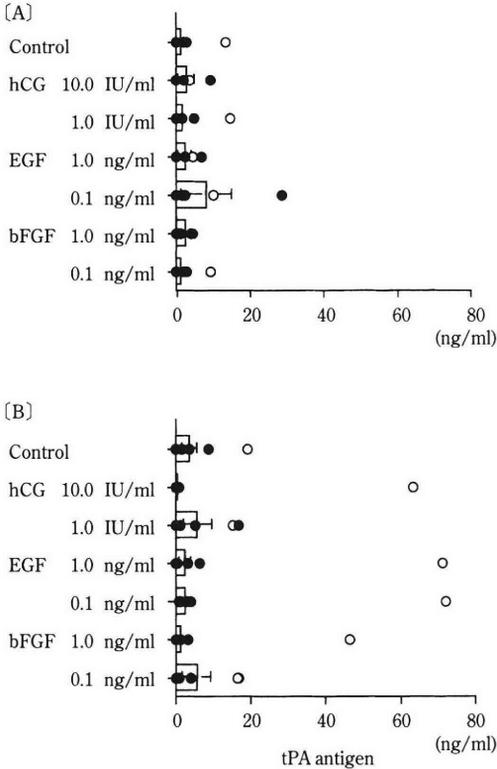


Figure 1. Production of tPA antigen by OSE cells. (A); 24h incubation, (B); 48h incubation.

Closed circle: value of tPA antigen in conditioned medium cultured OSE cells isolated from normal ovaries (n=4). Open circle: value of tPA antigen in OSE cells isolated from an inflamed ovary and cultured in conditioned medium (n=1). Error bar: mean \pm SEM

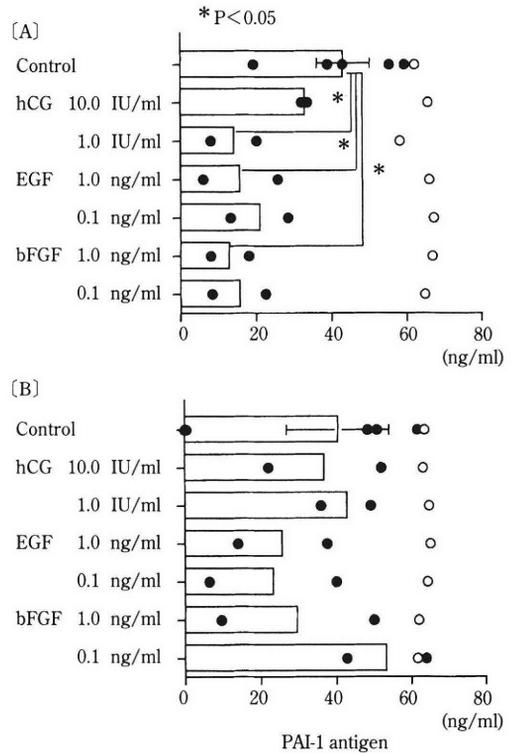


Figure 2. Production of PAI-1 antigen by OSE cells. (A); 24h incubation, (B); 48h incubation.

Closed circle: value of PAI-1 antigen in OSE cells isolated from normal ovaries and cultured in conditioned medium (A; n=5, B; n=4). Open circle: value of PAI-1 antigen in OSE cells isolated from an inflamed ovary and cultured in conditioned medium (n=1). *: PAI-1 production was significantly decreased vs. control cells cultured 24h ($p < 0.05$). Error bar: mean \pm SEM

Discussion

The ovarian surface epithelium is involved in normal physiological events, in part because they overlay growing follicles, particularly in the apical portion¹¹. As described by van Blerkom and Motta¹², OSE plays an important role in ovulation and the subsequent repair of ruptured follicles. Recently investigators have shown significant structural changes in OSE in the perifollicular and epimesothelial regions of the ovulatory follicle¹³. However, the precise role of OSE in the ovulatory process remains unknown.

The disruption of connective tissue in the mature follicle wall is essential for follicular rupture and it is well known that collagenolytic enzymes partake in this process. PA, one of the serine proteases, also plays an important role in ovulation, as one of the collagenolytic enzymes or through the activation of other proteolytic enzymes. Moreover, numerous studies have implicated the PA/plasmin system in various biological functions that involve tissue remodeling, cell migration and protein processing. Beers, for example, demonstrated that incubation of isolated rat ovarian follicles with plasmin resulted in reduced tensile strength of the follicle wall, suggesting that the PA/plasmin system may partake in ovulation⁹. Subsequent studies have shown that gonadotropins, which are elevated in serum before ovulation, can increase both tPA and urokinase enzyme activities in pig ovarian cells¹⁴. In humans⁸ and rats¹⁵, both PA and PAI-1 have been identified in cultured granulosa-luteal cells, although there is little information regarding their expression in OSE cells. Human OSE cells are ultrastructurally characterized by an abundance of both polysomes and ribosomes, along with the occasional appearance of dilated cisternae of the endoplasmic reticulum and electron-dense granules in the cytoplasm^{13, 16}. From these fine structures, it is likely that some synthetic events occur within the OSE. We recently established methods for isolating and purifying human OSE cells¹⁰, and methods for *in vitro* study. In the present study using these methods, we attempted to define whether cultured human OSE cells, in low passage numbers, could produce tPA and/or PAI-1. While no tPA production was revealed in the conditioned medium of OSE cells isolated from nor-

mal ovaries, tPA antigen was expressed in the conditioned medium of OSE cells that were scraped from the inflamed ovary and, moreover, it was enhanced by hCG. Based on the hypothesis by Espey, the ovulatory process can be compared to an inflammatory reaction¹⁷. It is well known that the surge in luteinizing hormone leads to ovulatory events. In addition, ultrastructural changes showed that the small, dark, lysosome-like bodies in rabbit OSE cells gradually increase in size and number after the injection of hCG¹⁸. Taken together, it is possible that human OSE acquires the ability to produce and secrete PA around the time of an ovulation. Pierro et al.¹⁹ reported that EGF and bFGF stimulate the proliferation of OSE cells in rabbits. In our present study, the production of tPA increased after the administration of EGF and bFGF. Therefore, it is conceivable that such cytokines would be produced in abundance by inflammatory tissue²⁰, and that they might regulate the subsequent inflammatory process and tissue remodeling, although the mechanisms involved remain unclear. Although we evaluated only one case of oophoritis in the current study, our results are of value because our chance to obtain such human specimens is limited. Our results also suggest that both the capacity of OSE cells to produce proteolytic enzymes and their sensitivity to cytokines will vary in response to hormonal and other changes.

Although PAI is commonly seen in many cell types including mesothelial cells²¹, its role remains to be elucidated, except for that in the fibrinolytic system. It has been suggested that PA and PAI secretion is tightly regulated by endothelial cells in order to maintain their luminal surface free of adhesion material and maintain an unimpeded blood flow²². The present study demonstrated that human OSE cells produced high levels of PAI-1 with or without oophoritis. In the inflamed ovary, the PAI-1 level was not altered by the addition of hCG, EGF, or bFGF, whereas it was reduced in the normal ovaries. Our preliminary data revealed that such activity was significantly higher in the ascites sampled on second-look laparoscopy than in the ascites obtained during the first laparotomy (data not shown). These data may explain the reason why intrapelvic adhesions, particularly adhesion between the ovary and the surrounding tissues, develop

after laparotomy and in patients with pelvic inflammatory disorders.

Our results revealed that human OSE cells can produce and secrete tPA and PAI-1 in response to various stimuli. Further studies should be performed to elucidate the roles of PA and PAI-1 by the accumulation of normal and inflamed ovaries.

References

- 1) Espey LL (1991) Ultrastructure of the ovulatory process. In: Familiari G, Makabe S, Motta PM (eds): *Ultrastructure of the Ovary*. Kluwer Academic Publishers, Boston, pp143-159
- 2) Cajander S, Bjersing L (1975) Fine structural demonstration of acid phosphatase in rabbit germinal epithelium prior to induced ovulation. *Cell Tiss Res* 164: 279-289
- 3) Okamura H, Takenaka A, Yajima Y, et al. (1980) Ovulatory changes in the wall at the apex of the human Graafian follicle. *J Reprod Fertil* 58: 153-155
- 4) Fukumoto M, Yajima Y, Okamura H, et al. (1981) Collagenolytic enzyme activity in human ovary: an ovulatory enzyme system. *Fertil Steril* 36: 746-750
- 5) Iwamasa J, Shibata S, Tanaka N, et al. (1992) The relationship between ovarian progesterone and proteolytic enzyme activity during ovulation in the gonadotropin-treated immature rat. *Biol Reprod* 46: 309-313
- 6) Tadakuma H, Okamura H, Kitaoka M, et al. (1993) Association of immunolocalization of matrix metalloproteinase 1 with ovulation in hCG-treated rabbit ovary. *J Reprod Fertil* 98: 503-508
- 7) Tanaka N, Espey LL, Stacy S, et al. (1992) Epostane and indomethacin actions on ovarian kallikrein and plasminogen activator activities during ovulation in the gonadotropin-primed immature rat. *Boil Reprod* 46: 665-670
- 8) Jones PB, Muse KN, Wilson EA, et al. (1988) Expression of plasminogen activator (PA) and a PA inhibitor in human granulosa cells from preovulatory follicles. *J Clin Endocrinol Metab* 67: 857-860
- 9) Beers WH, Strickland S, Reich E (1975) Ovarian plasminogen activator: relationship to ovulation and hormonal regulation. *Cell* 6: 387-394
- 10) Nakamura M, Katabuchi H, Ohba T, et al. (1994) Isolation, growth and characteristics of human ovarian surface epithelium. *Virchows Arch* 424: 59-67
- 11) Okamura H, Katabuchi H, Nagai R (1997) Ultrastructure of human ovulation: Histofunctional parameters. In: Motta PM (ed): *Microscopy of Reproduction and Development. A Dynamic Approach*. Antonio Delfino Editore, Rome, pp155-161
- 12) Van Blerkom J and Motta P (1978) A scanning electron microscopic study of the luteo-follicular complex. III. Repair of ovulated follicle and the formation of the corpus luteum. *Cell Tiss Res* 189: 131-153
- 13) Nicosia SV and Nicosia RF (1988) Neoplasm of the ovarian mesothelium. In: Azar HA (ed): *Pathology of Human Neoplasm*. Raven Press, New York, pp435-486
- 14) Politis I, Srikandakumar A, Turner J D, et al. (1990) Changes in and partial identification of the plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor systems during ovarian follicular maturation in the pig. *Biol Reprod* 43: 636-642
- 15) Reich R, Miskin R and Tsafiriri A (1985) Follicular plasminogen activator: involvement in ovulation. *Endocrinol* 116: 516-521
- 16) Nicosia SV, Saunders BO, Acevedo-duncan ME, et al. (1991) Biopathology of ovarian mesothelium. In: Familiari G, Makabe S, Motta PM (eds): *Ultrastructure of the Ovary*, Kluwer Academic Publishers, Boston, pp287-310
- 17) Espey LL (1980) Ovulation as an inflammatory reaction - a hypothesis. *Biol Reprod* 22: 73-106
- 18) Cajander S and Bjersing L (1976) Further studies of the epithelium covering preovulatory rabbit follicles with special reference to lysosomal alterations. *Cell Tiss Res* 169: 129-141
- 19) Pierro E, Nicosia SV, Saunders B, et al. (1996) Influence of growth factors on proliferation and morphogenesis of rabbit ovarian mesothelial cells in vitro. *Biol Reprod* 54: 660-669
- 20) Cotran RS, Kumar V and Robbins SL (1994) Inflammation and repair. In: Cotran RS, Kumar V, Robbins SL (eds): *Pathologic Basis of Disease*. 5th Edition. WB Saunders, Philadelphia, pp51-92
- 21) Takahashi K, Hata J, Mukai K, et al. (1991) Close similarity between cultured human omental mesothelial cells and endothelial cells in cytochemical markers and plasminogen activator production. *In Vitro Cell Dev Biol* 27A: 542-548
- 22) Van Hinsberg VW, Sprengers ED and Kooistra T (1987) Effect of thrombin on the production of plasminogen activators and PA inhibitor-1 by human foreskin microvascular endothelial cells. *Thromb Haemostas* 57: 148-153

(Received December 11 : 1998)

(Accepted January 28 : 1999)

ヒト卵巣表層上皮によるtPAならびにPAI-1の産生

熊本大学医学部産科婦人科学教室

大竹秀幸, 片瀨秀隆, 田中信幸, 福松之敦, 松浦講平, 岡村 均

ヒト卵巣を構成する卵巣表層上皮(OSE)におけるtissue type plasminogen activator (tPA)ならびにplasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)の産生について、OSEの培養系を用いて検討し、さらに、それらの産生に対するゴナドトロピンやサイトカインの影響を観察した。

医学的適応にて7名の患者より摘出されたヒト卵巣表面よりOSEをscrape methodにより採取し、培養を行った。6名の卵巣は組織学的に正常であったが、1名の卵巣には慢性炎症が認められた。OSEを1~2回継代した後、細胞数 1×10^4 /wellで72時間培養後、無血清にてさらに24時間、48時間培養し、培養液を採取した。また、培養液にhCG (1.0, 10.0 IU/ml), EGF (0.1, 1.0 ng/ml), bFGF (0.1, 1.0 ng/ml)の添加を行い、培養を行った。各々の培養液中のtPA抗原, PAI-1抗原をELISA法にて測定した。正常卵巣から採取されたOSEの培養上清中のtPA抗原は測定感度以下であったが、炎症のみられた卵巣から得られたOSEではtPA抗原が同定され、hCG (10.0 IU/ml), EGF (0.1, 1.0 ng/ml), bFGF (1.0 ng/ml)のいずれの添加でも48時間培養で上昇した。一方、PAI-1抗原は正常ならびに慢性卵巣炎のOSEともに認められた。正常卵巣のOSEの24時間培養では、PAI-1抗原の産生はhCG (10.0 IU/ml), EGF (1.0 ng/ml), bFGF (1.0 ng/ml)のいずれの添加でも有意に低下したが、慢性卵巣炎では変化はみられなかった。

以上のことから、ヒトOSEにおいて、ゴナドトロピンやサイトカインの影響下にtPA-plasmin系が機能している可能性が示唆された。

キーワード：ヒト卵巣表層上皮, tPA, PAI-1

(日不妊会誌 44:147-152 1999)

The Oxidation of Palmitic and Oleic Acids by Preimplantation Mouse Embryos Cultured *In Vitro*

Gongjin WANG¹⁾ Hirotsuda TSUJII and M.A.M.Y. KHANDOKER²⁾

Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture,
Shinshu University, Nagano 399-4598, Japan

Abstract: The oxidation of exogenous palmitic and oleic acids by preimplantation mouse embryos was examined. Fatty acids oxidation was assessed by incubating embryos of various stages for 4h in a medium containing ¹⁴C-palmitic and -oleic acids without and with carbohydrates and measuring the production of ¹⁴CO₂. The oxidative rates of both fatty acids were comparatively higher in the medium without carbohydrates than that of with carbohydrates medium. On the other hand, the rate of these both fatty acid oxidation were found relatively constant in the 1- and 2-cell stages, but increased significantly ($p < 0.05$) in the 4-cell stage and continued to increase upto the blastocyst stage except oleic acid in medium without carbohydrates (glucose, pyruvate and lactate). The oxidative rates of oleic acid were found lower than that of palmitic acid at all corresponding cell stages in all treatments.

Key Words: Oxidation of fatty acid, Palmitic acid, Oleic acid, Preimplantation mouse embryo

(Jpn J Fertil Steril 44:153-157 1999)

Introduction

Supplementation of exogenous fatty acids into the culture medium has certain effects on development of mouse and other mammalian embryos culturing *in vitro*¹⁻³⁾. Khandoker et al.⁴⁾ demonstrated that fatty acids bound to BSA played a very important function in supporting and promoting development of rat embryos *in vitro*. Flynn and Hillman⁵⁾ found that exogenous palmitic acids could incorporate into mouse 8-cell embryo to synthesize various lipid species, and were oxidized to carbon dioxide by preimplantation mouse embryos cultured in the medium without carbohydrates. Our previous work has characterized the patterns of incorporation of single and double palmitic and oleic acids into the embryo lipids and their distributions in various lipid fractions at different cell stages^{6, 7)}. These results were incorporation rate of both palmitic and oleic acids into embryo lipids increased significantly from the 2-cell to the blastocyst stage, whereas the incorporation rates of palmitic acids were significantly higher than those of oleic acids at most of the cell stage except for the blastocyst stage.

In this paper, the oxidative rates of exogenous palm-

itic and oleic acids were assessed by culturing various staged embryos for 4h in the ¹⁴C-palmitic acid and ¹⁴C-oleic acid-labeled media without and with carbohydrates.

Materials and Methods

Animals and embryo collection

Six to eight week mice of Slc:ICR strain (SLC Co. Japan) were used in this experiment. They were kept in controlled environmental conditions at room temperature with a cycle of 12h light (light on 6:00 a.m.) and 12h dark. Females were superovulated by an i.p. injection of 5 IU pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) and, 48h later by an 5 IU i. p. injection of human chorionic gonadotrophin (hCG)⁸⁾. After the hCG injection, the females were housed overnight with the males and checked for copulation plugs following morning. The females with copulation plugs were used to collect embryos of 1-cell, 2-cell, 8-cell, compact morula and early blastocyst 24, 40, 65, 77 and 90h later after hCG injection, respectively. Embryos collected were washed three times by M16 medium prepared without fatty acid free BSA (FAF-BSA) and carbohydrates (glucose, pyruvate and lactate) and

1) Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, P.R. China

2) Department of Animal Breeding and Genetics, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh-2202, Bangladesh.

then cultured in various ^{14}C -fatty acid-labeled M16 media.

Preparation of the labeled media

Four kinds of the radioactive labeled medium were prepared by consulting the original method described by Brinster^{9, 10} and Flynn *et al.*⁵. The prescriptions were described as follows:

- (1) ^{14}C -oleic acid-labeled media: Each 4ml of M16 medium without or with carbohydrates (glucose 5.56mM, Na-pyruvate 0.33mM, Na-lactate 23.30 mM) was prepared, which contained about 1.11 MBq [^{14}C] oleic acid (specific activity 2.04 TBq, American Radiolabeled Chemicals Inc.), 1mM oleic acid and 5mg/ml FAF-BSA.
- (2) ^{14}C -palmitic acid Media: Each 4ml of M16 medium without or with carbohydrates (glucose 5.56mM, Na-pyruvate 0.33mM, Na-lactate 23.30mM) was prepared, which contained 2.7 MBq of [^{14}C] palmitic acid (specific activity: 1.85 TBq/mM, Moravak Biochemicas, Inc.), 0.1mM palmitic acid and 5mg/ml FAF-BSA.

Each prepared radioactive medium was stored at 4 °C overnight and filtered with a 0.22 μm filter before it was used.

The oxidation of ^{14}C -palmitic and ^{14}C -oleic acids by mouse embryos

Carbon dioxide production from the palmitic and oleic acids by culturing embryos was measured by consulting the methods of Brinster^{9, 10} and Khandoker and Tsujii¹¹. Each 150 μl of the labeled medium was

placed in a culture tube, and covered with 2 drops of silicone oil. The tube, together with 1ml of 1 M hyamine (Nacalai Tesque) in a 2ml tube, was then put in a scintillation vial. The medium in the tube was pre-incubated for 1h (37°C, 5% CO_2 in air). Each 20 embryos of 1-cell, 2-cell, 8-cell, morula and blastocyst stage were transferred into the post-incubated medium. The vial was sealed with a rubber stopper and incubated at 37°C for 4h. At the end of 4h incubation, 0.1ml of 0.2 N H_2SO_4 was injected into the culture tube. The scintillation vial was left sealed at room temperature for 48h. After 48h absorption of ^{14}C - CO_2 , the hyamine solution with ^{14}C - CO_2 was poured into other scintillation vial with 5 ml scintillation cocktail and mixed well. The blank values of non-oxidation were obtained from control incubation without embryos. This experiment was repeated 4 times for each group.

Measurement of radioactivity and statistical analysis

Radioactivity of all samples was determined in liquid scintillation counter (LS-6500, Beckman Instruments, Inc., USA). The data obtained were statistically analyzed by Student's t-test and expressed as mean \pm SEM.

Results

Oxidation of exogenous palmitic acid

The oxidation of exogenous palmitic acids by preimplantation mouse embryos cultured in the media without and with carbohydrates is showed in Table 1. The oxidative rates of palmitic acid into CO_2 (f mol CO_2 /embryo/h) in the media both without and with

Table 1. The oxidative rates of ^{14}C -palmitic acid by preimplantation mouse embryos cultured in vitro in the medium without and with carbohydrates

Cell stage	f mol CO_2 / embryo / h	
	Without carbohydrates	With carbohydrates
One-cell	68.8 \pm 6.4 ^a	65.4 \pm 5.3 ^a
Two-cell	72.5 \pm 7.8 ^a	67.3 \pm 5.8 ^a
Eight-cell	108.5 \pm 10.2 ^b	82.4 \pm 6.4 ^c
Morula	186.5 \pm 12.3 ^d	142.2 \pm 10.5 ^c
Blastocyst	274.2 \pm 15.8 ^f	182.5 \pm 12.8 ^g

a ~ g : Different superscript values within the same column or row differ significantly from each other ($P < 0.05$). Data are expressed as mean \pm SEM. The results were obtained from four determinations of two independent experiments utilizing 20 embryos each.

Table 2. The oxidative rates of exogenous ^{14}C -oleic acid by preimplantation mouse embryos cultured in the media without and with carbohydrates

Cell stage	f mol CO_2 / embryo / h	
	Without carbohydrates	With carbohydrates
One-cell	17.5 ± 3.4^a	13.8 ± 4.6^a
Two-cell	38.5 ± 6.1^b	29.1 ± 4.6^{bc}
Eight-cell	77.5 ± 5.8^d	10.7 ± 3.4^a
Morula	93.3 ± 6.9^e	25.3 ± 4.8^{bc}
Blastocyst	200.7 ± 15.4^f	0.8 ± 0.6^g

a ~ g: Different superscript values within the same column or row differ significantly from each other ($P < 0.05$). Data are expressed as mean \pm SEM. The results were obtained from four determinations of two independent experiments utilizing 20 embryos each.

carbohydrates remained relatively constant and low at 1-cell and 2-cell stage. The oxidative rates of palmitic acid increased significantly in the media both without and with carbohydrates from the 2-cell to blastocyst stage. In these two cell stages, no significant differences were found between the media with and without carbohydrates. However, the oxidative rates of palmitic acid increased significantly in the media both without and with carbohydrates from 8-cell to blastocyst stage ($P < 0.05$). In addition, the oxidative rates of palmitic acid were always significantly higher in the medium without carbohydrates than that in the medium with carbohydrates at 8-cell, morula and blastocyst stage ($p < 0.05$).

Oxidation of exogenous oleic acid

The oxidation of exogenous oleic acid by preimplantation mouse embryos cultured *in vitro* in the media without and with carbohydrates is shown in Table 2. The oxidative rate of oleic acid increased significantly in the media both without and with carbohydrates from the 1-cell to blastocyst stage, except for the 8-cell and blastocyst in the culture medium with carbohydrate. The oxidation rates of oleic acid increased significantly in the medium without carbohydrate from 2-cell to blastocyst stage ($P < 0.05$), and were significantly higher than that in the medium with carbohydrates among all cell stages ($P < 0.05$). The oxidative rates of oleic acid in the medium with carbohydrates arose significantly at the stages of 2-cell and morula ($P < 0.05$), whereas decreased significantly at 1- and 8-cell stages but went so far as to be almost

undetectable at blastocyst stage ($P < 0.05$). In contrast, the oxidative rates of oleic acid were lower than that of palmitic acid at all corresponding cell stages in the treatments of the media without and with carbohydrates.

Discussion

The results in the present study demonstrated that both exogenous saturated palmitic acid and unsaturated oleic acid could be oxidized into CO_2 product to supply metabolic energy for further development of embryos even if glucose, pyruvate and lactate were present in culture medium. Khandoker and Tsujii¹¹ reported similar results in rat embryos. Flynn *et al.*^{1,2} also demonstrated that the preimplantation mouse embryos could not continue to develop further under normal physiological environment in absence of either carbohydrates or fatty acids. It suggests that both fatty acids and glucose are the main energy sources and structural constituents in mammalian cells^{1, 4, 12, 13}. The presence of two pathways of energy supply from both fatty acids and carbohydrates is necessary during the development of preimplantation mouse embryos.

It was clearly known that the oxidative rates of both palmitic and oleic acids were significantly higher in the medium without carbohydrates than those in the medium with carbohydrates among certain cell stages. Several reports have indicated that addition of glucose to the incubation medium reduced the oxidation of exogenous fatty acid in both Ehrlich ascites tumor cells and HeLa cells^{14 ~ 16}. A large percentage of the fatty acid uptake is mainly channeled into glycerides

and phospholipids when glucose is present¹²). This control mechanism also ensures that cellular energy production will remain relatively constant independently of exogenous substrate available. It suggests that regulatory mechanisms of supplying metabolic energy from carbohydrates or fatty acids might be existed in preimplantation mouse embryos of certain cell stages not all of cell stages, and this control mechanism also showed some differences depended on both individual fatty acids and cell stages. The results in our experiments might imply that this control mechanism is functioned from 8-cell to blastocyst stage for palmitic acid as well as from 2-cell to blastocyst stage for oleic acid. The similar regulatory mechanism was also found in rat embryos¹¹) but not in skeletal muscle¹⁷).

The results from our experiments showed that the oxidative rates of palmitic acid were always higher in the media both without and with carbohydrates than those of oleic acid among all cell stages. These results were consistent with the trends of predominate incorporation of palmitic acid into triacylglycerols in the presence of both palmitic and oleic acids^{6, 7}). Tsujii and Nakamura¹⁸) reported that the 2cell and blastocyst were cultured for 5h in the medium containing [U-¹⁴C] glucose, and total lipids extracted from embryos were separated into various neutral lipids and phospholipids by thin layer chromatography and radioactivities of these lipid fractions were measured. Most of radioactivity was recovered in triacylglycerols in both stages, radioactivities were also found in other neutral lipids and phospholipids. It has been demonstrated that triacylglycerols serve as the main energy substrates for growth and development of most mammalian cells^{5, 13}) including mouse embryos. This may suggest that exogenous palmitic acid is not only the main form of storing energy substrates but also a substrate of more easily being oxidized than exogenous oleic acid during the development of preimplantation mouse embryos.

References

- 1) Brinster RL (1967a) Carbon dioxide production from glucose by the preimplantation mouse embryo. *Expl Cell Res* 47: 271-277
- 2) Nonogaki T, Noda Y, Goto Y, et al. (1994) Developmental blockage of mouse embryo caused by fatty acids. *J Assisted Reprod Genetics* 11:482-488
- 3) Quinn P and Whittingham DG (1982) Effect of fatty acids on fertilization and development of mouse embryos *in vitro*. *J Androl* 3:440-444
- 4) Khandoker MAMY, Nishioka M and Tsujii H (1995) Effect of BSA Binding fatty acids on mouse and rat embryo development. *J Mamm Ova Res* 12:113-118
- 5) Flynn TJ and Hillman NJ (1980) The metabolism of exogenous fatty acids by preimplantation mouse embryos developing *in vitro*. *J Embryol Exp Morph* 56:157-168.
- 6) Wang G and Tsujii H (1998) Incorporation and distribution of both ³H-palmitic acid and ¹⁴C-oleic acid in lipids by preimplantation mouse embryos. *J Mamm Ova Res* 15:185-190
- 7) Wang G and Tsujii H (1999) Metabolism of exogeneous palmitic and oleic acids by preimplantation mouse embryos. *J Mamm Ova Res* 16:10-15
- 8) Wang G, Tsujii H and Khandoker MAMY (1998) Fatty acid compositions in mouse embryos, oviduct and uterine fluid. *Anim Sci Technol (Jpn)* 923-928
- 9) Brinster RL (1967b) Carbon dioxide production from lactate and pyruvate by the preimplantation mouse embryo. *Expl Cell Res* 47: 634-637
- 10) Brinster RL (1965) Studies on the development of mouse embryos *in vitro*. IV Interaction of energy sources. *J Reprod Fert* 10: 227-240
- 11) Khandoker MAMY and Tsujii H (1999) The metabolism of exogeneous fatty acid by preimplantation rat embryos. *AJAS* 12: (In press)
- 12) Flynn TJ and Hillman NJ (1978) Lipid synthesis from [U-¹⁴C] glucose in preimplantation mouse embryos in culture. *Biol Reprod* 19:922-926
- 13) Kane MT (1979) Fatty acids as energy sources for culture of one-cell rabbit ova to viable morulae. *Biol Reprod* 20: 323-333
- 14) Geyer RP, Bennett A and Rohr A (1961) Fatty acids of triglycerides and phospholipids of HeLa cells and strain L fibroblasts. *J Lipid Res* 3:80-83
- 15) Geyer RP (1967) Uptake and retention of fatty acids by tissue culture cells. *Lipid Metab Tissue Cult Cells Symp.* pp. 33-37.
- 16) Spector AA and Steinberg D (1966) Relationship between fatty acid and glucose utilization in Ehrlich ascites tumor cells. *J Lipid Res* 7: 657-663
- 17) Eaton RP and Stainberg D (1961) Effects of medium fatty acid concentration epinephrine and glucose on palmitate-1-¹⁴C oxidation and incorporation into lipids by skeletal muscle *in vitro*. *J Lipid Res* 2: 376-382

- 18) Tsujii H and Nakamura Y (1999) Utilization of [U-¹⁴C] glucose by preimplantation on rat embryo cultured *in vitro*. J Mamm Ova Res 16: (In press)

(Received February 4, 1999)

(Accepted March 4, 1999)

*In Vitro*における着床前マウス胚のパルミチン酸とオレイン酸の酸化

信州大学農学部応用生命科学科

王 公金, 辻井弘忠, M.A.M.Y. コンドカル

着床前マウスを用いて、パルミチン酸とオレイン酸を添加した場合の酸化について調べた。各卵分割期の卵子を炭水化物を含む、または含まない培養液に¹⁴C-パルミチン酸または¹⁴C-オレイン酸を添加し、培養4時間行って脂肪酸の酸化を測定した。2つの脂肪酸の酸化割合は、炭水化物を含んだ培養液よりも炭水化物を含まない培養液の方が高かった。一方、炭水化物を含まない培養液のオレイン酸を除いて、2つの脂肪酸の酸化割合は、1および2細胞期から見られ、4細胞期から有意に増加し(P<0.05)、胚盤胞期まで増加が見られた。

キーワード：脂肪酸の酸化、パルミチン酸、オレイン酸、着床前マウス胚

(日不妊会誌 44:153-157 1999)

黄体機能評価における血中プロゲステロン値の変化と 子宮内膜日付けの相関

Correlation between Endometrial Dating and Progesterone Secretion in the Evaluation of Corpus Luteum Function

群馬大学医学部産科婦人科学教室

上条 隆典
Takanori KAMIJO

安藤 一道
Kazumichi ANDOH

伊藤 理廣
Masahiro ITOH

関 守利
Moritoshi SEKI

山田 清彦
Kiyohiko YAMADA

水沼 英樹
Hideki MIZUNUMA

伊吹 令人
Yoshito IBUKI

Department of Obstetrics & Gynecology, Gunma University School of Medicine,
Maebashi 371-8511, Japan

正しい黄体機能の評価は着床期の子宮内膜の変化を知る手がかりとして重要である。そこで黄体期のプロゲステロン(P₄)分泌と着床期の子宮内膜の変化を調べ、黄体補充のあり方について検討した。排卵性月経周期を有し12日以上BBT高温相を示す120例を対象に、排卵後または高温相5, 7, 9日目に血中P₄値を測定、同一周期の7日目に子宮内膜日付け診を施行した。その結果94例(78.3%)に月経周期の日付けと子宮内膜日付けの一致(一致群)を認めた。一致群における血中P₄値(ng/ml)の変化が、それぞれ14.6±5.4(Mean±SD), 14.0±4.7, 10.0±4.8なのに対し、不一致群(n=26)では11.4±5.4, 14.6±6.3, 14.4±8.0であり、黄体中期の血中P₄値に差がないのに組織学的に大きな違いがみられた。一方、黄体前期と後期の血中P₄値には有意差があり、分泌パターンの違いが子宮内膜の組織変化に影響した。また一致群(n=94)の血中P₄値の変化を年齢別に比較すると、36歳以上の女性(n=28)では黄体中期以降のP₄分泌に有意な低下を示した。この結果、黄体期前半のP₄分泌が着床期の子宮内膜の変化に密接に関与し、また高年女性では黄体の早老化による中期以降のP₄分泌低下が着床障害やmicro-abortionに関与することが示唆された。

キーワード：黄体、子宮内膜日付け診、着床、プロゲステロン

(日不妊会誌 44:159-163 1999)

緒 言

黄体は妊娠成立過程において必要不可欠な存在であり、プロゲステロンなど黄体より分泌される数種類のホルモンは子宮内膜の環境を着床に適した状態に整える役割を担っている。不妊治療において黄体機能と子宮内膜の状態を正しく評価することは、妊

娠成立のメカニズムを解明する上で非常に重要であり、その指標は子宮内膜の機能的側面を直接反映するか、もしくは子宮内環境を十分推測できるものではない。

近年、カドヘリンやインテグリン等の細胞接着因子が注目を集めているが、着床期の子宮内膜表面にもビトロネクチンやフィブロネクチンのレセプター

として作用するインテグリンのサブユニットの発現が認められ^{1,2)}、"implantation window"を規定する因子の一つと考えられている。一般にヒトの受精卵(胚)は排卵後6日頃に透明帯よりhatchし、子宮内膜と直接接触するようになり、翌日には子宮内膜にinvasionし始めると考えられている。一方、胚着床にはmatrix metalloproteinase等の蛋白分解酵素やleukemia inhibitory factor (LIF)、transforming growth factor (TGF)- β が直接・間接的に関与しているのが解明されつつある³⁻⁵⁾が、子宮内膜がエストロゲンおよびプロゲステロンによって十分にプライミングされた状態にあることが前提であり、それゆえ排卵後7日頃までに子宮内環境が整うように黄体が機能することが胚着床のための必要条件であると考えられる。

現在、黄体機能を評価する手段として、基礎体温(BBT)測定や血中プロゲステロン(P₄)測定、子宮内膜日付け診が一般的に用いられている^{6,7)}が、それぞれの結果の判定やその相関にはいまひとつ曖昧な部分があり、しかもそれらは妊娠成立に対してprospectiveな指標とはなり得ない。インヒビン^{8,9)}やインテグリン¹⁾も黄体機能を反映するが、現時点ではすぐに日常の臨床に応用できるものではない。そこで、既に診療に使われているBBT、血中P₄測定、子宮内膜日付け診を用い、黄体機能と子宮内膜の機能的変化を把握する目的で黄体のP₄分泌のパターンを解析し、P₄分泌と黄体期中期の子宮内膜日付け診の結果の相関について検討した。そして、その結果を基に効果的な黄体補充治療のあり方について考察を加えた。

対象と方法

対象は、当科を受診した21歳から45歳までの正常月経周期を有する不妊患者のうち、BBTが二相性で、かつ12日以上的高温相を呈する120例とした。主たる不妊原因は表1に示すとおりであり卵管性不妊および機能性不妊の診断は腹腔鏡にて骨盤内を観察し卵管通水検査を施行した後にいった。

黄体期のP₄分泌能および分泌パターンを調べるために、経膈超音波断層法による卵胞計測、また尿中LHサージの検出、BBTに基づいて排卵日を推定し、

表1 不妊原因別患者内訳

男性因子	50例 (41.7%)
卵管因子	46例 (38.3%)
機能性不妊	24例 (20.0%)

BBT高温相(または排卵後)5, 7, 9日目の血中P₄値を測定(EIA法)し、同一周期の高温相(排卵後)7日目に子宮内膜日付け診を施行した。子宮内膜日付けの判定はEndometriogram¹⁰⁾に基づいて診断した。

なお、この周期に妊娠した症例は1例も無く、血中P₄値および内膜組織変化に対する妊娠性変化の影響は含まない。また、初診時の不妊症一般検査で15 ng/ml以上の血中プロラクチン(PRL)値を示した症例や、TRH負荷試験で過剰反応を呈した潜在性高PRL血症の症例ではプロモクリプチンの服用を指示し、血中PRL値の正常化の後に上記の検査を施行した。

結果

120例中94例(78.3%)に月経周期と子宮内膜日付けの一致(以下、一致群)を認めた。月経周期と子宮内膜日付けが不一致(以下、不一致群)だったのは26例(21.7%)あり、その全例において間質の浮腫変化に乏しい分泌期前期(排卵後4~5日目)の子宮内膜像がみられた。表2に示すように二群間には、年齢およびDay 3 Hormoneとしての血中LH、FSH、PRL値に有意差は認められなかった。

図1に黄体期の血中P₄値の推移を内膜日付け一致

表2 年齢とDay 3 hormone値の比較

	一致群	不一致群	P値
Age(歳)	32.9 ± 4.5	33.7 ± 4.5	NS
LH(mIU/ml)	4.4 ± 2.6	5.1 ± 2.1	NS
FSH(mIU/ml)	8.9 ± 3.0	9.6 ± 3.6	NS
PRL(ng/ml)	6.9 ± 5.0	5.8 ± 2.4	NS

Mean ± SD

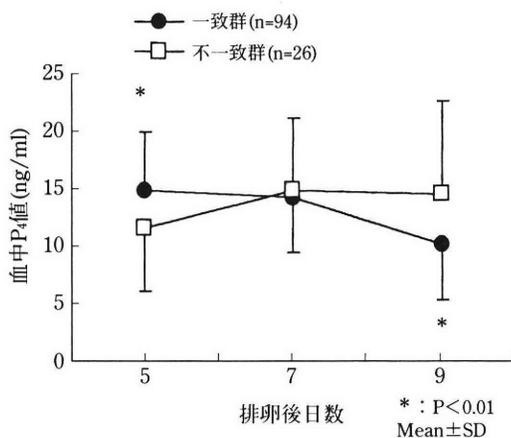


図1 血中プロゲステロン値の推移と子宮内膜日付けの関係

群(n=94)・不一致群(n=26)に分けて示すが、黄体期中期(排卵後7日)の血中P₄値のみを比較した場合、二群間に差はなく共に10ng/ml以上の値を示した。子宮内膜日付け一致群では不一致群に比して黄体期前期の血中P₄値は有為に高く(P<0.01)、逆に後期のそれは有意に低い値(P<0.01)であった。

黄体期のP₄分泌をいくつかのパターンに分類して検討すると、月経周期と子宮内膜日付けが一致した群においては94例中52例(55.3%)で黄体期前期(排卵後5日目)に分泌ピーク(以下、Type Iと略す)を示した。また黄体期中期に分泌ピーク(以下、Type II)を示したのは35例(37.2%)であり、後期に分泌ピーク(以下、Type III)を示したのはわずか7例であった。一方、子宮内膜日付け不一致群における分泌パターンの解析では、Type Iの分泌パターンを示した症例は少数であり、26例中13例(50.0%)ではType IIIの分泌パターンを示し、Type IIも9例(34.6%)に認められた。P₄分泌のパターンからは排卵後5~7日の黄体期前半に分泌のピークがある場合に子宮内膜の組織変化がすすみ、たとえ黄体期中期の血中P₄値が同じでも、分泌のピークが黄体期後半にある場合、言い換えれば黄体期前期のホルモン分泌が不十分な場合には子宮内膜の組織的変化、とくに間質の浮腫が乏しいことが判明した。

次に、子宮内膜日付け一致群(n=94)における黄体期のP₄分泌を年齢別に比較すると、35歳以下の群(n=66)では黄体期を通じて高いP₄分泌が認められたのに対して、36歳以上の症例(n=28)では黄体中期以降のホルモン分泌の有意な低下(P<0.05)が認められた(図2)。

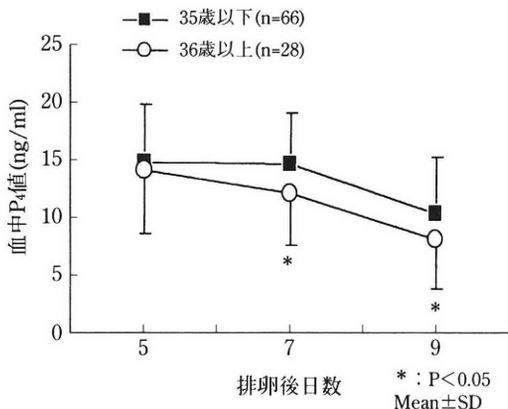


図2 子宮内膜日付け一致群におけるプロゲステロン分泌の年齢別変化

考 察

血中P₄の測定は最も直接的な黄体機能の評価法であると言えるが、その正常値は5ng/ml以上とも10ng/ml以上とも未だ統一した見解が見られていない。以前我々は黄体期中期の血中P₄値が10ng/ml以上を正常な黄体機能を示す値として取り扱うべきであると報告¹¹⁾したが、今回の結果では月経周期と子宮内膜日付けの一致した症例の中にもこの基準を満たさないものも多く存在し、むしろ分泌パターンに基づいて黄体機能を評価した方が子宮内膜の変化を反映する結果となった。その結果、黄体期前半(排卵後5~7日)に高い血中P₄値を示す場合に、着床期の子宮内膜における組織変化が進むことが判明した。

一般的には分泌期(黄体期)中期の子宮内膜像では分泌期初期に見られた核下空胞が消失、間質の浮腫が著明となり、後期には偽脱落膜反応が見られるようになる⁷⁾。ところが妊娠周期における血中P₄値の変化と子宮内膜日付けの関係についてみると¹²⁾、血中P₄値は黄体期の5日目より10ng/ml以上になり7日目を境に急激に増加する。排卵後7日目頃まで内膜日付けは妊娠とは無関係に進むが、妊娠による黄体期後期の著しいP₄分泌の増加によって、間質の浮腫と脱落膜化に乏しい所見を示すようになり、見かけ上遅延傾向が認められるようになる。今回の結果では、子宮内膜日付け不一致群では全例において間質浮腫の遅れが目立ち、分泌期初期の像に相当すると判断された。それゆえ間質の浮腫と血中P₄値、およびその作用する日数の間には密接な関係があると推測されるが、同時に血中P₄の作用する時期も子宮内膜の組織変化に重要であると考えられる。換言するに、黄体期前半におけるP₄分泌のピークの存在は、胚の着床に好都合な子宮内環境の整備をもたらす、これは黄体が生理的合目的性を持って機能していることを裏付けるものである。

一方、今回の研究では卵胞期血中エストロジオール(E₂)の変化、および黄体期の子宮内膜の厚さと子宮内膜日付けの関係、またP₄/E₂ ratioと子宮内膜の組織変化の相関については検討していないが、子宮内膜の厚さが8mm未満の場合には妊娠しづらいとの報告¹³⁾もあり、血中P₄値と子宮内膜の組織変化の関係は、エストロゲンおよびプロゲステロン受容体の発現頻度によっても左右されると考えられる。

今回、内膜日付け診施行時の血中P₄値の比較では5~15ng/mlの間で一致群・不一致群にかなりの交錯が認められた。臨床的には黄体期中期の血中P₄値が

5~6ng/mlでも妊娠したという報告¹⁴⁾もあり、また黄体期前半のP₄分泌が不良の場合、黄体中期の血中P₄値が10ng/ml以上であっても着床期の子宮内膜の組織変化が妨げられることから、一概に10ng/ml以上を正常値とするのも無理があると考えられる。また、黄体の寿命は妊娠しない以上その周期限りのものであり、次の月経周期にはまた新たな黄体が異なる結果をもたらすことになる。それゆえ黄体機能不全と診断されても子宮内膜の組織変化が毎周期乏しいとも言切れないのである。

一方、加齢と黄体機能という観点からすると、図2に示すように35歳以下の正常黄体機能を示す女性では黄体期前後半を通じて高い血中P₄値を示したのに対し、36歳以上の女性では黄体のP₄分泌低下が中期より出現することが判明し、黄体の早期老化現象に伴うP₄分泌の低下に注目する必要があることが示唆された。

以上のことより、不妊治療における子宮内膜と黄体の関係を考える場合、1)卵胞成熟に伴う子宮内膜の発育と、2)適切な黄体化とそれに伴うプロゲステロンの至適分泌パターンの形成、という2点が重要な意味を持つと考えられる。それゆえhCG投与による排卵時の黄体化促進はいうまでもないが、とくに30代後半の女性の場合、黄体前期-中期(排卵後5~7日)にプロゲステロンのデポ剤などの投与により黄体期後半までをカバーしうる補充治療が子宮内膜の組織変化の観点からも妥当であると考えられた。

文 献

- 1) Lessey BA, Damjanovich L, Coutifaris C, et al. (1992) Integrin adhesion molecules in the human endometrium. *J Clin Invest* 90: 188-195.
- 2) Lessey BA, Lei Y, Castelbaum AJ, et al. (1994) Further characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril* 62: 497-506.
- 3) Kamijo T and Rajabi MR (1996) Inhibition of matrix metalloproteinases impairs mouse embryo im-

plantation in vivo and prolongs embryo invasion in vitro in mice. *J Soc Gynecol Invest*, 38 (suppl): 209A.

- 4) Charnock-Jones DS, Sharkey AM, Fenwick P, et al. (1994) Leukaemia inhibitory factor mRNA concentration peaks in human endometrium at the time of implantation and the blastocyst contains mRNA for the receptor at this time. *J Reprod Fertil* 101: 421-426.
- 5) Kamijo T, Rajabi MR, Mizunuma H, et al. (1998) Biochemical evidence for autocrine/paracrine regulation of apoptosis in cultured uterine epithelial cells during mouse embryo implantation in vitro. *Mol Hum Reprod* 4: 990-998.
- 6) 荒井 清(1983) プロゲステロン. 産婦人科シリーズ; ホルモン測定値の読み方. 南江堂, 東京, pp172-181.
- 7) 安藤一道, 中里洋一, 水沼英樹, 他(1990) 子宮内膜日付診断の正確性に関する検討. *日産婦会誌* 42: 1663-1670.
- 8) Andoh K, Mizunuma H, Hasegawa Y, et al. (1992) Association of immunoreactive inhibin levels with luteal function. *Horm Res* 37: 37-40.
- 9) Illingworth PJ, Groome NP, Colin DW, et al. (1996) Measurement of circulating inhibin forms during the establishment of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 1471-1475.
- 10) 五十嵐正雄(1978) 黄体機能検査法. 内分泌婦人科学. 南山堂, 東京, pp246-248.
- 11) 上条隆典, 安藤一道, 水沼英樹(1997) 黄体機能の評価法. *Horm Frontier Gynecol* 4: 57-64.
- 12) Andoh K, Yamada K, Mizunuma H, et al. (1992) Endometrial dating in the conception cycle. *Fertil Steril* 58: 1127-1130.
- 13) Abdalla HI, Brooks AA, Johnson MR, et al. (1994) Endometrial thickness: a predictor of implantation in ovum recipients? *Hum Reprod* 9: 363-365.
- 14) Oda T, Aoki R, Yoshimura Y, et al. (1992) Role of corpus luteum function in embryo implantation. *Horm Res* 37: 75-78.

(受付: 1999年2月5日)

(受理: 1999年3月5日)

**Correlation between Endometrial Dating and Progesterone Secretion
in the Evaluation of Corpus Luteum Function.**

Takanori Kamijo, Kazumichi Andoh, Masahiro Itoh, Moritoshi Seki,
Kiyohiko Yamada, Hideki Mizunuma and Yoshito Ibuki.

Department of Obstetrics & Gynecology, Gunma University School of Medicine.
Maebashi 371-8511, Japan.

To investigate the relationship between progesterone secretion and endometrial histology, serum progesterone was measured on post-ovulation day 5, 7 and 9, in 120 women with regular menstrual cycles. Endometrial biopsy was performed on day 7. Matched endometrium with the cycle date was observed in 94 women (78.3%) and progesterone levels were 14.6 ± 5.1 (ng/ml; mean \pm SD), 14.0 ± 4.7 and 10.0 ± 4.8 respectively and serum progesterone showed the peak on day 5. However, 26 (21.7%) demonstrated early-secretory phase of endometrium and the progesterone levels were 11.4 ± 5.4 , 14.6 ± 6.3 and 14.4 ± 8.0 respectively. The peak was shifted to late-luteal phase in this group. In addition, women with matched endometrium, aged more than 36, demonstrated significantly low progesterone after mid-luteal phase. In conclusion, progesterone secretion in early-luteal phase could affect the secretory change in endometrium and women in late thirties demonstrated low progesterone secretion after mid-luteal phase. Aging of corpus luteum in mid-luteal phase might result in lower fecundity and micro-abortion in older women.

Key words: corpus luteum, endometrial dating, progesterone, implantation, micro-abortion

(Jpn J Fertil Steril 44:159-163 1999)

男性不妊を主訴とした精巣腫瘍症例の検討

Analysis of Patients with Testicular Tumor and the Chief Complaint of Male Infertility

東邦大学医学部泌尿器科学第1講座

野澤英雄 永尾光一 原啓

Eiyu NOZAWA Koichi NAGAO Hiroshi HARA

石井延久 三浦一陽

Nobuhisa ISHII Kazukiyo MIURA

The First Department of Urology, Toho University School of Medicine
Tokyo 143-8541, Japan

東邦大学医学部泌尿器科学第2講座

澤村良勝

Yoshikatsu SAWAMURA

The Second Department of Urology, Toho University School of Medicine
Tokyo 143-8541, Japan

男性不妊を主訴に受診した2065例中6例(0.29%)に精巣腫瘍の合併を認めた。そこで男性不妊の診察における問題点と精巣腫瘍と造精機能障害との関係について検討を行った。発見方法は触診5例(83.3%)、陰嚢部超音波検査1例(16.7%)であった。当センターを受診する以前に他院を受診していた症例は5例(83.3%)であったが、この5例は精巣腫大あるいは陰嚢部鈍痛の自覚症状を有していたにもかかわらず精巣腫瘍を指摘されていなかった。このことはその診察において精液検査あるいは内分泌学的検査のみで、診察の基本である問診および視触診が行われていない可能性を示唆した。最近のART (assisted reproductive technology)の進歩にともなうこれら技術の普及により、精子さえ得られれば男性不妊の治療は終結したとも考えられ始めている昨今、このような精液所見のみの検討では男性不妊に合併した重要な疾患を見落とす可能性を危惧するものとして、今後注意を促していかなければならないと考えられた。また陰嚢部超音波検査にて触知できない精巣腫瘍を発見したことから、精索静脈瘤の診断と同時に、精巣内病変や内部エコー像の異常などを確認するために陰嚢部超音波検査は必須であると考えられた。

キーワード：男性不妊，精巣腫瘍

(日不妊会誌 44:165-171 1999)

緒言

精巣腫瘍症例における造精機能についてはこれまでいくつかの報告を認める。そのなかで精巣腫瘍症例の造精機能は低下しているとの報告が多く、Ho

ら¹⁾は精巣腫瘍の診断時にはすでに約半数以上に造精機能障害がみられると報告している。一般的に精巣腫瘍は精巣腫大あるいは精巣硬結を主訴に泌尿器科を受診し診断される疾患であるが、我々は男性不妊を主訴とした症例に精巣腫瘍を合併したものを6

例経験した。そこでこの6症例をもとに、精巣腫瘍と造精機能障害との関係と、男性不妊の診察における問題点について検討を行ったので報告する。

対象および方法

1992年1月から1997年12月までの6年間に、東邦大学大森病院リプロダクションセンター泌尿器科部門を男性不妊を主訴に受診した症例は2065例であった。このうち精巣腫瘍を偶然に発見した6例を対象とした。全例腰椎麻酔下に高位精巣摘除術を施行し、病理学的診断を得た。各症例について、年齢、不妊期間、自覚症状、他院受診歴、発見方法、患側精巣容積、血液生化学検査、内分泌学的検査(FSH・LH・prolactin(PRL)・testosterone)、腫瘍マーカー(AFP・hCG・hCG-β)、患側超音波像、病理組織像、健側精巣容積、健側超音波像、精液所見について検討した。血清FSH、LHはimmunoradiometric assay法にて測定し、正常値はそれぞれ1.8~13.6mIU/ml、1.1~8.8mIU/mlとした。血清prolactinはdouble antibody radioimmunoassay法にて測定し、正常値は4.4~30.0ng/mlとした。血清testosteroneはRIA tube solid phase法にて測定し、正常値は2.7~10.7ng/mlとした。また血清AFPはimmunoradiometric assay法にて測定し、正常値は20ng/ml以下と

した。血清hCG、hCG-βは1994年1月まではdouble antibody radioimmunoassay法にて測定し、正常値はそれぞれ15mIU/ml以下、0.09~0.41ng/mlとし、同年2月以降はimmunoradiometric assay法にて測定し、正常値はそれぞれ1.0mIU/ml以下、0.20ng/ml以下とした。陰嚢部超音波検査は7MHzのリニアトランスデューサを使用した。また精液検査は5日間の禁欲の後、用手的に採取し30分以上常温にて静置し液化させた後に検査に供した。検査の時期は術前および術後6カ月とし、精液量、精子数、精子運動率について検討した。

結 果

6例の年齢分布は29歳~38歳(平均35.8±3.5歳)、患側は右側2例、左側4例で、大きさは10ml~鷲卵大であった。また不妊期間は14~125カ月(平均51.7±38.0カ月)であった。このうち当センター受診前に他院を不妊を主訴に受診していた症例は5例(83.3%)であり、その診療担当科は産婦人科4例、泌尿器科1例であった。発見方法は触診が5例(83.3%)で、残る1例(16.7%)は触診では異常を認めず、精索静脈瘤の検査のための陰嚢部超音波検査で発見された。前者5例のうち患者自身がすでに精巣の腫大に気付いていた症例は4例、残る1例は陰嚢部鈍痛を自覚し

表1 精巣腫瘍症例の背景

症例	年齢	患側	患側精巣容積	健側精巣容積	不妊期間(月)	他院受診	発見方法	自覚症状
1	37	左	鷲卵大	10ml	14	あり	触診	精巣腫大
2	38	左	鷲卵大	20ml	125	あり	触診	精巣腫大
3	35	右	15ml	10ml	49	なし	触診	精巣腫大
4	38	右	18ml	15ml	46	あり	触診	精巣腫大
5	38	右	10ml	7ml	40	あり	超音波	なし
6	29	右	20ml	10ml	36	あり	触診	陰嚢部鈍痛

表2 精巣腫瘍症例の血液生化学・内分泌所見および腫瘍マーカー

症例	血液生化学検査	内分泌学的検査				腫瘍マーカー		
		FSH (mIU/ml)	LH (mIU/ml)	PRL (ng/ml)	testosterone (ng/ml)	AFP (ng/ml)	hCG (mIU/ml)	hCG-β (ng/ml)
1	LDH449IU/ml	32.5	9.9	28.0	4.76	0.9	12.8*	0.15*
2	LDH488IU/ml	8.9	3.7	14.5	3.79	5.8	6.8*	0.05*
3	LDH858IU/ml	17.5	3.2	20.5	2.33	3.9	1.0以下**	0.20以下**
4	すべて正常	14.1	4.6	18.7	5.68	—	1.0以下**	0.20以下**
5	すべて正常	23.8	5.4	13.8	3.53	7.5	1.0以下**	0.20以下**
6	すべて正常	0	0.1	21.7	8.1	67.1	18.6以下**	0.20以下**

* double antibody radioimmunoassay法

** immunoradiometric assay法

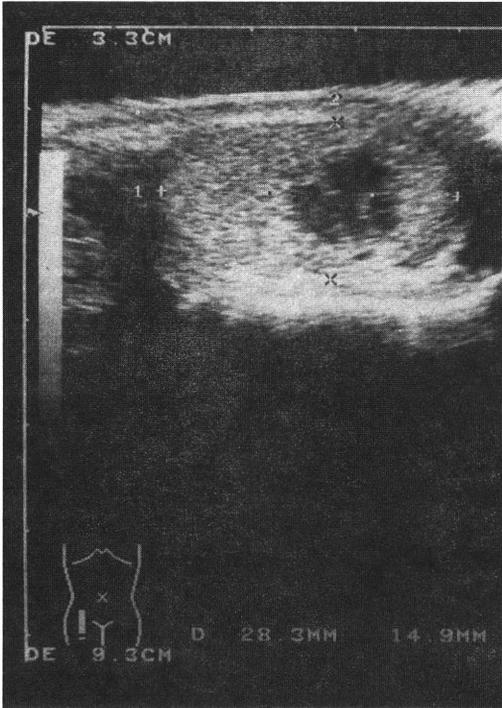


写真1：陰嚢部超音波検査(症例5)

精巣内に輪郭不整な低エコー性の腫瘤を認める。

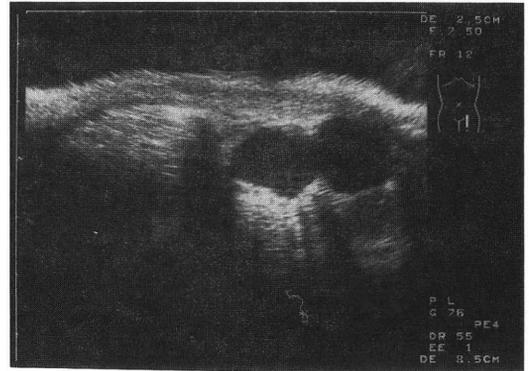


写真3：陰嚢部超音波検査(症例2)

精巣内部に石灰化を示す高エコー像と低エコー像の嚢胞性腫瘤を認める。



写真2：陰嚢部超音波検査(症例1)

精巣内に不整な輪郭を示す内部不均質な充実性腫瘤を認め、その周囲にわずかに正常組織の残存を認める。

ていた。しかしこの5例は何かしらの自覚所見を有していたにもかかわらず当センターを受診するまでに精巣腫瘍を指摘されていなかった(表1)。血液生化学検査では3例において、LDHのみ上昇を認めたが、残る3例はすべての項目において正常であった。内分泌学的検査ではFSHの上昇を4例に、LHの上昇を1例に認め、またFSHおよびLHの著明な低下を1例に認めた。PRLはすべての症例で正常値であったが、testosteroneは1例に低下を認めた。腫瘍マーカーではAFPおよびhCGの上昇を1例に認めたが、残る5例はすべて正常であった(表2)。患側超音波像は、3例は低エコー性腫瘤(写真1)、2例は不均質な腫瘤(写真2)、1例は石灰化を伴った嚢胞状腫瘤(写真3)として認めた。カラードプラ法では石灰化を伴った嚢胞状腫瘤を認めた1例を除く5例に不規則な血管増生を認め、悪性腫瘍を否定できなかった。病理学的には定型的セミノーマが3例、成熟奇形腫、ライディック細胞腫、卵黄嚢腫瘍を伴う複合組織型が各1例であった(表3)。また病期はすべてI期であった。

一方健側精巣についてみると、精巣容積は7~20ml(平均11.5±5.1ml)で、超音波検査にて精巣内

表3 精巣腫瘍症例の腫瘍径・超音波所見および病理所見

症例	腫瘍の大きさ(mm)	患側超音波像	健側超音波像	患側カラードプラ像	病理組織像
1	40×30	不均質な結節状腫瘤	異常なし	血管増生(+)	定型的セミノーマ
2	85×60	石灰化+嚢胞状腫瘤	異常なし	血管増生(-)	成熟奇形腫
3	11×9	低エコー性腫瘤	点状エコー	血管増生(+)	定型的セミノーマ
4	20×18, 14×7	低エコー性腫瘤	異常なし	血管増生(+)	定型的セミノーマ
5	12×11	低エコー性腫瘤	異常なし	血管増生(+)	ライディック細胞腫
6	23×21	不均質な結節状腫瘤	点状エコー	血管増生(+)	複合組織型

表4 精巣腫瘍症例の精液所見

症例	術前精液所見			術後精液所見		
	精液量(ml)	精子濃度 ($\times 10^6$ /ml)	精子運動率(%)	精液量(ml)	精子濃度 ($\times 10^6$ /ml)	精子運動率(%)
1	2.1	0	—	0.3	0	—
2	2.1	57	5	不明	不明	不明
3	1.3	0.01	40	0.6	0	—
4	1.8	51	25	1.3	44	46
5	3.8	0.03	34	1.4	0	—
6	5.6	6	25	5.6	14	65

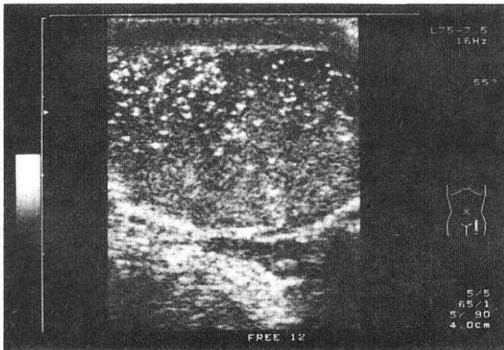


写真4：陰嚢部超音波検査(症例3)

精巣容積の萎縮とともに精巣内全体に点状のエコー像を認める。

部エコーは、4例は正常であったが2例は点状エコー像を示した(写真4)。

術前の精液所見は無精子症が1例、 20×10^6 /ml以下の乏精子症が3例であり、精子運動率はすべて40%以下であった。術後6カ月の精液所見を検討できた5例のうち、補充療法を行わず自然経過をみれた症例は4例(症例3～6)であった。このうち血清FSHおよびLHの著明な低下を認めた1例(症例6)では、術後6カ月には血清FSH12.4mIU/ml、LH4.5mIU/mlと正常化を示すとともに、精巣容積は10mlから14mlへ増大し、精液所見は精子数 14×10^6 /ml、精子運動率65%と改善を認めた。また健側の精巣容積および超音波像が正常であった1例(症例4)は、術後精子運動率の若干の改善が得られた。一方術前に血清FSHの上昇を認め、かつ精巣容積の低下を認めた2例(症例3・5)では精液所見の改善は得られなかった(表4)。

考 察

本邦の精巣腫瘍の発生率は人口10万人に対し0.7～1.1人と欧米に比して低い²⁾。しかし精巣腫瘍症例の健側精巣の造精機能は精巣腫瘍発見時にはすでに低下しているとの報告¹⁾が多く、造精機能障害を認める男性不妊患者では精巣腫瘍の発生率はこれより高いことが予想される。Skakkebaek³⁾らは男性不妊患者の精巣生検でatypical germ cellを見つけた。この精巣からembryonal carcinomaが発生したことより、このatypical germ cellが腫瘍化すると考え、これをcarcinoma in situ (CIS)として取り扱うべきであったとした。Giwerzmanら⁴⁾は精巣腫瘍以外の疾患で死亡した男性におけるCISの頻度は399例中3例(0.8%)で、調査地区の精巣腫瘍の発生率とほぼ同様であったと述べている。CISから精巣腫瘍への移行についてvon der Maase⁵⁾は経過観察のみでは19例中7例(36.8%)に、Pryor⁶⁾は8例中6例(75.0%)に認められたと報告しており、一般的には5年以内にCISの50%が精巣腫瘍に伸展するとの報告が多い^{5,7,8)}。一方男性不妊患者の精巣生検にみられるCISの頻度は0.4～26.7%と報告されており^{6,9-11)}、このことから男性不妊患者において精巣腫瘍の発生率は高いことが示唆される。我々の結果では男性不妊に精巣腫瘍を合併する頻度は0.29%であった。

造精機能の低下が腫瘍発生の原因となっているのか、あるいは腫瘍による影響であるのかは未だ明確にされていない。後藤ら¹²⁾は対側陰嚢内温度の上昇、免疫学的機序の関与および血清hCG値の上昇といった腫瘍そのものの影響によるという考えがある一方で、停留精巣や不妊症患者での腫瘍化にみられるように、腫瘍の発生時すでに造精機能が障害されているという考え方もあると述べている。

補充療法を行わず術後6カ月の精液所見の自然経

過を検討できた症例は4例であった。このうち1例では術前の血清FSHおよびLHの著明な低下と血清hCGの上昇を認めた。この症例では精巣腫瘍摘除後の血清hCGの正常化とともに血清FSHおよびLHの正常化が得られ、その後精巣容積の増大と精液所見の改善が得られたことから、腫瘍の産生するhCGによる血清testosteroneの上昇の結果、血清FSHおよびLHの著明な抑制をきたし、精巣容積の低下と造精機能障害が惹起されていたと考えられた。また健側精巣容積の正常であった1例では精巣腫瘍の摘除により精子運動率を中心とした若干の精液所見の改善が得られたことから、精巣腫瘍の存在が何らかの機序により健側精巣の造精機能障害を惹起していた可能性が示唆された。一方精液所見の改善の得られなかった2例では健側精巣容積の低下とともに術前の血清FSHの上昇を認めた。これらのことから術前の血清FSHおよびhCG値と健側精巣容積は、術後の精液所見を予測する指標となる可能性があり、今後更なる検討が必要と考えられた。

またこの6例のうち2例において超音波検査上健側精巣内に点状エコー像を認めた。この点状エコー像はtesticular microlithiasisとして報告され^{13,14)}、精巣組織の病的変性を示唆する所見と考えられている。Aizensteinら¹⁵⁾は精液所見が異常であった症例の2.8%にtesticular microlithiasisを認め、この頻度は健常者より高率であったと報告している。またMillerら¹⁶⁾はtesticular microlithiasisを認めた症例のうち37%に男性不妊を、29%に精巣腫瘍を認めたと報告している。最近では精巣腫瘍との関係が注目されており、testicular microlithiasisの存在した症例から後に精巣腫瘍が発見されたことから、この所見を前癌状態と考え嚴重に経過観察するべきであるとする報告が多い^{17,18)}。片側精巣腫瘍症例の対側精巣に将来腫瘍の発生をみる頻度は正常者の精巣腫瘍の発生頻度の500~700倍とされている¹⁹⁾ことから、本症例においても引き続き慎重な経過観察が必要と思われた。

また我々は精索静脈瘤の診断のために施行した陰嚢部超音波検査で触知できない精巣腫瘍を偶然に発見することができた。Comiterら²⁰⁾も陰嚢部超音波検査の施行により触知できない精巣腫瘍を診断し、その有用性および重要性について報告している。

このように男性不妊の診察に際しては精索静脈瘤の診断と同時に、精巣内病変や内部エコー像の異常などを確認するために陰嚢部超音波検査は必須であると考えられた。

一方不妊症の原因を男女別にみると男性側因子に

よるものは欧米では40~50%²¹⁾、本邦では40~75%²²⁾とされ、性差はほとんどないと言われている。しかし臨床の現場では、不妊症の診察はまず女性側が先に行われていることが多いようである。最近では男女同時に不妊症の診察を受けるようになりつつあるものの、その初診時の診療担当科は男性側であっても産婦人科であることが多いことには変わりがない。今回の検討でも当センターを他院からの紹介で受診していた症例は83.3%であり、このうち実に80.0%は産婦人科からの紹介であった。男性不妊の診察においては問診に加え、精巣・精巣上体の性状および精巣容積・精索静脈瘤の有無・精管の触知・前立腺の触診・下腹部の手術痕の有無など視触診の重要性は周知の事実である。我々の検討でも、1例を除き精巣腫大または陰嚢部鈍痛の自覚的兆候を有しており、またその1例を除き触診のみで精巣腫瘍を発見可能であったことから、男性不妊においても基本に忠実な診察が重要であることを示している。

最近のART(assisted reproductive technology)の進歩にともなうこれら技術の普及により、精子さえ得られれば男性不妊の治療は終結したとも考えられ始めている昨今、このような精液所見のみの検討では男性不妊に合併した重要な疾患を見落とす可能性を危惧するものとして、今後注意を促していかなければならないと考えられた。

本論文の要旨は第43回日本不妊学会学術講演会において発表した。

文 献

- 1) Ho GT, Gardner H, Dewolf WC, et al. (1992) Influence of testicular carcinoma on ipsilateral spermatogenesis. *J Urol* 148:821-825
- 2) 吉田 修, 桐山 夫, 宮川美栄子, 他(1985)1970年代の日本人睾丸(精巣)腫瘍の臨床統計. *泌尿紀要*31:337-354
- 3) Skakkebaek NE (1978) Carcinoma in situ of the testis. *Histopathology* 2:157-170
- 4) Giwercman A, Muller J and Skakkebaek NE (1991) Prevalence of carcinoma in situ and other histopathological abnormalities in testis from 399 men who died suddenly and unexpectedly. *J Urol* 145: 77-80
- 5) von der Maase H, Rorth M, Walbom-Jorgensen S, et al. (1986) Carcinoma in situ of contralateral testis in patients with testicular germ cell cancer: study of 27 cases in 500 patients. *Brit Med J* 293:1398-1401
- 6) Pryor JP, Kathrine M, Cameron CP, et al. (1983) Car-

- cinoma in situ in testicular biopsies from men presenting with infertility. *Brit J Urol* 55:780-784
- 7) Reinberg Y, Manivel JC and Fraley EE (1989) Carcinoma in situ of the testis. *J Urol* 142:243-247
 - 8) Skakkebaek NE, Berthelsen JG and Muller J (1982) The undescended testis. *Urol Clin North Am* 9:377-385
 - 9) Krabbe S, Skakkebaek NE, Berthelsen JG, et al. (1979) High incidence of undetected neoplasia in maldescended testis. *Lancet* 1:999-1000
 - 10) Andres TL, Trainer TD and Leadbetter GW (1980) Atypical germ cells preceding metachronous bilateral testicular tumor. *Urology* 15:307-309
 - 11) Pederson KV, Boiesen P and Zetterlund (1987) Experience of screening for carcinoma in situ of the testis among young men with surgically corrected maldescended testes. *Int J Androl* 10:181-185
 - 12) 後藤修一, 高木健太郎, 福井 巖 他 (1987) 精巣腫瘍患者の対側精巣組織の検討. *泌尿紀要* 33: 1830-1834
 - 13) Jaramillo D, Perez-Atayde A, Teele RL (1989) Sonography of testicular microlithiasis. *Urol Radiol* 11:55-57
 - 14) Patel MD, Olcott EW, Kerschmann RL, et al. (1993) Sonographically detected testicular microlithiasis and testicular carcinoma. *J Clin Ultrasound* 21:447-452
 - 15) Aizenstein RI, DiDomenico D, Wilbur AC, et al. (1998) Testicular microlithiasis: Association with male infertility. *J Clin Ultrasound* 26:195-198
 - 16) Miller RL, Wissman R, White S, et al. (1996) Testicular microlithiasis: A benign condition with a malignant association. *J Clin Ultrasound* 24:197-202
 - 17) McEniff N, Doherty F, Katz J, et al. (1995) Yolk sac tumor of the testis discovered on a routine annual sonogram in a body with testicular microlithiasis. *AJR Am J Roentgenol* 164:971-972
 - 18) Doherty FJ, Mullins TL, Sant GR, et al. (1987) Testicular microlithiasis: A unique sonographic appearance. *J Ultrasound Med* 6:389-392
 - 19) Kristianslund S, Fossa SD and Kjellevoid K (1986) Bilateral malignant testicular germ cell cancer. *Br J Urol* 58:60-63
 - 20) Comiter CV, Benson CJ, Capelouto CC, et al. (1995) Nonpalpable intratesticular masses detected sonographically. *J Urol* 154:1367-1369
 - 21) Sigman M, Lipshultz LI and Howards SS (1991) Evaluation of the subfertile male. In: Lipshultz LI and Howards SS (eds), 2nd ed, *Infertility in the male*. Mosby-year book Inc, St. Louis, pp179-210
 - 22) 石上襄次 (1984) 不妊症における男性因子. *新臨床泌尿器科全書*, 8巻B, 市川篤二 他編, 金原出版, 東京, pp1-13

(受付: 1999年2月9日)

(受理: 1999年3月14日)

Analysis of Patients with Testicular Tumor and the Chief Complaint of Male Infertility

Eiyu Nozawa, Koichi Nagao, Hiroshi Hara, Nobuhisa Ishii and Kazukiyo Miura

The First Department of Urology, Toho University School of Medicine
Tokyo 143-8541, Japan

Yoshikatsu Sawamura

The Second Department of Urology, Toho University School of Medicine
Tokyo 143-8541, Japan

Testicular tumor was diagnosed in 6 out of 2065 patients (0.29%) who visited our center complaining of male infertility. The presence of these tumors prompted us to analyze the problems associated with the diagnosis of male infertility and the relationship between testicular tumor and spermatogenic dysfunction. The procedure used for detection was palpation in 5 patients (83.3%) and scrotal ultrasound in 1 (16.7%). Five patients (83.3%) had visited other hospitals prior to their consultation at our center, but the presence of testicular tumor had not been detected despite their subjective symptoms of testicular swelling or scrotal dull pain. These circumstances suggested that only a seminal examination or endocrinological tests had been conducted and that questioning and visual palpation, which form the basis of consultation, were omitted from the diagnostic procedures used on these 5 patients. With the recent development and widespread use of assisted reproductive technology (ART), there is a prevalent misconception among physicians that the treatment of male infertility depends largely on the successful sampling of a sperm. Based on the findings of our study, we concluded that more attention should

be directed in the future to the risk of overlooking important diseases associated with male infertility as a result of basing the diagnosis solely on the analysis of semen. On the other hand, the discovery of an unpalpable testicular tumor by scrotal ultrasound indicated the need to perform a scrotal ultrasound in order to confirm the presence or absence of abnormal testicular echogram upon diagnosis of varicocele.

Key words : male infertility, testicular tumor

(Jpn J Fertil Steril 44:165-171 1999)

二次性性腺機能不全症 30 例の治療経験

Hypogonadotropic Hypogonadism — Diagnosis and Treatment of 30 Cases —

横浜市立大学医学部泌尿器科学教室

野口和美

武田光正

斎藤和男

Kazumi NOGUCHI

Mitumasa TAKEDA

Kazuo SAITOH

木下裕三

岩崎 皓

穂坂正彦

Yuzo KINOSHITA

Akira IWASAKI

Masahiko HOSAKA

Department of Urology, Yokohama City University School of Medicine,
Yokohama 236-0004, Japan

1981年4月より1997年3月の間に当科を初診して治療を受けた30例の二次性性腺機能不全症すなわち下垂体腫瘍8例、汎下垂体機能低下症5例、ゴナドトロピン分泌障害15例、Kallmann症候群1例、LH-RH analogue 被爆1例につき、主訴、診断、治療およびその効果につき観察し、問題点を論じた。原則として思春期以降の年齢で二次性徴の発現が不十分の症例ではテストステロン補充療法によりまず二次性徴を誘導する。その後妊孕性の獲得を希望する症例ではhCGまたはhCG+hMGの使用に切り替えている。理学的所見、内分泌学的検査、精液検査などにより治療効果を判定した。テストステロンによる治療では全例満足すべき結果を得た。一度精子形成を生じた後のゴナドトロピン分泌不全症ではhMGを使用せず、hCG単独で精液所見を維持可能であった。LH-RHによる治療では下垂体の反応性は改善したが、血中テストステロン値の上昇をみるには至らなかった。ゴナドトロピンあるいはLH-RHによる治療で精液所見の維持あるいは改善をみた症例は9例中5例(55%)であった。

キーワード：男子不妊症、二次性性腺機能不全症、診断、治療

(日不妊会誌 44:173-178 1999)

緒 言

男子不妊症のうち二次性性腺機能不全症は適切な治療により妊孕性を得ることが可能な疾患群である。自然な性行為での妊娠を期待している患者にとって、LH-RHあるいはゴナドトロピンによる療法により精子形成の導入が期待される。と同時にまた的確な予後判定により顕微受精などの試みも検討されるべきである。低ゴナドトロピン性性腺機能低下症30症例を経験したので報告する。

対象および方法

1981年4月より1997年3月の間に当科を受診して治療を受けた30例を対象とした。下垂体腫瘍8例、汎

下垂体機能低下症5例、ゴナドトロピン分泌障害15例、Kallmann症候群1例、LH-RH analogue 被爆1例につき、主訴、診断、治療およびその効果につき観察し、問題点を論じた。

当科では原則として思春期以降の年齢で二次性徴の発現が不十分の症例ではテストステロン(以下Tと略)補充療法(testosterone enanthate 125~250mgを2~4週に一回筋注)によりまず二次性徴を誘導する。その後妊孕性の獲得を希望する症例ではhCGまたはhCG+hMG(hCG1500~3000IU, hMG150~300IUを2~3回/週)の使用に切り替えている。理学的所見、内分泌学的検査、精液検査などにより治療効果を判定した。

結 果

1 初診時の平均年齢

下垂体腫瘍33.9歳(21~57歳), 汎下垂体機能低下症28.2歳(7~36歳), ゴナドトロピン分泌障害28.4歳(13~49歳)と下垂体腫瘍の患者の平均年齢が若干高かった。全30症例の平均年齢は30.5歳であった。

2 主 訴

当科を受診するに至った主訴は不妊, 性機能障害, 二次性徴発現遅延, 停留精巣などであった(表1)。

3 診 断

理学的所見ではとくに精巣容積, 陰茎陰毛の発育状態(Tanner stage)に注目した。内分泌学的検査としてLH-RHテスト, hCG 負荷試験を行なった。また可能な症例では精液検査を行なった。T, LHの基礎値低値などより診断は比較的容易であった。治療前T, LHの平均値はそれぞれ0.45ng/ml, 1.7mIU/mlであった。頭部CT, 染色体検査を適宜行った。

4 治療方法

T投与が先行している症例22例, ゴナドトロピン療法が先行している症例4例, 経過観察3例, 当初プロモクリプチンによる治療を行った症例1例であった(表2)。

5 治療効果

Tによる治療では二次性徴の発現と維持につき全例ほぼ満足すべき結果を得た。すなわち治療後2~3カ月にて陰毛の発生をみ, 陰茎は増大し, また変声を来した。

妊孕性を得ることを目的としたゴナドトロピン療

法あるいはLH-RHによる治療につき症例ごとに述べる。

A 下垂体腫瘍

〈症例1〉 M.N.24歳, 23歳にて, 下垂体腺腫(プロラクチン産生腫瘍)の手術施行。hCG 2000IU×3日間にてTの反応は良好(0.5ng/ml→6.0ng/ml)。25歳で結婚, hCG 5000IUを週2回行った。直ちに妊娠したが流産した。

〈症例2〉 Y.K.21歳, 12歳にて脳腫瘍手術。受診時両側精巣4ml, T投与(250mg/2W)により, 直後から射精可能となった。2カ月で二次性徴発現した。25歳で結婚後, hCG 1000IU/W その後5000IU/Wに増量して使用した。一年で精巣容積は両側10mlとなったが, 無精子であった。T値は0.2~10.3 ng/mlと不安定であった。hCG 3000IU/2W, T 125mg/2W 継続中である。

〈症例3〉 Y.Y.37歳, 27歳で結婚し31歳の時, 妊娠流産あり。インポテンスを主訴に来院し, 諸検査にて下垂体腫瘍(プロラクチン産生)を認めた。手術せず, プロモクリプチンを一年使用して効果なく, hCG 4000IU/W 追加した。T 1.45~1.82ng/ml, 精液所見は正常であったが, AIHにても妊娠の成立をみない。

B 汎下垂体機能低下症

〈症例4〉 Y.S.31歳で当科紹介された。汎下垂体機能低下症にて小児科で治療を受けていた。21歳よりT開始した。24歳にてLH-RH持続皮下注を行い, ゴナドトロピンの反応性は改善したがTの上昇をみるには至らなかった。30歳よりhCG 1500IU, hMG 150IU 週2回の皮下注にて精巣容積の増大(12ml, 14ml)とTの正常値維持が可能となった。しかし精子の出現をみず, 当科での精巣生検ではmaturation

表 1

主 訴	症例数
不妊	7
性機能障害	6
二次性徴発現遅延	4
停留精巣	4
射精不能	4
下垂体性小人症	2
その他	3
	30

表 2

治 療	症例数
テストステロン	17
テストステロン→ゴナドトロピン	4
ゴナドトロピン→テストステロン	2
ゴナドトロピン	2
プロモクリプチン→ゴナドトロピン	1
テストステロン→LH-RH→ゴナドトロピン	1
観 察	3
	30

arrestであった。

〈症例5〉 K.M. 36歳。下垂体小人症。精巣8ml, 10ml。T 250mg/2W 使用して6Wで変声、2~3カ月で二次性徴完成した。5カ月後hCG 3000IU/Wに切り替え、その後2カ月でT 3.12ng/mlにて勃起、射精をみた。このとき精子数は3~5/視野であった。そこでhCG 1000IU/W+hMG 75IU/2Wに切り替え、さらに8カ月後精子数500万/mlに増加した。Tによる治療に戻して、妊孕性が要求されるときにhCG+hMGに切り替える方針である。

C ギナドトロピン分泌不全

〈症例6〉 T.T. 22歳。11歳にて外性器発育不全を主訴に某大学病院受診した。19歳より4年間hCG 3000IU/W投与された。当科初診時精巣10ml, T 0.2ng/ml, LH 2.0mIU/ml。hCG 5000IU/Mでは無効であった。34歳時、結婚を機にhCG 5000IU/2W+T 125mg/2Wとしたところ勃起は良好となり(T 3.76ng/ml)、全視野数個の非運動精子の出現を見た。hCG 5000IU/W+hMG 75IU/W+T 125mg/2Wに切り替えた。6カ月にて1視野数個となり、1年で180万/mlの非運動性精子をみるに至ったが、妊娠には至らず。治療を中断すると精液所見は悪化する。

〈症例7〉 K.K. 33歳。結婚後1年半で受診。両側精巣は1ml, T 0.84ng/ml, LH 2.7mIU/ml, 46XY, 無精子。hCG 4000IU 3日間でTの反応良好(1.19→6.65ng/ml)。hCG 1000IU+hMG 75IUを週2回続けているが1年5カ月後も無精子である。

〈症例8〉 K.T. 38歳。6年間の不妊を主訴に受診した。46XY。精巣は1ml以下。T 0.1ng/ml, LH 4.9mIU/ml。T投与(250mg/M)により4~5カ月にて射精可能となった。hCG 1000IU/W, hMG 75IU/Wに変更したが、治療後6年経過しても無精子である。

〈症例9〉 F.I. 34歳。結婚後3年で受診。hCG+hMGにて精巣12ml, 精子数1300~2800万/mlに維持されているが、妊娠をみない。

〈症例10〉 N.T. 32歳。結婚後6年にて当科受診。結婚後3年目に他院にてギナドトロピン療法のもと、Percoll法にて一子をもっている。当科受診時にはT 0.84ng/ml, LH 0.6mIU/ml。hCG 3000IU/2W+hMG 150IU/2WにてT 2.2~2.4ng/mlとなり、1W毎の投与にてT 3.5~3.9ng/mlに維持できている。精子数1100万/ml, 運動率24%。AIHを考慮中である。

考 察

視床下部、下垂体等の上位中枢機能の異常を病因

とする低ギナドトロピン性性腺機能不全症は二次性性腺機能低下症ともよばれ、男性ホルモン分泌不全にともなう外性器発育不全とともに造精機能障害を認める疾患である。治療の目的は第二次性徴の完成と生殖能力の獲得およびそれらの維持であり、T補充療法、ギナドトロピン療法、LH-RH投与、あるいはこれらの併用が考えられる。患者の年齢、原疾患、合併症、社会的背景などにより選択されるべきである。

1 下垂体腫瘍術後症例について

症例1, 3のように一度精子形成が導入された思春期以降の症例では理論的にはhCGのみの治療で精子形成は維持できるものと考えられる。症例3は下垂体プロラクチン産生腫瘍にて保存的に経過観察している症例であるが、プロモクリプチンのみではTが充分に上昇せず、hCGを週4000IU追加して正常な精液所見を維持している。一方、思春期前に手術された症例2はTには反応したがギナドトロピン治療に反応せず、無精子状態が続いている。2)に述べる症例と同じくhCGの投与方法、hMGの併用など再検討する必要がある。

原疾患の病態などにより、児を望まない症例ではT補充療法を行った。Tによる治療では全例満足すべき結果を得た。

2 ギナドトロピン分泌不全症、汎下垂体機能不全症症例について

Kallmann症候群のような先天性の遺伝子異常症では精管欠損など、胎生期のLeydig細胞の機能不全が想定される症例の報告も一部にはある¹⁾が、男性の外性器、副性器、生殖導管が認められ、Mullerian duct由来の器官が認められないことは、胎生期において患者の精巣のLeydig細胞はTを分泌していたことを示すと同時に、Sertoli細胞はMIS (Mullerian inhibiting substance)を分泌していたことをも示している。つまり出生前あるいは出生後のいずれかの時期に視床下部あるいは下垂体に何らかの障害が生じてLH-RHあるいはギナドトロピンの分泌が発来しない病態であり、精巣機能は一応正常であると考えられる。従って、理論的には適切なギナドトロピンあるいはLH-RHによる治療により精子形成を導入し維持していくことが可能である。しかしながら精子形成から挙児を目的としたLH-RH療法やギナドトロピン療法の報告は、必ずしも満足すべき治療結果とはいえない。LH-RHの体内半減期は数分であり、自動注

入ポンプを携帯して2時間間隔で皮下注入する必要がある。また2000~10000IUのhCG製剤を単回投与したデータでは血中T値は3日後にピークを示し、6日後には基礎値にもどっている²⁾ので1週に2~3回の投与が必要である。患者の年齢が働き盛りであり、注射のための頻回の通院が困難であることも一因と考えられるが、満足すべき治療効果が得られないことが多い。LH-RH療法あるいはゴナドトロピン療法による患者の精液所見の改善率については、25.0~71.4%と報告されている^{3~9)}。妊娠に至る率はさらに低値である。自験例ではゴナドトロピンあるいはLH-RHによる治療で精液所見の維持あるいは改善をみた症例は9例中5例(55%)であった。前立腺や精巣上体とはことなり、精細管ではTはDHTに代謝されずにそのままの形で作用することが想定されている¹⁰⁾が、精子形成に必要な精巣内テストステロン濃度についてはいまだ不明である。精子形成の維持にはhCGのみでよいが精子形成の導入にはFSHが不可欠であるとされている^{11,12)}ことから、ゴナドトロピン療法、少なくともその開始時にはhCG, hMGの併用が望ましいと考えられる。この精巣内T濃度の維持に必要なhCGの投与量や頻度、そして精子形成を導入するに最適なhMGの投与方法についてはさらに検討を要する。遺伝子組み替え技術を用いて生産された純粋なヒトFSHの臨床応用も始まっている¹³⁾。

ゴナドトロピン療法に対する反応性の違いはLeydig細胞やSertoli細胞の受容体の相違によるかも知れない。不妊症患者でのFSHに対する反応性の違いはSertoli細胞のFSH受容体の数によることが示唆されている¹⁴⁾。一方ではhCGの過剰投与はLeydig細胞のdown regulationを生ずる可能性や精細管基底膜の硝子化などの障害をきたす恐れもある。さらにこれらペプチドホルモンに対する血中抗体産生も報告されている¹⁵⁾ので注意が必要である。

日本人で不妊患者を対象とした研究では精子濃度、精子運動率、内分泌学的所見が正常を示すと考えられる最小精巣容積は12mlと報告されている¹⁶⁾。また内島ら¹⁷⁾は左右精巣容積の合計が30ml以下でFSHが、20ml以下でLHが、それぞれ高値を示す頻度が増し、さらに10ml以下でテストステロンが有意に低値を示すことを報告している。ゴナドトロピン療法により精巣容積の増大を見ない症例では、精巣内精子を用いた体外受精なども治療の選択肢を含めて検討する必要があるであろう。

3 先行するT補充療法のゴナドトロピン療法への影響

T補充療法は患者の負担も少なく、二次性徴の誘発には最も確実な治療法である。またT投与を長期間行った後でも適切なゴナドトロピン投与により精子形成が開始され、妊孕性も期待できる。精巣内T濃度の正常値は末梢血中レベルの約100倍と報告されている¹⁸⁾。正常な血中T値を維持するために必要なTの投与量では、精巣内T値は正常レベルよりはるかに低いと想定されるので、精巣に悪影響をおよぼす恐れは考えにくい。Bryson Leyら¹⁹⁾は、60~96カ月の長期間Tによる治療が先行されている症例でも、ゴナドトロピン治療によって未治療例と同様に精巣容積は増大し、精子が出現することを報告している。我々はTのデポ剤を2週~4週に一回筋肉内投与する。その後は1カ月に一回程度、患者の訴え、臨床所見、血中T値を参考に維持投与を行っている。これにより2~3カ月に二次性徴の発現が期待できる。前述したように、T製剤による二次性徴の発現とその維持についてはほぼ全例で満足すべき結果が期待できる。注意すべき点としては製剤による肝機能障害と高齢者における前立腺肥大症、前立腺癌の進行である。定期的な血液生化学検査と60歳以上の例では前立腺腫瘍マーカーの検査や理学的所見が重要である。汎下垂体機能低下症の患児の治療にあたっては、Tの投与により骨端の成長が止まるため、早期に投与すると低身長をきたすので注意が必要である。またアンドロゲン経口薬の長期投与は効果が不確実で肝機能障害の恐れもあり、使用していない。

本論文の要旨は第70回日本内分泌学会総会シンポジウム(1997年6月、東京)において発表した。

文 献

- 1) Hardelin JP, Leveilliers J, Young J et al. (1993) Xp22.3 deletion in isolated familial Kallmann's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 76:827-831
- 2) 今野 稔 (1981) 精巣 Leydig cell機能検査法・Human Chorionic Gonadotropin (hCG) 刺激試験に関する研究. *横浜医学* 32:501-521
- 3) 岩動孝一郎 (1983) Gonadotropin deficiencyによる男子hypogonadism症例に対するhCG/hMG併用療法についての検討. *日不妊会誌* 28:189-196
- 4) 奥山明彦, 並木幹夫, 小出卓夫 他 (1983) 睾丸間質機能の検討 第8報: 低ゴナドトロピン性性腺機能低下症に対するゴナドトロピン長期投与の経験. *日泌尿会誌* 74:1205-1212

- 5) 布施秀樹, 角谷秀典, 片海善吾 他(1986) 低ゴナドトロピン性類宦官症. 日不妊会誌 31:360-366
- 6) 古川雅人, 大橋輝久, 大橋洋三 他(1987) Hypogonadotropic hypogonadism に対するHCG-HMG療法. 西日泌尿 49:1321-1326
- 7) 天野俊康, 徳永周二, 打林忠雄 他(1994) 男子性腺機能低下症に対する治療法の検討. 日不妊会誌 39:149-155
- 8) 立木仁, 熊本悦明, 伊藤直樹 他(1995) Male idiopathic hypogonadotropic hypogonadism の精巣および内分泌学的所見とその治療への反応. 日内分泌会誌 71:605-622
- 9) 市川孝治, 大枝忠史, 小沢秀夫 他(1996) Hypogonadotropic hypogonadism に対するホルモン療法の効果に関する検討. 日不妊会誌 41:253-262
- 10) 穂坂正彦, 西村隆一, 高井修道 他(1983) ヒト分離精細管におけるtestosterone の代謝. 日不妊会誌 28:143-150
- 11) Zirkin BR, Awoniyi C, Griswold MD, et al. (1994) Is FSH required for adult spermatogenesis? J Androl 15:273-276
- 12) MacLachlan RI, Wreford NG, O'Donnell L, et al. (1996) The endocrine regulation of spermatogenesis: independent roles for testosterone and FSH. J Endocrinol 148:1-9
- 13) Kliesch S, Behre HM and Nieschlag E (1995) Recombinant human follicle-stimulating hormone and human chorionic gonadotropin for induction of spermatogenesis in a hypogonadal male. Fertility and Sterility 63:1326-1328
- 14) 並木幹夫, 中村正広, 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
- 15) Sokol RI, McClure RD, Peterson M, et al. (1981) Gonadotropin therapy failure secondary to human chorionic gonadotropin-induced antibodies. J Clin Endocrinol Metab 52:929-933
- 16) 白瀧敬, 瀧原博史, 鎌田清治 他(1994) 日本人を対象とした精巣容積と精巣機能との関係. 日不妊会誌 39:10-16
- 17) 内島豊 吉田謙一郎(1995) 男子不妊症における精巣容積の意義について. 日不妊会誌 40:195-202
- 18) 木下裕三, 穂坂正彦, 西村隆一 他(1977) Radioimmunoassay による睾丸組織中Testosterone 濃度の測定. ホルモンと臨床 25:1039-1044
- 19) Bryson Ley S and Leonard JM. (1985) Male hypogonadotropic hypogonadism: Factors influencing response to human chorionic gonadotropin and human menopausal gonadotropin, including prior exogenous androgens. J Clin Endocrinol Metab 61:746-752

(受付: 1999年2月10日)

(受理: 1999年3月4日)

Hypogonadotropic Hypogonadism

—Diagnosis and Treatment of 30 Cases—

Kazumi Noguchi, Mitumasa Takeda, Kazuo Saitoh,
Yuzo Kinoshita, Akira Iwasaki and Masahiko Hosaka

Department of Urology, Yokohama City University School of Medicine,
Yokohama 236-0004, Japan

From 1981 to 1997, 30 male patients with hypogonadotropic hypogonadism were diagnosed and treated in our department. Specifically, 8 cases of brain tumor, 5 cases of pan-hypopituitarism, 1 patient with Kallman syndrome, 1 patient with accidental exposure to LH-RH analogue, and 15 cases of hypofunction in gonadotropin secretion. Patients were diagnosed as hypogonadotropic hypogonadism with basal gonadotropin and testosterone levels and stimulation tests using LH-RH and hCG.

In our department, we initially use testosterone depot to induce second sexual characteristics. And gonadotropin treatment by hCG with or without hMG is followed when the patients want pregnancy.

Twenty-two patients with testosterone substitution therapy were all treated satisfactorily. Second sexual characteristics appeared within 3 month. And in 10 cases with LH-RH and/or gonadotropin treatment for the purpose of pregnancy, 6 of the patients had improvement in their seminalysis. We have one case of pregnancy after the treatment.

Key words: hypogonadotropic hypogonadism, infertility, diagnosis, treatment

(Jpn J Fertil Steril 44:173-178 1999)

無精子症患者における azoospermia factor (AZF) の検討

The Azoospermia Factor (AZF) in Azoospermia Patients

鈴木規之 千葉大学医学部泌尿器科 市川智彦 太田 詔
Noriyuki SUZUKI Tomohiko ICHIKAWA Sho OHTA
細木 茂 小宮 顕 鈴木啓悦
Shigeru HOSOKI Akira KOMIYA Hiroyoshi SUZUKI
湯 浅 讓 治 伊 藤 晴 夫
Joji YUASA Haruo ITO

Department of Urology, School of Medicine, Chiba University,
Chiba 260-8670, Japan

帝京大学医学部附属市原病院泌尿器科

正 井 基 之
Motoyuki MASAI

Department of Urology, Teikyo University, School of Medicine, Ichihara Hospital,
Chiba 299-0111, Japan

国保旭中央病院泌尿器科

村 上 信 乃
Shino MURAKAMI

Department of Urology, Asahi General Hospital,
Chiba 289-2511, Japan

川崎製鉄千葉病院泌尿器科

始 関 吉 生
Yoshio SHISEKI

Department of Urology, Kawasaki Seitetsu Chiba Hospital,
Chiba 260-0842, Japan

横浜労災病院泌尿器科

山 口 邦 雄
Kunio YAMAGUCHI

Department of Urology, Yokohama Rosai Hospital,
Kanagawa 222-0036, Japan

男子不妊症患者の50%以上は特発性の無精子症や乏精子症である。また、Y染色体上に精子形成をつかさどる遺伝子または遺伝子群があるとされ、azoospermia factor (AZF)と呼ばれている。そしてこのAZFの微小欠失が、精子形成に影響するものと考えられている。そこで無精子症患者におけるY染色体上の遺伝子の欠失を検討した。

対象は1993年4月から1998年3月までに千葉大学医学部附属病院、帝京大学医学部附属市原病院、国保旭中央病院、川崎製鉄千葉病院、横浜労災病院の泌尿器科を、不妊を主訴として受診した男子不妊症患者のうち、無精子症を呈し、本人の承諾を得て末梢血よりDNAを抽出した44例である。

これらのDNAについて、既知の16種のsequence tagged sitesを使ってpolymerase chain reaction法によりY染色体上の微小欠失を検討した。

特発性無精子症の2例と、性染色体異常を示した2例にY染色体上の欠失領域を認めた。

通常の染色体検査では染色体異常が指摘されない症例でもAZFに微小欠失があった場合、その患者の精巣内精子を使ったTESE-ICSIを行うと、その子が男性の場合、無精子症となる可能性がある。無精子症患者にTESE-ICSIを行う場合、その施行前にAZFの微小欠失の有無を検索し、十分なインフォームドコンセントを得てから治療を行う必要があると思われた。

キーワード：男子不妊症、無精子症、AZF

(日不妊会誌 44:179-186 1999)

緒 言

男子不妊症患者の50%以上は特発性の無精子症や乏精子症である¹⁾。また、Y染色体上に精子形成をつかさどる遺伝子または遺伝子群があるとされ、azoospermia factor (以下AZFと略す)と呼ばれている。そしてこのAZFの微小欠失が、精子形成に影響するものと考えられている。そこで無精子症患者におけるY染色体上の遺伝子の欠失を検討した。

対象および方法

対象は1993年4月から1998年3月までに千葉大学医学部附属病院、帝京大学医学部附属市原病院、国保旭中央病院、川崎製鉄千葉病院、横浜労災病院の泌尿器科を受診した無精子症患者で、本研究の主旨を理解し協力を承諾してくれた44例である。

これらの症例に対し、十分な問診、理学所見をとり、精索静脈瘤が疑われた場合にはTakaharaら²⁾の

表1 Y染色体上のプライマー

STS	Left primer	Right primer	Product size (bp)
sY274	TTAAGGGGACAGTATTTCAACTTC	CCACATTTAAACTGAGTACAGTCC	350
sY238	AACAAGTGAGTTCACAGGG	GCAAAGCAGCATTCAAACA	350
YRRM1	ATGCACTTCAGAGATCGG	CTTTGAAAACAATTCCTTTTCC	800
sY78	TCCTTTTCCACAATAGACGTCA	GGAAGTATCTTCCCTTAAAAGCTATG	170
sY142	AGCTTCTATTCGAGGGCTTC	CTCTCTGCAATCCCTGACAT	196
sY143	GCAGGATGAGAAGCAGGTAG	CCGTGTGCTGGAGACTAATC	311
sY153	GCATCCTCATTTTATGTCCA	CAACCCAAAAGCACTGAGTA	139
sY152	AAGACAGTCTGCCATGTTTCA	ACAGGAGGGTACTTAGCAGT	125
sY147	TTTCTCGTTTGATGATCCTAG	TTAATATGAGAATGAGAACAGATGT	100
sY146	ACAAAAATGTGGCTCAGGGA	AAATAGTGTGCCACCCAAA	173
sY254	GGGTGTTACCAGAAGGCAAA	GAACCGTATCTACCAAAGCAGC	107
sY255	GTTACAGGATTCGGCGTGAT	CTCGTCATGTGCAGCCAC	126
sY277	GGGTTTTGCCTGCATACGTAATTA	CCTAAAAGCAATTCTAAACCTCCAG	275
sY283	CAGTGATACACTCGACTTGTGTA	GTTATTTGAAAAGCTACACGGG	375
sY158	CTCAGAAGTCTCCTAATAGTTCC	ACAGTGGTTTGTAGCGGGTA	231
sY160	TACGGGTCTCGAATGGAATA	TCATTGCATTCCCTTTCCATT	236

報告した方法で、陰嚢エコー、ドップラー超音波検査、サーモグラフィーを行った。血中のLH、FSH、prolactin、testosterone、estradiolを測定し、末梢血リンパ球を用いたGバンド法にて染色体分析を行い、一部の症例ではQバンド法、Cバンド法、fluorescence in situ hybridization法(以下FISH法と略す)を併用した。精液検査は、5日間の禁欲期間をおき、用手法にて採取し、室温にて液状化させ検鏡した。また患者の同意の得られた14例に対して、精巣生検を行った。

これらの患者の末梢血を採取し、QIAamp blood maxi kit(QIAGEN, California, USA)を使って顆粒球よりDNAを抽出した。

これらを表1に示した既知の16種のsequence tagged sites(以下STSと略す)を使ってpolymerase chain reaction法(以下PCR法と略す)によりY染色体上の微小欠失の有無につき検討した³⁻⁷⁾。

結 果

触診、陰嚢エコー、ドップラー超音波検査、サー

表2 無精子症の原因

1.精子形成障害	
A.特発性	23例
B.精索静脈瘤	9例
C.高ゴナドトロピン性性腺機能不全症	2例
D.低ゴナドトロピン性性腺機能不全症	2例
(内Kallmann症候群	1例)
E.性染色体異常 45,X/46,X,dicY(q11.2)	2例
F.流行性耳下腺炎性精巣炎	1例
2.精路通過障害	
(内精管欠損症	2例)
3.その他	
A.右閉塞性、左Sertoli cell only症候群	1例

モグラフィーより精索静脈瘤が認められたものは9例あった。

内分泌学的検査では、LH0.32~62.4mIU/ml(中央値6.14mIU/ml)、FSH 0.82~222.8mIU/ml(中央値26.93mIU/ml)、プロラクチン1.80~28.84ng/ml(中央値10.36ng/ml)、テストステロン0.08~12.69ng/ml(中央値3.65ng/ml)、エストラジオール11.3~63.3pg/ml(中央値22.5pg/ml)であった。このうち血中テストステロンが低値を示した症例は4例あり、高ゴナドトロピン性性腺機能不全症が2例、低ゴナドトロピン性性腺機能不全症が2例であった。そして低ゴナドトロピン性性腺機能不全症のうち1例は、Kallmann症候群と診断された。

染色体検査で異常を認めた症例は3例あった。このうち2例はQバンド法、Y染色体傍動元体領域を検出するプローブ(DYZ3)を用いたFISH法により、45,X/46,X,dicY(q11.2)と診断された。またもう1例は、Cバンド法にて46,XY,inv(1)(p11q12)と診断された。染色体の番号を問わず、セントロメア付近のヘテロクロマチンのみを含む腕間逆位は、表現型や生殖には影響しないとされており⁸⁾、この染色体異常は正常変異と考えられた。

精巣生検は14例に行われた。結果は、生殖細胞低形成が6例、無形成が4例、成熟停止が2例、左精巣がSertoli cell only症候群、右精巣が正常精子形成を示したものが1例、両側とも正常精子形成を示したものが1例であった。

以上より、無精子症の原因は表2のように分類された。

PCR法を使ったY染色体上の欠失領域の有無の結果は図1のごとくであった。特発性無精子症の症例4ではsY254、sY255、sY283で微小欠失を認めた(図2)。症例23ではsY153以下の9のSTSで欠失を認めた。また性染色体異常45,X/46,X,dicY(q11.2)の症例37、症例38にY染色体長腕上の欠失領域を認めた。これらの患者の詳細を表3に示す。

表3 Y染色体上に欠失を認めた症例

症例番号	年齢	平均精巣容積 (ml.)	LH (mIU/ml.)	FSH (mIU/ml.)	PRL (ng/ml.)	T (ng/ml.)	E ₂ (pg/ml.)	染色体	精巣生検
4	45	11	6.3	35.8	6.3	2.9	13.7	46,XY	生殖細胞無形成
23	30	14	7.8	27.9	12.4	6.5	27.4	N.D.	N.D.
37	33	10	3.7	26.0	15.4	2.9	N.D.	45,X/46,X,dicY(q11.2)	N.D.
38	27	10	7.7	19.0	16.0	3.1	33.5	45,X/46,X,dicY(q11.2)	N.D.

N.D.: 施行せず

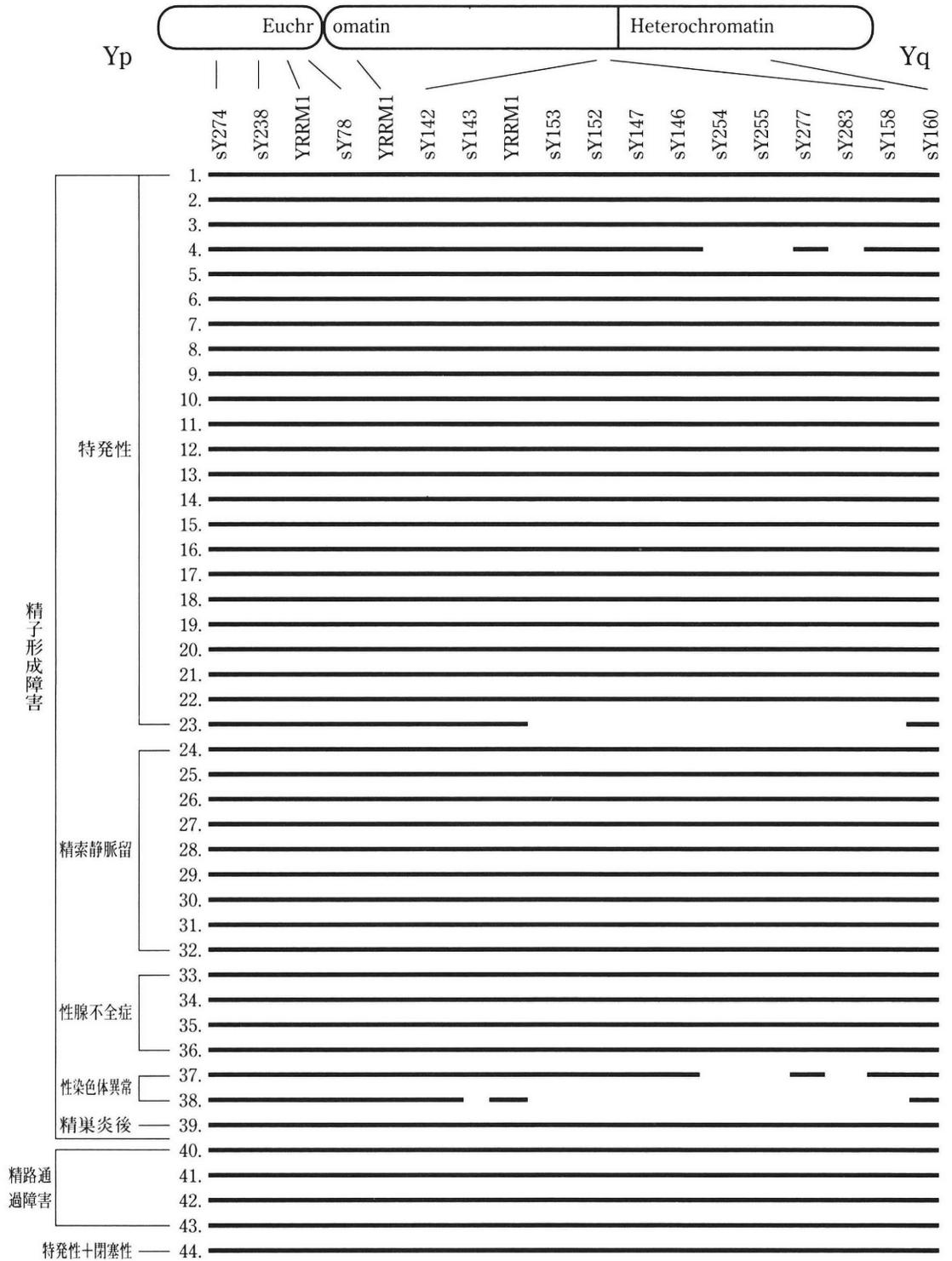


図1 Y染色体上の微小欠失領域

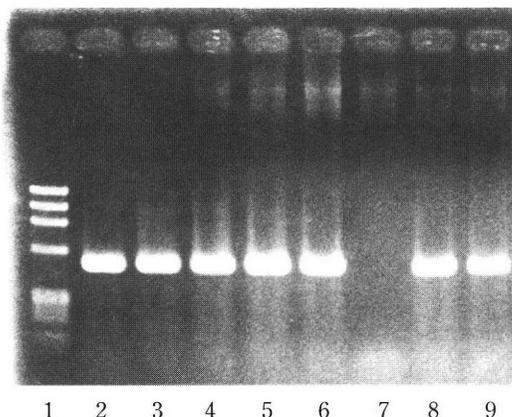


図2 sY283のPCRの結果

- レーン1: Marker XΦ174 Hae III digest (marker 4)
 レーン2: control 1
 レーン3: control 2
 レーン4: 症例 1
 レーン5: 症例 2
 レーン6: 症例 3
 レーン7: 症例 4
 レーン8: 症例 5
 レーン9: 症例 6

考 察

不妊症夫婦間における男性側の責任率は、40～75%と報告されている⁹⁾。この男子不妊症は大きく精子形成障害、精路通過障害、精巣上体炎や前立腺炎などの炎症性疾患によるもの、勃起障害や射精障害のような性功能障害によるものに分類され、このうち精子形成障害は、特発性、精索静脈瘤、精巣炎、停留精巣、染色体異常、内分泌学的異常、その他に分類される¹⁾。そして特発性の精子形成障害が、男子不妊症の50%以上を占めている¹⁾。

特発性の精子形成障害に対しては、内分泌療法としてクエン酸クロミフェン、クエン酸タモキシフェン、human chorionic gonadotropin (以下hCGと略す)、human menopausal gonadotropin (以下hMGと略す)などが、非内分泌療法としてメチコバラミン、カリクレインなどが、また漢方製剤として八味地黄丸、補中益気湯、牛車腎気丸、人參養榮湯などが投与されている。しかしこれらの薬剤による妊娠率は、角谷らによると特発性乏精子症患者で、クエン酸クロミフェン連日投与で18.2%、間歇投与で11.8%、クエン酸タモキシフェンで7.5%、hCGとhMGの併用で4.3%、メチコバラミンで16.0%、カリクレインで16.9%であり¹⁰⁾、特発性無精子症に対しては

有効な治療法がほとんどない状態である。

これに対し産婦人科領域では1978年SteptoeとEdwardが体外受精胚移植による妊娠、分娩に成功して以来¹¹⁾、補助生殖技術(Assisted Reproductive Technology 以下ARTと略す)の発展がめざましく、今日では精巣内精子採取-卵細胞質内精子注入法(testicular sperm extraction-intracytoplasmic sperm injection 以下TESE-ICSIと略す)により、特発性無精子症患者でも精巣内にごく少量の精子があれば、拳児を得ることが可能になった。

一方1976年、Y染色体長腕末梢側の欠失と、精巣組織でのspermatogenesisの低下や消失の所見との関連が指摘され、Y染色体にspermatogenesisをコントロールする重要な遺伝情報があると指摘された¹²⁾。1986年にはY染色体の欠失部分の検討より、AZFは第6領域にあるとされ¹³⁾、1988年にはYq11.23にあるとされた¹⁴⁾。

しかし染色体上は46,XYと正常ながら、spermatogenesisが低下や消失している症例もあり、1992年にはSouthern analysisによりそのような症例から2つの微小欠失が見つかった¹⁵⁾。1993年にはRBM (RNA-binding motif) またはYRRM (Y-RNA-recognition motif) と呼ばれる遺伝子が分離され、Y染色体にのみ位置し、精巣にのみ発現し、他の種族にも保存され、無精子症や乏精子症患者の一部にその欠失が見つかったことより、AZFの候補とされた^{4, 16-17)}。1995年には同じようにしてDAZ (deleted in azoospermia) 遺伝子が分離され、AZFの候補とされている⁷⁾。最近ではAZFの候補遺伝子は複数存在すると予想されており、1996年には、AZFa, AZFb, AZFcが報告され、AZFa, AZFbは無精子症に、AZFcはDAZを含み乏精子症に関連しているとされている¹⁸⁾。また1997年には乏精子症に関連している欠失部位が第6領域遠位部、DAZ領域の外側にもあると報告されている¹⁹⁾。さらに常染色体3p24上にDAZ like autosomal (DAZLA) 遺伝子があり、常染色体劣性遺伝する、家族性の男子不妊症に関与していると言われている²⁰⁾。

このように通常の染色体検査では染色体異常が指摘されない症例でも、AZFに微小欠失があった場合、その患者の精巣内精子を使ったTESE-ICSIを行うと、その子が男性の場合、無精子症となる可能性がある。Kent-Firstらによると、男子不妊症でICSIで拳児を得た32組の父とその男児の末梢血よりDNAを抽出し検査したところ、3例の男児と、そのうちの1例の父にAZFbとAZFcの領域の欠失が見つかったという²¹⁾。通常の生殖行為だけでは自然淘汰されてし

まうこのような遺伝形質を、ARTを使って次世代に伝えてしまう事の良否は今後十分に議論されなければならないが、無精子症患者にTESE-ICSIを行う場合、その施行前にAZFの微小欠失の有無を検索し、十分なインフォームドコンセントを得てから治療を行う必要があると思われる。

そこで無精子症患者の末梢血よりDNAを抽出し、既知の16のSTSを使ってその微小欠失の有無を検索した。すると染色体検査で性染色体異常を認めなかった症例4にsY254, sY255, sY283で微小欠失を認めた。このうちsY254, sY255はReijoらがDAZ遺伝子があるとしている部分であり⁷⁾、またsY283もその近傍であり、この部分の遺伝子の欠失が、この症例の無精子症の原因であると思われる。症例23は染色体検査を行っていないが、DAZ領域を含むsY153以下の9のSTSで欠失を示した。これに性染色体異常を認めた症例37, 症例38を加えると、44例中4例(9%)にY染色体上の欠失を認めたことになる。

Y染色体上に微小欠失が見つかる頻度は、Ruckerらによると、非閉塞性無精子症患者183例中17例(9%)であった²²⁾。また対象を特発性無精子症患者にしぼると、Shirakawaらによる25例中4例(16%)²³⁾、Simoniらによる74例中3例(4%)²⁴⁾という報告がある。我々の検討でも、対象を特発性無精子症のみにしぼってみると、微小欠失の発見頻度は23例中2例(9%)となった。

Kahramanらによると、非閉塞性無精子症患者29例にTESEを行ったところ、14例(48%)より精子を得ることができ、ICSIを行うことで6例(42.9%)に、妊娠を認めたという²⁵⁾。またSchlegelらは、非閉塞性無精子症患者16例中10例(62%)よりTESEにて精子を得ることができ、ICSIでそのうち5例(50%)に妊娠を認めている²⁶⁾。またGil-Salomらによると、非閉塞性無精子症患者154例中63例(41%)よりTESEにて精子を得ることができ、そのうちICSIを行った57例中21例(37%)で妊娠を認めたという²⁷⁾。今後ますますARTを使っての、不妊治療は増加していくものと思われる。このためにもAZFの解明は急務であり、PCRを使った微小欠失の検索は、短時間で、限られた道具で行え、感度も高く、特発性の無精子症や高度乏精子症のスクリーニング検査としても有用と思われる。

文 献

- 1) Namiki M (1996) Recent concepts in the Management of male infertility. *Int J Urol* 3:264-255
- 2) Takahara M, Ichikawa T, Shiseki Y, et al. (1996) Relationship between grade of varicocele and the response to varicocelectomy. *Int J Urol* 3:282-285
- 3) Reijo R, Alagappan RK, Patrizio P, et al. (1996) Sever oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome. *The Lancet* 347:1290-1293
- 4) Ma K, Inglis JD, Sharkey A, et al. (1993) A Y chromosome gene family with RNA-binding protein homology: Candidates for the azoospermia factor AZF controlling human spermatogenesis. *Cell* 75: 1287-1295
- 5) Kobayashi K, Mizuno K, Hida A, et al. (1994) PCR analysis of the Y chromosome long arm in azoospermic patients: evidence for a second locus required for spermatogenesis. *Hum Mol Genet* 3: 1965-1967
- 6) Vollrath D, Foote S, Hilton A, et al. (1992) The human Y chromosome: A 43-interval map based on naturally occurring deletions. *Science* 258:52-59
- 7) Reijo R, Lee TY, Salo P, et al. (1995) Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. *Nature Genet* 10:383-393
- 8) Carothers AD, Buckton KE, Collyer S, et al. (1982) The effect of variant chromosomes on reproductive fitness in man. *Clin Genet* 21:280-289
- 9) 三浦一陽(1994) 男性不妊症. アンドロロジーマニユアル. 白井将文編, 第1版, 新興医学出版, 東京, pp 152-166
- 10) 角谷秀典, 小竹 忠, 始関吉夫 他(1990) 乏精子症を呈する特発性男子不妊症の薬物療法. *西日泌* 52:591-597
- 11) Steptoe PC and Edward RG (1978) Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 2 (8085): 366
- 12) Tiepolo L and Zuffardi O (1976) Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 34:119-124
- 13) Vergnaud G, Page DC, Simmler MC, et al. (1986) A deletion map of the human Y chromosome based on DNA hybridization. *Am J Hum Genet* 38:109-124
- 14) Andersson M, Page DC, Pettay D, et al. (1988) Y autosome translocations and mosaicism in the aetiology of 45,X maleness: assignment of fertility factor to distal Yq11. *Hum Genet* 79:2-7

- 15) Ma K, Sharkey A, Kirsch S, et al. (1992) Towards the molecular localization of the AZF locus : mapping of microdeletions in azoospermic men within 14 subintervals of interval 6 of the human Y chromosome. *Hum Mol Genet* 1:29-33
- 16) Chandley AC and Cooke HJ (1994) Human male fertility-Y-linked genes and spermatogenesis. *Hum Mol Genet* 3:1449-1452
- 17) Schempp W, Binkele A, Arnemann J, et al. (1995) Comparative mapping of YRRM and TSPY-related cosmids in man and hominoid apes. *Chromosome Res* 3:227-234
- 18) Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, et al. (1996) Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet* 5:933-943
- 19) Stuppia L, Gatta V, Mastroprimiano G, et al. (1997) Clustering of Y chromosome deletions in subinterval E of interval 6 supports the existence of an oligozoospermia critical region outside the DAZ gene. *J Med Genet* 34:881-883
- 20) Yen PH, Chai NN and Salido EC (1996) The human autosomal gene DAZLA : testis specificity and a candidate for male infertility. *Hum Mol Genet* 5: 2013-2017
- 21) Kent-First MG, Kol S, Muallem A, et al. (1996) The incidence and possible relevance of Y-linked microdeletions in babies born after intracytoplasmic sperm injection and their infertile fathers. *Mol Hum Reprod* 2:943-950
- 22) Rucker GB, Mielnik A, King P, et al. (1998) Preoperative screening for genetic abnormalities in men with nonobstructive azoospermia before testicular sperm extraction. *J Urol* 160:2068-2071
- 23) Shirakawa T, Fujisawa M, Kanzaki M, et al. (1997) Y Chromosome (Yq11) microdeletions in idiopathic azoospermia. *Int J Urol* 4:198-201
- 24) Sinoni M, Gromoll J, Dworniczak B, et al. (1997) Screening for deletions of the Y chromosome involving the DAZ (Deleted in Azoospermia) gene in azoospermia and severe oligozoospermia. *Fertil Steril* 67:542-547
- 25) Kahraman S, Ozgur S, Alatas C, et al. (1996) Fertility with testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermic men. *Hum Reprod* 11:756-760
- 26) Schlegel PN, Palermo GD, Goldstein M, et al. (1997) Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection for nonobstructive azoospermia. *Urology* 49:435-440
- 27) Gil-Salom M, Romero J, Minguez Y, et al. (1998) Testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection : A chance of fertility in nonobstructive azoospermia. *J Urol* 160:2063-2067
(受付 : 1999年2月8日)
(受理 : 1999年3月9日)

The Azoospermia Factor (AZF) in Azoospermia Patients

Noriyuki Suzuki, Tomohiko Ichikawa, Sho Ohta, Shigeru Hosoki,
Akira Komiya, Hiroyoshi Suzuki, Joji Yuasa and Haruo Ito.

Department of Urology, School of Medicine, Chiba University,
Chiba 260-8670, Japan

Motoyuki Masai

Department of Urology, Teikyo University, School of Medicine, Ichihara Hospital,
Chiba 299-0111, Japan

Shino Murakami

Department of Urology, Asahi General Hospital,
Chiba 289-2511, Japan

Yoshio Shiseki

Department of Urology, Kawasaki Seitetsu Chiba Hospital,
Chiba 260-0842, Japan

Kunio Yamaguchi

Department of Urology, Yokohama Rosai Hospital,
Kanagawa 222-0036, Japan

To evaluate the occurrence and prevalence of microdeletions of the Y chromosome in patients with azoospermia, we analyzed DNA from 44 men with azoospermia. The patients were screened by PCR with a set of Y chromosome specific STSs for microdeletions of their Y chromosome.

The deletions involving the sY254 and sY255 DAZ (Deleted in Azoospermia) loci were found in two patients with idiopathic azoospermia and two with Y chromosome abnormality. The estimated frequency of deletions was 9% in azoospermic men.

We conclude that the PCR analysis is useful for the diagnosis of microdeletions of the Y chromosome and it would be important when deciding the suitability of a patient for assisted reproductive technology such as TESE-ICSI.

Key words: male infertility, azoospermia, AZF

(Jpn J Fertil Steril 44:179-186 1999)

高感度尿中hCG検出試薬「MD367」を用いた 体外受精血清検体に対するhCG半定量の検討

Examination of Semi-quantification for hCG in Serum Sample of *In Vitro* Fertilization Using a Sensitive hCG Qualitative Urine Test "MD367"

慶應義塾大学産婦人科学教室

田中宏明 末岡 浩

Hiroaki TANAKA Kou SUEOKA

久慈直昭 吉村泰典

Naoaki KUJI Yasunori YOSHIMURA

Department of Obstetrics & Gynecology, School of Medicine,
Keio University, Tokyo 160-8582, Japan

近年多種の尿中hCG定性試験が妊娠判定目的で使用され、その検出感度も25mIU/ml以下の高感度テストが開発されている。一方血中hCGについてはEIA法により迅速定量が行われているが、検体数などで迅速検体については汎用性が必ずしも高いとはいえない。これに対し新たな高感度尿中hCG検出試薬(MD-367:スクリップス・ラボラトリーズ社製)を用いて、とくに体外受精後の血清検体から微量な血中hCGの半定量的な検出が可能であるかについて検討を行った。その結果、血中hCGが高値なものの判定バンドのスポットも高濃度でありhCG標品の結果とほぼ同一の結果となり、低単位hCGの半定量が可能であることを示す結果を得た。

キーワード:hCG, MD367, hCG半定量

(日不妊会誌 44:187-191 1999)

緒 言

ヒト絨毛性ゴナドトロピン(human chorionic gonadotropin:hCG)は絨毛組織で産出される性腺刺激ホルモンであり、妊娠早期より特異的に検出されることから妊娠の診断や絨毛性疾患の診断や予後管理などに古くからその測定がなされてきた¹⁻³⁾。また近年では、体外受精をはじめとする生殖補助技術の発展によって、極めて早期の妊娠およびその予後判定に低単位のhCG測定が必要となり、高感度で迅速な方法が切望されてきた。また、hCGの高感度測定にはradio immunoassay(RI)法による定量化について、non radiometric assay法の一つとしてEIA法の開発も行われ、臨床の場でその有用性が立証されている⁴⁾。しかし、簡便性・迅速性から定性ないしは半定性法

を目的とした高感度妊娠検査薬の意義は高い。

尿中hCGの検出方法として、近年多くの検出試薬が普及しつつあるが、検出感度、特異性および操作の簡便性の各面から飛躍的な進歩を遂げている⁵⁻⁷⁾。これはhCG分子自体の蛋白構造解析、モノクローナル抗体作製法の技術的進歩、多孔性支持体の改良などによるところが大きい。また、尿中hCG検出試薬の中にも血中hCG検出試薬として使用できるものもあり、尿希釈による影響が少ない分、安定していると考えられる。

今回、新たに開発された高感度妊娠検査薬であるMD367(Scripps Laboratories社製)を用いて、血中hCG検出試薬としての感度・特異性・臨床的有用性について検討を行ったのでその成績を報告する。

対象および方法

1 MD367キットによる測定方法

1) 測定原理

スティック状のキットに図1に示すように尿もしくは血清をまずフィルターの機能を有するサンプル流入パッドを通して吸い上げ、ついで検体に含まれるhCGを2種類の抗hCGモノクローナル抗体を用いたサンドイッチ法によって検出されるように作成されている。検体の流れを図2に示すが、まず尿(血清)に含まれたhCGが金コロイドに標識した抗hCGモノクローナル抗体と結合する。ついで、結合体がキットの支持体の上方へ移動して、判定ウインドウを通過する際に固相化された抗hCGヤギポリクローナル抗体と反応し、判定バンドの位置に赤紫色のバンドとして検出される。余った金コロイド標識抗hCGモノクローナル抗体はキット上方へ移動を続け、コントロールバンドの位置にまで上昇すると固相化した抗マウスIgGヤギポリクローナル抗体によって2本目のバンドが出現して、アッセイが終了したことを示すように設定されている。用いられている2種類の抗hCG抗体はhCGの異なるepitopeを認識する抗体である。

2) 操作法および判定法

尿および血清に直接キット採尿口を10秒間浸して

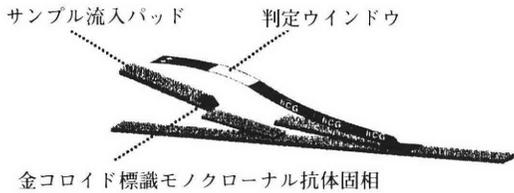


図1 MD367キットの構造

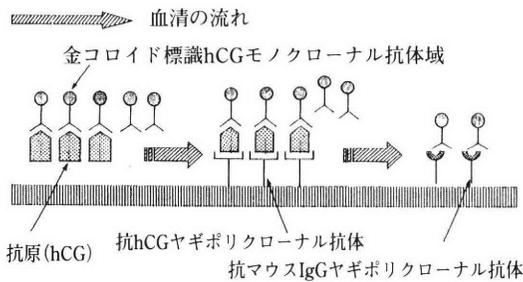
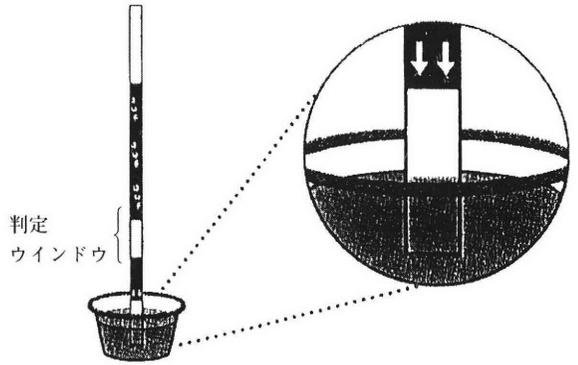
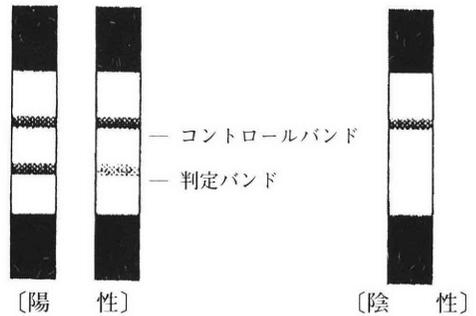


図2 MD367キットの原理



被験血清にキットの採尿口を10秒間浸す。

図3 操作法



陽性ではコントロールバンドに加え判定バンドにも、赤紫色のバンドを検出する。

図4 判定

静置し、スティック内を尿および血清が上昇するのを待つ(図3)。約5分後コントロールバンドが適正に反応していることを確認後、判定バンドの結果を判定する。

判定バンド上に肉眼で赤紫色のバンドを確認し得たものを陽性(+)、確認できず無色のままであるものを陰性(-)とした(図4)。バンドに弱い着色を認めるが、バンドの輪郭が不鮮明である場合を擬陽性(±)と判定した。

2 hCG標品による検出試験

1) 検出感度

hCGに対する測定感度および反応特異性に関する検討を行った。hCG標品としてはWHO 3rd International Standard 75/537を用い0, 2, 4, 5, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 50, 100mIU/mlの12段階の濃度に0.01M PBS+1% BSAで希釈して検出に供した。

表1 標品を用いたhCG検出感度に関する検討

測定	hCG濃度 (mIU/l)											
	0	2	4	5	6	8	10	15	20	25	50	100
1	-	-	-	±	±	+	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	±	±	+	+	+	+	+	+	+
3	-	-	-	±	±	+	+	+	+	+	+	+

+:陽性, ±:擬陽性, -:陰性

表2 高濃度hCGによるプロゾーン反応の検討

測定	hCG100×10 ⁴ mIU/l
1	+
2	+
3	+

+:陽性

表3 LH・FSH・TSHとの交差反応性の検討

測定	LH	FSH	TSH
	500mIU/l	1,000mIU/l	1,000μIU/l
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-

-:陰性

2) プロゾーン試験

hCG標品を100×10⁴mIU/mlに調整して本キットによる検出を行い、プロゾーン反応の検討を行った。

3) 特異試験(交差反応性試験)

WHO標品のhLH, hFSH, hTSH(以下LH, FSH, TSH)を用いて交差反応性について検討を行った。濃度はLH500mIU/ml, FSH1,000mIU/ml, TSH1,000μIU/mlを用い、各3回の試験を行った。

3 体外受精・胚移植後の血清検体に関する検討

当院で体外受精・胚移植を実施した26例について、採卵後10日目と14日目の血中hCGのEIA定量結果とMD367の判定結果の相関を検討した。

なお、体外受精・胚移植のプロトコールはいずれもGnRHa long protocol法にてFSH300単位を連日4日間投与後、hMG225単位を連日投与、最大卵胞径20mmに達した日にhCG投与、34時間後に経腔採卵を施行し、採卵より48時間後に胚移植を施行した。また、黄体賦活法はhCGではなく、ジドロゲステロン一日30mgを10日間使用した。

結 果

1 hCG標品による検出感度および特異性に関する基礎実験

1) 感度試験

表1にhCG検出感度の検査結果を示した。標品のhCG濃度8mIU/ml以上ではすべての検査で陽性、4mIU/ml以下ではすべて陰性を示した。5mIU/mlお

よび6mIU/mlでは、色調でのバンド判定は可能だがバンドの輪郭を明瞭にとらえることができなかったため、擬陽性と判定した。判定は施行した各3回とも同様な結果を示した。

2) プロゾーン試験

表2に100×10⁴mIU/mlの高濃度hCG標品を用いた反応結果を示すが、3回の試験施行とも陽性を示し、少なくとも臨床上出現し得るhCG濃度での検出に問題を生じないことを示した。

3) 交差反応性試験

表3に結果を示す。LH濃度500mIU/ml, FSH濃度1,000mIU/ml, TSH濃度1,000μIU/mlでいずれも陰性を示して交差反応は認められなかった。3回の試験で同様の結果を示した。

2 体外受精・胚移植後の血清検体に関する検討

表4, 5に体外受精施行例(26例)の採卵後10日目と14日目の血中hCGのEIA定量結果とMD367の判定結果の結果を示す。妊娠例では採卵10日目に17例中6例が陽性、2例が擬陽性であり14日目には全例が陽性であった。非妊娠例(9例)では10日目、14日目とも全例陰性であり、血中hCG値はすべて2mIU/ml以下であった。妊娠例のうち10日目の血中hCG25mIU/ml以上の例では全例陽性であったが10mIU/ml以下の例では全例陰性であった。

表4 体外受精後の血中hCGの検討(1)

症例	採卵後10日目		採卵後14日目	
	EIA(mIU/l)	MD367	EIA(mIU/l)	MD367
(妊娠例)				
1	31	+	161	+
2	66	+	281	+
3	13	-	144	+
4	8	-	149	+
5	10	±	317	+
6	10	-	49	+
7	45	+	222	+
8	25	+	139	+
9	64	+	100	+
10	4	-	183	+
11	16	±	147	+
12	16	+	27	+
13	6	-	29	+
14	11	-	87	+
15	12	-	127	+
16	6	-	86	+
17	2	-	14	+
(非妊娠例)				
1	<2	-	<2	-
2	<2	-	<2	-
3	<2	-	<2	-
4	<2	-	<2	-
5	<2	-	<2	-
6	<2	-	<2	-
7	<2	-	<2	-
8	<2	-	<2	-
9	<2	-	<2	-

+: 陽性, ±: 擬陽性, -: 陰性

表5 体外受精後の血中hCGの検討(2)

	採卵後10日目			採卵後14日目				
	EIA (ml/UI)	MD367		EIA (ml/UI)	MD367			
		-	±	+		-	±	+
4 ≤, ≤10	6	1	0					
10 <, ≤16	2	1	1	14 ≤, ≤317	0	0	17	
16 <, ≤66	0	0	5					

考 察

生殖補助技術の発展により、妊娠超早期のhCGを微量から検出することが頻繁に行われるようになった。現在、血中hCGはEIA法により迅速定量化が行われているが、EIA機器を保有しない施設や迅速検体の搬送が困難な場合もあり、汎用性が必ずしも高いとはいえない。MD367はこの汎用性からも感度・特異性からも極めて高精度のキットと考えられた。とくに感度面では血中hCGの検出限界は16mIU/lであり、擬陽性を含めれば10mIU/lから妊娠についての半定量的判定が可能であった。また、血中hCGが

高値なものほど判定バンドのスポットも高濃度でありhCG標品の結果とほぼ同一の結果となり、低単位hCGの半定量が可能であることを示す結果が得られた。

表5に示したとおり、体外受精妊娠例では採卵後14日目である4週0日ですべて陽性を示した。体外受精の妊娠判定日である2週後には尿中hCGは希釈され、判定が不安定となるために血清検体の定量法が行われてきたが、MD367を血清用に転用することにより、低単位のhCGを半定量的に検出でき、極めて臨床的意義が高いと考えられた。

文 献

- 1) Pierce JG and Parsons TF (1981) Glycoprotein hormones ; Structure and function. *Annu Rev Biochem* 50:465-495
- 2) Ozturk M, Bellet D, Manil L, et al. (1987) Physiological studies of human chorionic gonadotropin (hCG), alpha hCG, and beta hCG as measured by specific monoclonal immunoradiometric assays. *Endocrinology* 120 (2):549-558
- 3) Ozturk M, Berkowitz R, Goldstein D, et al. (1988) Differential production of human chorionic gonadotropin and free subunits in gestational trophoblastic disease. *Am J Obstet Gynecol* 158 (1):193-198
- 4) 末岡 浩 他(1995) 高感度ヒト絨毛ゴナドトロピン測定EIAキット；(hCG)「SRL」の基礎的検討および早期妊娠診断への臨床応用. *医学と医薬* 33 (1):273-278
- 5) 久慈直昭 他(1994) 新しいhCG検出試薬オーラテックhCGの臨床的検討. *産婦の実際* 43(13):1865-1869
- 6) 山下隆則 他(1993) 妊娠診断補助試薬「シュアーステップhCG」の臨床使用試験. *産婦の世界* 45 (8):707-710
- 7) 末岡 浩 他(1998) 高感度迅速hCG検出試薬「MD367」の臨床的検討. *医学と医薬* 40(3):509-513
- 8) Chard T (1992) Pregnancy tests . A review . *Human Reproduction* 7:701-710

(受付：1999年2月11日)

(受理：1999年3月11日)

Examination of Semi-quantification for hCG in Serum Sample of *In Vitro* Fertilization Using a Sensitive hCG Qualitative Urine Test "MD367"

Hiroaki Tanaka, Kou Sueoka, Naoaki Kuji and Yasunori Yoshimura

Department of Obstetrics & Gynecology, School of Medicine,
Keio University, Tokyo 160-8582, Japan

Recently various qualitative tests for hCG in urine are used for interpretation of pregnancy, and high sensitive tests that have detection levels of below 25mIU/ml have been developed. Although rapid quantification of blood hCG by EIA method is available, it is not convenient and inexpensive enough to perform in daily clinical practice.

For this purpose, we examined the serum of the IVF-ET if it is possible to detect blood hCG semi-quantification using a new sensitive hCG in urine test (MD367 : Manufactured by Scripps Laboratories, Inc.).

These results suggest that blood hCG detection level are related to WHO 3rd International Standard hCG level, and possible to detect blood hCG semi-quantification using a MD367.

Key words: hCG, MD367, semi-quantification for hCG

(Jpn J Fertil Steril 44:187-191 1999)

“やせ”を主訴に発見された男子性腺機能不全症の2例

Two Cases of Male Hypogonadism Accompanied by Light Body Weight

東京慈恵会医科大学泌尿器科

木村 高弘
Takahiro KIMURA

池本 庸
Isao IKEMOTO

大石 幸彦
Yukihiko OHISHI

Department of Urology, Jikei University, School of Medicine,
Tokyo 350-0844, Japan

東京慈恵会医科大学内科学講座第2

東條 克能
Katuyosi TOJO

佐野 浩斎
Hironari SANO

The Second Department of Internal Medicine,
Jikei University, School of Medicine, Tokyo 350-0844, Japan

神経性食思不振症は視床下部-下垂体系の内分泌異常を呈するが女子例に比べ男子例での病態の検討は十分にされていない。今回やせを主徴とし、神経性食思不振症が強く疑われ、かつ低ゴナドトロピン性の性腺機能不全を呈した2例にゴナドトロピン療法を行い良好な経過を得たので報告する。症例1は17歳男性、やせ、低身長を主訴に当院内科を受診し性腺機能不全症が疑われ当科初診。身長148cm、体重34kg。外性器は発育不良(Tanner分類stage P-3)で性欲の低下を自覚していた。LH 0.5mIU/ml, FSH 2.4mIU/ml, free testosterone 1.5pg/mlと低下しており、四者負荷テストでもLH, FSHの低反応が認められたため低ゴナドトロピン性性腺機能不全症と診断しhCG補充療法を施行した。治療後テストステロンの上昇と外性器の発育が認められた。症例2は33歳男性、やせ、異常空腹感、勃起・射精障害を主訴に当院内科を受診し精査中に性腺機能不全症が疑われ当科受診した。身長175cm、体重53kg。外性器の発育は正常であった。LH 0.7mIU/ml, FSH 1.9mIU/ml, free testosterone 9.0pg/mlと低下しており、四者負荷テストでもLH, FSHの低反応が認められたため低ゴナドトロピン性性腺機能不全症と診断しhCG, hMG補充療法を施行した。治療によりテストステロンの上昇、勃起・射精能の改善、体重の増加が認められた。

キーワード：低ゴナドトロピン性性腺機能不全症、やせ、神経性食思不振症、LH-RH、男子

(日不妊会誌 44:193-196 1999)

緒言

今回我々はやせを主訴に受診し神経性食思不振症が疑われ、低ゴナドトロピン性性腺機能不全症が認められた男子2例を経験したので報告する。

症例

症例1：17歳、男性

主訴：低身長、やせ

現病歴：以前より食が細くやせていた。競馬学校に入學して日々トレーニングを積むうちにもっと太って筋肉を付けたいと切望するようになるが、食欲がなく体重は増えなかった。また周囲に比べて低身長も自覚するようになり、当院内科を受診し、性腺機能不全症が疑われたため、10月22日当科受診した。

既往歴・家族歴：特記すべきことなし。

現 症：身長148cm，体重34kg（標準体重の-33.9%），血圧90/60mmHg，心拍数66/min.，外性器發育不良（Tanner分類stage P-3），精巢容量両側6ml，勃起・射精は認められたが自慰の経験はなく性欲の低下を自覚していた。嗅覚異常は認められなかった。

検査所見：血液・生化学的検査，検尿沈渣では異常を認めなかった。

内分泌学的検査ではLH 0.5mIU/ml，FSH 2.4mIU/ml，free testosterone 1.5pg/ml，total testosterone 39.3ng/ml，free T₃ 2.1pg/ml，reverse T₃ 170pg/mlと低値で，GH 4.0ng/mlと高値であった。他検査値はTSH 0.36μIU/ml，free T₄ 1.0pg/ml，ACTH 21pg/ml，cortisol 10.9μg/dl，PRL 1.4ng/mlと正常であった。LH-RH（図1），TRH，GRH，CRHによる四者負荷テストではLH，FSHが低反応，遅延反応を示したが，他は正常範囲内の反応を示した。

頭部MRI検査では異常は認められなかった。

経 過：検査結果より低ゴナドトロピン性性腺機能不全症と診断し，hCG 3000IUを週1回投与した。1998年7月にはfree testosterone 8.2pg/mlと上昇を認め，free T₃ 2.6pg/ml，GH 0.44 ng/mlと正常化した。また身長151cmに対し体重は44.5kgと増加し，外性器の發育はTanner分類stage P-4，精巢容量は両側12mlに改善した。

症例2：33歳，男性

主 訴：やせ，空腹感，勃起・射精障害

現病歴：1994年9月頃よりいくら食べても満腹感を感じないという異常空腹感が出現し，その後20kgの体重減少を認めた。またこのころより勃起・射精障害を自覚しはじめたため当院内科を受診し，神経性食思不振症を疑われた。その精査中に内分泌学的検査にてLH，FSHの低値を指摘され，性腺機能不全症精査目的で6月11日当科受診した。

既往歴：交通外傷で頭蓋骨骨折，脳挫傷を受傷。初診時神経学的に後遺症は認められなかった。

家族歴：特記すべきことなし。

現 症：身長175cm，体重53kg（標準体重の-23.9%），血圧120/78mmHg，心拍数70/min.，外性器發育正常，精巢容量両側19ml。嗅覚異常は認められなかった。

検査所見：血液・生化学的検査，検尿沈渣では異常を認めなかった。FBS 106mg/dl，HbA1c 4.9%と正常で，75gOGTTは正常反応，基礎代謝率は-17%であった。

内分泌学的検査ではLH 0.7mIU/ml，FSH 1.9mIU/ml，free testosterone 9.0pg/ml，free T₃ 2.1pg/ml，free T₄ 0.73pg/mlと低値で，GH 1.1ng/mlの高値が認められた。他検査値はTSH 1.30μIU/ml，ACTH 20pg/ml，cortisol 14μg/dl，PRL 2.0ng/ml，reverse T₃ 194pg/mlと正常であった。LH-RH（図2），TRH，GRH，CRHによる四者負荷テストではLH，FSHが低反応，遅延反応を示したが，他は正常範囲内の反応を示した。

頭部MRI検査では異常は認められなかった。

精液検査では精液量0.5ml，精子数12×10⁴/ml，運

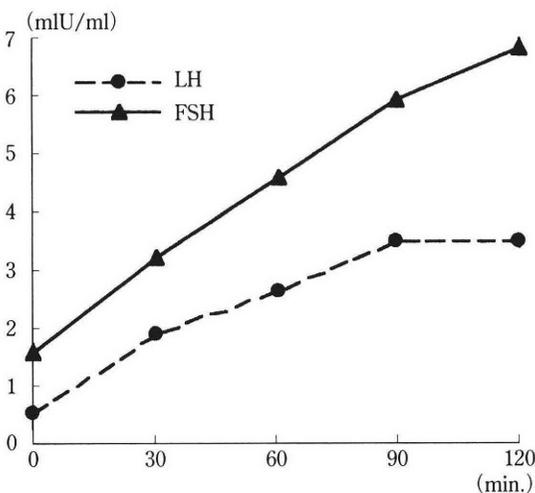


図1 四者負荷テストにおけるLH，FSHの反応（症例1）

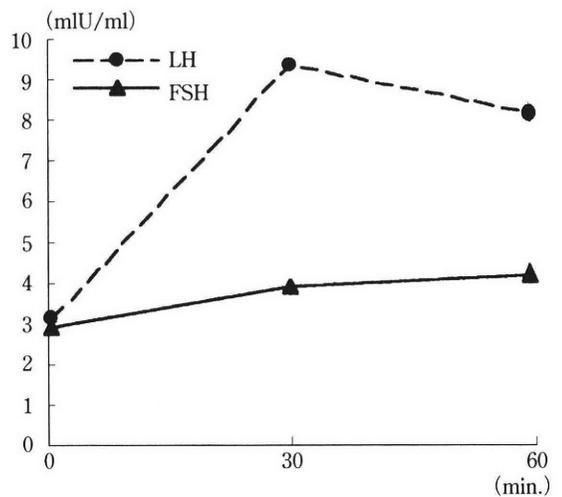


図2 四者負荷テストにおけるLH，FSHの反応（症例2）

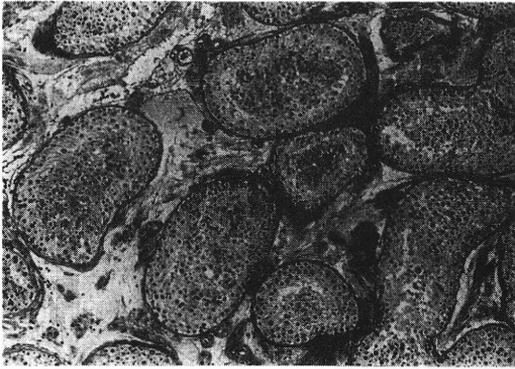


図3 精巣生検

動率80%と精液量の低下と乏精子症が認められた。

これらの結果より精巣間質機能、造精機能の両者の低下が認められたが、その詳細をさらに形態的に検討するべく、患者の同意を得て精巣生検を施行した。精巣の組織像は約30%の精細管が萎縮し、その精細管内にはgerm cell lineの各段階と精子形成が認められたが、成熟系精細胞の配列に乱れが疑われた。また間質組織には光顕像上異常はなかった(図3)。

経過：これらの結果より低ゴナドトロピン性性腺機能不全症と診断し、hCG 5000IU, hMG 150IUを週1回投与した。1997年11月にはfree testosterone 23.0pg/mlと上昇を認め、free T₃ 3.1pg/ml, free T₄ 0.97pg/ml, GH 0.19と正常化した。また身長に変化は認められなかったが体重は73kgと増加し、勃起・射精も認められた。

考 察

今回我々は2例のやせを主訴に発見された男子性腺機能不全症を経験した。そのうち分泌検査所見は神経性食思不振症において報告される検査所見と多くの共通点があり、その関連に興味を持たれた。

神経性食思不振症は若年者に発症し、器質的障害の認められないやせを主症状とする疾患で、17世紀にMortonにより症状の具体的な記載がなされ、1874年Gullによりanorexia nervosaと命名された。本症はこのような疾患概念としての長い歴史をもちながら、思春期の精神、身体の急速な成熟という特性により病状が複雑多彩となり、その病因、病態はいまだ解明されているとはいえない。従ってその診断には表1に示した厚生省神経性食思不振症調査研究班の診断基準が現在使われている。今回我々の経験した症例1は体重や体型についての歪んだ認識が判然とし

表1 神経性食思不振症の診断基準
(厚生省神経性食思不振症調査研究班, 1989年)

1. 標準体重の-20%以上のやせ
2. 食行動の異常(不食, 大食, 隠れ食い, など)
3. 体重や体型について歪んだ認識
(体重増加に対する極端な恐怖など)
4. 発症年齢: 30歳以下
5. (女性ならば)無月経
6. やせの原因と考えられる器質性疾患がない

(備考) 1, 2, 3, 5は既往症を含む(例えば, -20%以上のやせがかつていれば, 現在はそうでなくても基準を満たすとする)。6項目すべてを満たさないものは、疑診例として経過観察する。

ないという点で、症例2は発症年齢が越えている点および体重や体型についての明らかに歪んだ認識がないという2点でこの診断基準を正確には満たしていない。しかし自験例では糖尿病、甲状腺機能亢進症、消耗性疾患などは否定されており、やせと内分泌異常の関係に興味もたれた。また男子神経性食思不振症は全神経性食思不振症の4~10%といわれ、女子例に比べ圧倒的に少ないため十分な検討がなされておらず、とくに性腺機能を含む内分泌学的病態は未解明である。

神経性食思不振症の内分泌学的特徴は視床下部-下垂体系の障害が認められることとされている^{1,4)}。その障害は低栄養、低体重により二次的に起こる可能性が高いとする文献が多いがいまだ明らかではない^{5,6)}。しかし女子においては視床下部からのGn-RHのパルス状分泌が障害されることにより無月経や不妊が起こるとされている^{1,4)}。そのうち分泌検査による特徴としては、下垂体-性腺系の障害によるLH-RH負荷テストでの低反応、下垂体-甲状腺系の障害によるlow T₃症候群、GHの高値などが挙げられている。自験例においてもその原因が神経性食思不振症と同様の機序であるのか、単にやせに続発したものであるのかは解明できなかったが、LH-RH負荷テストでの低反応、low T₃症候群、GHの高値という所見が得られた。やせと性腺機能の関係は未解明なことが多く、自験例でもやせに続発して性腺機能不全が発症したのか、テストステロンの低下の結果やせが起こったのかは不明である。しかしその二者には密接な関係があることが予想される。文献的には男子神経性食思不振症では女子における無月経がlibidoの低下にあたるといわれるが³⁾、今回の経験から男子例でも勃起・射精障害、不妊、二次性徴の欠如などの多彩な性腺機能不全が起こりうると考えられた。ま

た、逆にやせ、低栄養が視床下部に障害を起こすとすれば自験例のようにやせを主訴とする男子患者の中に性腺機能不全が合併している可能性もあり、その治療がやせを含む全身症状の改善にも好影響をもたらす可能性があることが示唆された。

本論文の要旨は第43回日本不妊学会総会(1998年11月、鹿児島市)で発表した。

文 献

- 1) 青野敏博(1995) 神経性食思不振症. 産と婦 62: 83-85
- 2) 新美仁男, 牧野定夫, 佐々木 望(1977) Anorexia nervosaにおけるT₄, T₃, TSH, HGH, TRH, LH-RH負荷試験. ホルモンと臨床 25:657-660
- 3) 小國龍也, 永田俊人, 山城国暉(1993) 間欠的LH-RH持続注入療法が有効であった神経性食思不振症の1男児例. 小児臨床 46:2489-2493
- 4) 興水隆, 大山宣秀, 沼尻志信(1977) 思春期女子神経性食思不振症における内分泌学的検討. 日児誌 81:296-305
- 5) McArthur JW, Loughlin KMO, Beitins IZ, et al. (1976) Endocrine studies during the refeeding of young women with nutritional amenorrhea and infertility. Mayo Clin. Proc. 52:711-716
- 6) Karen M. Henley, Judith L. Vaitukaitis (1985) Hormonal changes associated with changes in body weight. Clin. Obstet. Gynecol. 28: 615-631

(受付: 1999年2月1日)
(受理: 1999年3月5日)

Two Cases of Male Hypogonadism Accompanied by Light Body Weight

Takahiro Kimura, Isao Ikemoto and Yukihiko Ohishi

Department of Urology, Jikei University, School of Medicine,
Tokyo 350-0844, Japan

Yosikatu Tojo and Hironari Sano

The Second Department of Internal Medicine,
Jikei University, School of Medicine, Tokyo 350-0844, Japan

We describe 2 male patients presenting hypogonadotropic hypogonadism accompanied by light body weight and who were suspected of having anorexia nervosa. They were referred our hospital because of their thinness and low heights. Their body weights were indicated as 20% less than their standard body weights. The development of their external genitalia was not complete, and endocrine profiles regarding their gonadal function showed a suppressive condition. We diagnosed them as having hypogonadotropic hypogonadism and performed gonadotropin supplement therapy. As a result, these treatments induced not only the satisfactory recovery of their sexual function but improvement of their systemic impairment (especially the recovery of body weight). Male anorexia nervosa shows various systemic manifestations and is thought to be related to a distorted attitude toward food ingestion. Our cases do not conform completely to the definition of anorexia nervosa, but they have many aspects in common with this disorder. We suggest that male anorexia nervosa is associated with gonadal disorder and that some thin men may have the potential to develop same gonadal disorder.

Key Words : hypogonadotropic hypogonadism, thinness, anorexia nervosa, LH-RH, male.

(Jpn J Fertil Steril 44:193-196 1999)

地方部会講演抄録

第36回日本不妊学会東北支部総会

日時：平成10年10月24日(土)

午後1時～5時30分

場所：杉妻会館(福島市)

1. 精漿中重金属と精液所見の相関

○山田宏子, 片寄治男, 橋本志奈子

柳田 薫, 佐藤 章 (福島医大産婦)

【目的】近年、造精機能の低下などにより精液所見が劣化し、原因として環境因子の影響が指摘されている。我々は体内に取り込まれる重金属と男性不妊との関係に着目し、その精漿中の濃度と精液所見について、さらに喫煙習慣との関連性について検討した。【方法】128例の不妊外来患者から回収された精液を対象に、液化後CASAで精液検査を行ったのち、遠心分離した精漿を測定まで -50°C で冷凍保存した。解凍後Na, K, Ca, Zn, Mgをフレイム原子吸光法で、Pを比色法で、Cu, Cd他計39種の元素をマイクロ波-プラズマ質量分析法で測定した。各種重金属濃度と精液量、精子濃度、運動率、Total Sperm Count (TSC=精液量×精子濃度)の相関を検討した。喫煙習慣については、128例のうちアンケート調査で協力が得られた39例の結果(喫煙年数(a), 1日喫煙本数(b)およびBrinkman指数($a \times b$))と各種重金属濃度との関連を調査した。解析にはANOVAを用いた(Mean \pm SE)。【結果】精子運動率とZn濃度[Zn $< 200\mu\text{g/ml}$ vs $300\mu\text{g/ml} \leq \text{Zn}$: $46.3 \pm 3.0\%$ vs $32.4 \pm 5.6\%$ ($p=0.0300$), $200\mu\text{g/ml} \leq \text{Zn} < 300\mu\text{g/ml}$ vs $300\mu\text{g/ml} \leq \text{Zn}$: $49.1 \pm 4.9\%$ vs $32.4 \pm 5.6\%$ ($p=0.0161$)], Cu濃度[Cu $< 0.15\mu\text{g/ml}$ vs $0.20\mu\text{g/ml} \leq \text{Cu}$: $48.7 \pm 3.1\%$ vs $32.7 \pm 4.9\%$ ($p=0.0057$), $0.15\mu\text{g/ml} \leq \text{Cu} < 0.20\mu\text{g/ml} \leq \text{Cu}$: $48.8 \pm 5.2\%$ vs $32.7 \pm 4.9\%$ ($p=0.0179$)]に有意差を認めた。TSC($\times 10^6$)とCu濃度[Cd $<$ 検出濃度 vs 検出感度 \leq Cd $< 0.010\mu\text{g/ml}$: 483.4 ± 83.8 vs 292.1 ± 37.0 ($p=0.0152$), Cd $<$ 検出感度 vs $0.010\mu\text{g/ml} \leq \text{Cd}$: 483.4 ± 83.8 vs 179.2 ± 40.0 ($p=0.0190$)]に有意差を認めた。喫煙習慣との関連では、Cd濃度とBrinkman指数との間に弱い関連性を認めた。【考察】前立腺液中に多量に含まれる精子機能に必要な元素であるZnは、高濃度では精子運動性の抑制と関連する。またZn濃度の上昇に伴ってメタロチオンンなどのZn結合蛋白の増加が考

えられ、このようなタンパクの影響なども今後検討する必要がある。Cuも高濃度で運動性の低下と関連があり既報告と一致する。Cdは喫煙などにより体内に取り込まれ、造精機能に対して有害に作用している可能性が考えられた。体内の重金属の由来は胎内暴露、摂食や喫煙であり、ライフスタイルの変化が男性因子を増加させている可能性が示唆された。

2. 腎摘出ラットにおける卵巣機能の検討

○笹川五十次, 安達裕一, 館野 正

久保田洋子, 中田瑛浩

(山形医大泌尿)

【目的】ラットに二期的に5/6腎摘出を施行し、手術間隔の精巣機能におよぼす影響を検討した。【方法】Wistar系雄性ラットを用いて、1日(1-day interval群)および7日(7-day interval群)の手術間隔で5/6腎摘出を施行した。【結果】血清クレアチニン、尿素窒素は、1-day interval群が、7-day interval群よりも有意に高値を示した。LHは1-day interval群で有意に低下したが、FSHは有意に増加した。androstenedioneは、1-day interval群で有意に低値示したが、testosteroneは両群とも低値を示した。【結論】二期的5/6腎摘出では、手術間隔が精巣機能に影響をおよぼすことが明らかとなった。

3. 造精障害モデルラットに対するアロプリノールの効果

○熊谷 仁, 熊谷暁子, 児玉英也

福田 淳, 村田昌功, 小松正代

河原和弘, 田中俊誠 (秋田大産婦)

【目的】停留精巣による造精障害過程には、精細胞のapoptosisが深く関与していることが明らかとなっている。当科はこれまでの研究で精細胞の熱ストレス誘発apoptosisに活性酵素が関与している可能性を示唆していた。今回、停留精巣によるapoptosisが活性酵素のscavengerであるallopurinolにより抑制できるか否かについて検討した。【方法】①40日齢ラットの片側精巣を手術にて腹腔内に移動し停留精巣モデルを作成した。術後、allopurinol(50mg/kg)を腹腔内投与を行い、経日的に精巣を摘出し精巣重量の変化、および組織学的検討を行った。②同様の停留精巣モデルを作成し、allopurinolを0, 10, 25, 50, 100mg/kg投与した。術後7日目に精巣を摘出し精巣

重量の変化および組織学的検討を行った。【結果】①停留精巣モデルにおいて、腹腔内精巣の重量は時間依存性に減少したが、その減少はallopurinolの投与により術後5日目以後有意に抑制された。また、allopurinol投与群における精巣組織では明らかに精細胞の死滅が遅延していた。②allopurinol投与量が10mg/kg以上で有意に精巣重量の減少が抑制された。【結論】停留精巣モデルに対するallopurinolの腹腔内投与により精巣重量の減少は抑制され、組織学的にも精細胞死滅の遅延を認めた。以上の結果は、停留精巣および精巣静脈瘤などの熱ストレスによる男性不妊症への、allopurinolの臨床応用の可能性を示すものと考えられる。

4. 当科における精巣生検所見からみた男性不妊の取り扱い

○盛合佳代, 東梅久子, 鹿島正樹
吉崎 陽, 利部輝雄

(岩手医大産婦)

過去2年間に当科不妊外来にて施行した精液検査で乏精子症、高度乏精子症(1×10^6 /ml未満)、無精子症と診断された24名を対象とし、各群の血清中LH、FSH、PRL、T、 E_2 、 P_4 を比較検討した。また18例に経皮的精巣生検を施行し取り扱いを検討した。血清中LH、FSHは無精子症群、高度乏精子症で乏精子症群に比較して有意に上昇していた($p < 0.05$)。PRL、T、 E_2 、 P_4 は有意差がみられなかった。高度乏精子症3例のうち、2例がmaturation arrest、1例がfocal atrophyであった。maturation arrestの2例中1例は精索静脈瘤で手術を施行し自然妊娠が成立した。focal atrophyの1例はICSIを施行したが妊娠不成立であった。無精子症では6例のうち3例に精巣内精子を認め、2例はKlinefelter症候群、時間的理由によりAIDを施行し、1例はTESE-ICSIにて妊娠成立した。以上より精巣生検は治療方針を決定する上で有用である。

5. クラインフェルター症候群におけるY染色体微小欠失の検討

○館野 正, 笹川五十次, 一柳 統
久保田洋子, 中田瑛浩

(山形大泌尿)

【目的】現在、精子形成能に関係していると報告されているAZF(Azoospermia factor)部位のDAZ(Deleted in Azoospermia)とYRRM(Ychromosome ribonucleic acid recognition motif)を含むY染色体微小欠失の存

在が知られている。今回我々は、高度の精子形成不全を持つKlinefelter症候群の場合のY染色体微小欠失について検討した。【方法】DAZとYRRMを含む3Z箇所のY染色体微小欠失部位をKlinefelter症候群患者で精子形成能を持つ者1名、精子形成能を持たないもの20名についてPCR(polymerase chain reaction)法を用いて比較検討した。【結果】Klinefelter症候群においては、精子形成能の有無にかかわらずY染色体微小欠失は認められなかった。以上よりKlinefelter症候群における高度の精子形成不全はY染色体微小欠失によるものではないことが推測された。

6. 17α -hydroxylase欠損患者に対する不妊治療

○野田隆弘, 松崎幸子, 田村充利
村上 節, 深谷孝夫, 矢嶋 聡

(東北大産婦)

先天性副腎過形成の成因のひとつである 17α -hydroxylase欠損症は稀な患者である。今回我々は、 17α -hydroxylase欠損症患者に対する不妊治療を経験したので報告する。本症例は27歳原発生不妊症を主訴に当科初診した。初経年齢は10歳で、月経周期は規則的であったが、18歳頃から不規則となった。当科外来にて血中エストロゲン値の異常低値、プロゲステロン値の異常高値、高血圧を認めた。近医内科にて 17α -hydroxylase欠損症と診断。平成9年4月より、同医にてデキサメタゾン療法を開始し、血圧の正常化、血中プロゲステロン値の低下を認めた。その後不妊治療を開始。平成10年1月より子宮内膜の増値を目的に経皮エストロジオールによるホルモンの補充治療を開始。子宮内膜は低反応であったが、経皮エストロジオールの増量によって分泌期内膜が得られるようになった。また排卵誘発によって排卵可能であることが判明した。

7. 高プロラクチン血症患者における下垂体MRI画像の検討

○土肥 守, 別府高明, 立木 光
鈴木倫保, 小川 彰

(岩手医大脳神経外)

東海久子, 吉崎 陽

(岩手医大産婦)

高プロラクチン血症を呈した不妊症患者に対して1.5TR MRIを施行し、その特徴について検討した。対象は、当院産婦人科外来通院中で、高プロラクチン血症を認め、プロラクチンに影響する薬剤の投与を受けていない52例である。高プロラクチン血症

は、基礎値で血中PRL値が20ng/ml以上、または月経周期day3～5の朝8:30～10:00までに採血し、TRH負荷試験にて最高値が100ng/ml以上のものとした。同時にLH-RH負荷試験も施行し、LH、FSHも測定した。下垂体のMRI信号は、灰白質よりもやや高信号であり、機能性下垂体腺腫と類似していた。PRLの基礎値と下垂体の体積には相関が認められ、PRLの最大値・LH/FSH比各々と下垂体体積、LH/FSH比とpeak LH値の間にも弱い相関が認められた。調査期間中に、PRL産生性下垂体腺腫1例、empty sellae症候群1例が発見された。

8. 当科におけるPOFの管理

○坂元知巳、藤井俊策、斎藤良治

(弘前大産婦)

過去10年間に当科でPOFと診断した21症例につき検討を加えた。21例中7例で排卵が認められ、そのうち1例で妊娠・分娩となった。21例中12例でLaparoscopyを施行したが、そのうち組織所見で卵胞が認められたものは1例のみであった。しかしながら、この症例は種々の排卵誘発治療に抵抗性であった。卵胞を認めなかった10例のうち4例で排卵が認められ、この中から妊娠例が1例認められた。また、手術を施行したものの高度の骨盤内の癒着のため内性器を確認できなかった1例と、施行しなかった2例で排卵が認められた。妊娠例を含む排卵誘発が奏功した7例に関し、その治療経過の詳細を報告した。これらの症例に関し、排卵誘発方法を比較検討したが、共通して有効と思われる方法はなく、個々の症例に応じた排卵誘発が必要と思われた。

9. GnRHアゴニストが顆粒膜細胞におよぼす影響

○金子智子、戸屋真由実、吉田雅人
高橋俊文、太田信彦、伊藤真理子
斎藤隆和、中原健次、斎藤英和
廣井正彦

(山形大産婦)

【目的】アポトーシスは胚発生、生体制御等に重要な役割を果たし、その異常は多くの疾病の原因になるといわれている。GnRHaの濃度が顆粒膜細胞に与える影響について、ブタおよびヒトの顆粒膜細胞のアポトーシス出現率(IA)を中心に検討した。【方法】生後6カ月のブタ卵巣の卵胞を吸引し、また当科にてIVF-ETを行った患者8人を対象として採卵を行い顆粒膜細胞を採取し実験に供した。培養液中にGnRHa

を5～5000pg/ml添加し24時間細胞を培養し、培養後細胞を固定、Hoechst33258にて染色後、蛍光顕微鏡にてIAをカウントした。培養液中のE₂、T、P、の測定も行った。【成績】ブタおよびヒトのIAはGnRHアゴニストの濃度の上昇に従い有意差を持って増加した。培養液中のE₂、T、Pは各群間に有意差を認めなかった。【結論】現在臨床的に使用されているGnRHa濃度はIAを有意に上昇させた事より、今後GnRHaの使用に際し再検討が必要である事が示唆された。

10. 当科における不妊相談外来の現況

○東海久子、鹿島正樹、盛合佳代

吉崎 陽、利部輝雄

(岩手医大産婦)

少子化対策として岩手県の補助を得て平成9年12月に岩手医科大学内に高度不妊治療センターが開設された。不妊相談外来は産婦人科外来から独立した不妊相談室で行い、予約制、過3回、夫婦での受診を原則とし、1組30分、1日4組までに行っている。相談は不妊症全般に応じるほか初診患者全例に当科の検査・治療方針をパンフレットを用いて説明している。開設から10カ月間の不妊外来初診患者数は287名(女性177名、男性110名)、不妊相談外来受診件数は373件で平均年齢は妻32.9歳、夫34.5歳、平均不妊期間は5.7±5年であった。受診の目的は治療希望79例(49%)、検査希望19例(12%)、相談のみ希望36例(22%)。うち120例(74%)が治療歴を有し38例(32%)が適応があれば体外受精を希望するとしていた。不妊相談外来はインフォームド・コンセントを得ながら不妊症の検査、治療を施行する上で有用である。

11. 低分子抗酸化物質の精子機能に対する効果(第2報)

○富永国比古、金田寺子

(ロマリンドクリニック)

乾 裕昭、佐藤幸枝、吉田順子

(乾マタニティークリニック)

林 正幸

(福島医大看護)

丹羽朝負

(丹羽免疫研究所)

WHOの診断基準を満たす男子不妊患者16名に対し、すでにアトピー性皮膚炎、膠原病などに効果が認められている低分子抗酸化物質(SOD-NIWANA)を1日30グラム投与した。baseline periodは1～2カ月間とし、この間に、治療前の精子検査を2回施行した。その後、4カ月間低分子抗酸化物質を服用させた。after treatmentの精子検査は毎月1回計4回施行

し、その平均値をもってafter treatmentの精子検査の総合評価とした。また、コントロールとして、同意が得られたAIH実施中の患者9名を選んだ。サンプルはbaseline periodに2回、観察期間に2回採取し、それぞれの平均値を比較した。結果は、総精子数、精子運動率、SMIがそれぞれ38% (P=0.011)、38.5% (P=0.004)、and 43.6% (P=0.006)の増加がみられた。一方、コントロールグループは統計学的に有意の変化は認められなかった。

12. 円形精子細胞注入卵の活性化, Ca²⁺ oscillation発現について

○矢澤浩之, 柳田 薫, 近内勝幸
阿久津英憲, 木村康之, 伊藤正信
佐藤 章

(福島医大産婦)

【目的】種々の実験動物およびヒトの精子細胞注入卵の活性化, Caオシレーションの発現に関して検討した。【方法】動物の精子細胞は精巣組織を細切して採取し、ヒト精子細胞はTESEの際に患者の同意を得て一部を実験に供した。円形(ROS), 核伸張化精子細胞(ELS)をマウス(BDF1)卵に顕微注入した。【成績】マウス, ラットのROS注入卵の活性化率は、0%, ELS注入卵では、92%, 48%と増加した。ハムスター, ウサギ, ヒトのROS注入卵の活性化率は、74%, 68%, 64%で、ROSの核のみの注入では、14%, 0%, 21%と著明に低下した。Caオシレーションは、ハムスターのROS, ELS注入により、7%, 75%に認められ、ウサギでは50%, 100%に認められた。【結論】ROSの卵活性化能は種により異なるが、ELSでは全ての種において活性化能を有していた。また、ROSの活性化因子は細胞質内に分布していることが示唆された。

13. 胞胚期胚移植の治療成績

○藤井俊策, 坂本知巳, 斎藤良治

(弘前大産婦)

着床の可能性が高い胚を選別できる胞胚期胚移植を試みた。媒精後3日間は10% SSS-HTFMで培養し、3日目に5mg/ml HSA-D3+HTFMに移し、月曜日に採卵した場合は4日目に、火・金曜日に採卵した場合は6日目に、それぞれ胚移植を施行した。移植当り妊娠率ならびに移植胚当り着床率は、4日目移植の場合、16細胞期胚では39.3% (11/28)ならびに21.5% (14/65), 8細胞期胚以下では10.0% (1/10)ならびに4.5% (1/22)であった。5日目に桑実期胚を移植した

場合には妊娠は成立しなかった(0/8)。6日目の移植の場合、拡張胞胚では20.0% (6/30)ならびに19.1% (9/47), 早期胞胚では15.4% (2/13)ならびに11.1% (3/27), 桑実期胚以下では妊娠が成立しなかった。また、4日目以降の着床胚では急速な透明帯のthinningが認められ、それが不十分な胚は着床が成立しなかった。

14. 内膜の増殖遅延を示した症例に対する解凍胚移植について

○福田 淳, 児玉英也, 村田昌功
小松正代, 熊谷 仁, 熊谷暁子
河村和弘, 田中俊誠 (秋田大産婦)

【目的】体外受精胚移植の過排卵誘発において、卵胞発育は正常にみられるが、内膜の増殖が著しく遅延する症例が、非常に稀ではあるが存在する。これらの症例に対する人工周期を用いた解凍胚移植法の有用性について検討することを目的とした。【方法】①hCG切替時の子宮内膜の厚さとE₂を測定し得た68周期について子宮内膜の厚さと採卵数ならびにE₂濃度について単回帰分析を行った。妊娠の有無と子宮内膜の厚さについてもstudent-t検査を用いて有意差検定を施行した。②調査期間以降、内膜が6mm以下であった3症例に対して、全受精卵を凍結保存し、翌周期に外因性のエストロゲンとプロゲステロンで人工的に調節された子宮内膜に解凍胚移植を施行した。【成績】①内膜の厚さは大部分が9~18mmに分布したが、5例において著しい内膜増殖遅延(6mm以下)が認められた。内膜の厚さと採卵数(R=0.06), E₂(R=0.05)との間に有意の相関は認められなかった。また、子宮内膜が9mm以上ある症例では、妊娠の有無と子宮内膜の厚さとの間にも有意な相関は認められなかった(妊娠有; 1.30±0.28mm, 妊娠無; 1.35±0.36mm)。しかし、内膜増殖遅延を示した5症例では、採卵数, E₂とも正常範囲であったにもかかわらず妊娠は成立しなかった。②内膜が6mm以下であった3症例に対し、人工周期による解凍胚移植を施行し、1症例で妊娠が成立した。【結論】①過排卵処置後、卵胞発育とE₂レベルが正常であるにもかかわらず、著しい内膜増殖遅延を示す症例が存在する。②内膜が6mm以下の症例では明らかに着床が障害される。③それらの症例においても成熟卵が採取される可能性があり、人工周期を用いた解凍胚移植法での妊娠成立が期待できる、ことを明らかにした。

15. 冷蔵・凍結による精子保存の検討

○松尾優子, 千葉せつよ, 門間克子
針尾光夫, 京野廣一
(レディースクリニック京野)

【目的】冷蔵・凍結などの精子保存はARTに不可欠であるが、蘇生率に問題がある。蘇生率の面から見て、どのような方法が良いかを検討した。【方法】①精子CO₂インキュベーター内 ②精液(4℃, 冷蔵) ③精液(冷蔵用保護剤を加え4℃保存) ④精液(凍結保護剤を加え, 直ちに保存) ⑤精液(凍結保護剤を加え一晚冷蔵後凍結) ⑥精液(冷蔵保護剤添加後一晚冷蔵, 凍結保護剤添加後凍結) ①②は連日, ③～⑥は冷蔵・凍結前と1週間後の運動率を測定。【結果】1週間後の運動率は①②では0%で, 運動蘇生率は④が最も良く, ついで⑤⑥③の順であった。【結論】長期に凍結保存する場合は④⑤⑥の方法が必要であり, 短期間の保存には③も使用可能と考えられた。

特別講演 I

環境ホルモンと卵・初期胚

堤 治(東京大学医学部産婦人科学教室)

内分泌攪乱物質による健康被害が危惧されているが、ヒトにおいてはその直接的影響は未解明な点が多い。比較的研究の進んだダイオキシンは極めて有毒のみならず、微量でも細胞内の特異的レセプター(AhR)に結合してエストロゲン作用ないし抗エストロゲン作用を示し、女性生殖機能への作用が注目される。サルを用いた実験では微量(126pg/kg/day)で子宮内膜症の病因となりうるとされ、胎盤を通過し催奇形を有することも報告された。母乳中に高濃度に含有された乳児の曝露は100pg/kg/dayと大きい問題もある。最近我々はヒトにおける汚染の程度およびその影響を明らかにするため、各種体液中のダイオキシン濃度を測定したところヒト卵胞液中にもダイオキシンが検出された。初期胚発育への影響をマウス胚を用いて検討すると、1~5pMで発育を抑制した。卵・初期胚のダイオキシン感受性は高いと考えられる。卵・初期胚にはAhRもエストロゲンレセプター α , β ともに発現し、その作用機構が注目される。

特別講演 II

精子と染色体異常

上口勇次郎(旭川医科大学医学部生物学教室)

流産児や新生児にみられる構造的染色体異常の多くは父親(精子)由来である。そこで、我々はハムスター卵への異種間体外受精を応用したヒト精子染色体分析法を開発し、精子染色体異常の原因を調査してきた。その結果、(1)日本人一般男性の精子における構造的染色体異常の頻度は意外に高く(14%)、著しい個人差(4~25%)がみられる、(2)放射線や化学物質(抗癌剤など)は精子染色体に高頻度の構造異常を誘発する、(3)一部の化学物質は肝細胞の酵素によって代謝された後に異常を誘発する、(4)形態異常精子では染色体異常頻度が高い、(5)パーコール法によってある程度染色体異常精子の選り分けができる、(6)雌性前核の発達遅延は精子由来ゲノムの染色体異常の原因になる、などのことが明らかとなった。最近、精子染色体着色法、精子核FISH法、2細胞胚微小核テスト、ICSI精子の染色体分析などの新技術が導入され、この分野の研究は新しい展開をみせている。

第43回日本不妊学会九州支部会

日時：平成10年11月22日(日)

午前9時~11時

会場：第一ホテル大分(大分市)

1. IVF-ET周期におけるhMG投与開始日の血中FSH, LH, E₂測定とその意義

○松井尚彦, 川崎史子, 川野康志,
榎原久司, 宮川勇生

(大分医大産婦)

【目的】対外受精・胚移植(IVF-ET)周期においてhMG投与開始日の血中FSH, LH, E₂を測定し、妊娠への影響を検討した。【方法】対象は平成10年1月から7月までにIVF-ETを施行した28例とした。前周期の高温相7日目よりGnRHa 900 μ g/dayを連日投与し、月経周期の3日目よりhMG投与を行い、最大卵胞の平均径が18mmに達したらhCG投与、36時間後に採卵した。この周期のhMG投与開始日に血中FSH, LH, E₂を測定した。【成績・結論】28例中9例(32.1%)が妊娠し、19例が妊娠しなかった。妊娠群と非妊娠群のFSH, LH, E₂の平均値は、妊娠群がそれぞれ

6.3mIU/ml, 4mIU/ml, 21.9pg/ml, 非妊娠群が7.5mIU/ml, 8mIU/ml, 53.4pg/mlであり, FHSとLHは両群間に差を認めなかったが, E₂は妊娠群が非妊娠群に比べて有意に低値であった。これらの結果は, hMG投与開始時のGnRHaの抑制効果および2次卵胞数が, 妊娠へ影響をおよぼす可能性を示唆した。

2. IVF-ET待機中に妊娠成立した症例の検討

○岩政 仁, 松浦講平, 小野田 親
永田康志, 本田律生, 田中信幸
岡村 均 (熊本大産婦)

平成7年1月1日から平成9年12月31日までにIVF-ETを施行した283例の中で治療待機中に妊娠成立し拳児を得た5症例について検討を行った。5症例の妊娠成立はいずれも自然周期妊娠であった。その適応は男性因子が1症例, 子宮内膜症が1症例, 卵管因子が3症例であった。男性因子の程度は軽度で, 最終IVF-ETの約6カ月後に妊娠が成立した。子宮内膜症症例はr-AFS 1期(4点)で, 最終IVF-ETの次周期に妊娠成立が認められた。卵管因子の3症例はいずれも卵管周期癒着を有する症例で最終IVF-ET後の次周期が1例, 2周期後が2症例と治療後短期間で妊娠が成立している。5症例の妊娠予後はいずれも正産期であった。結論: IVF-ET待機中の妊娠率は283例中5症例(1.8%)と低いが, 卵管因子および子宮内膜症症例においてはIVF-ETが骨盤内の環境を改善する可能性が考えられた。

3. ヒト胚培養において培養液の組成の差が胚発育におよぼす影響について

○牛島千秋, 広津留恵子, 宇都宮隆史
(セント・ルカ産婦研究)

【目的】ヒト体外受精・胚移植のために使用される培養液にはさまざまなものが試みられているが, 未だ最良と思われるものは確率されていない。今回われわれは市販のHTFと当院作製HTF, および α -MEMについて胚発育におよぼす影響を比較検討した。【方法】胚移植後の余剰胚(発育不良胚), 異常受精卵を患者の同意のもとに使用した。受精後3日目の胚をそれぞれの培養液に移し, 経過観察を行った。培養液には10%血清を添加した。【結果】発育不良胚の胚盤胞発生率は, 市販HTFで27.0%(10/37), 当院作製HTFで27.7%(13/47) α -MAMで55.6%(10/18)と α -MAMが有意に高かった。また異常受精卵の胚盤胞発生率は22.6%(12/53)だった。【考察】移植時に発育不良胚と判定しても32.4%(33/102)が胚盤胞まで成

長したことから, 従来の胚移植日における胚の質の判定には限界があることが示唆された。また胚盤胞まで培養する培養液としては α -MAMが有効であると思われた。

4. 動物実験モデルを用いた術後癒着に関する基礎的検討

○岩本英熙, 藤下 晃, 北島道夫
宮村泰豪, 中島久良, 石丸忠之
(長崎大産婦)

術後癒着は, 妊孕性温存を目的とした手術後に付属器周囲の癒着をきたし, 不妊症の原因にもつながる重要な課題の1つである。現在, さまざまな癒着防止対策が試みられているが, いまだ完璧な癒着防止が確立されているわけではない。今回, 私どもはNew Zealand White rabbitを用いて, 癒着をいかに確実に発生させることができるかを検討した。周齡3~4カ月(体重2.5~3.5Kg)のウサギを用い, 左右の子宮角に人工的な擦過群(金網ブラシVS電動器)とメスによる切開, 縫合群で検討した。さらに外科的損傷部位にヨードチンキ, アンモニア水, 10%および50%の塩酸および硫酸を3分, 5分, 7分間塗布させた後, 1週間後に再開腹して癒着の状態を評価した。その結果, 子宮をメスで切開, 縫合した後に10%塩酸を5分以上塗布する方法がもっとも強い癒着を認めた。

5. 精液中secretory leukocyte protease inhibitorと精子機能

○浦田憲一郎, 田中雄一郎, 有馬和代
植原久司, 宮川勇生
(大分医大産婦)

【目的】精液中のinterleukin-8(IL-8), 顆粒球エラストラーゼ(GE), GEのinhibitorであるsecretory leukocyte protease inhibitor(SLPI)の精子機能にもたらす影響について検討した。【方法】*in vitro*において正常精液にIL-8, GE, SLPIを直接添加し, SMIの変化をSQA II bで測定した。【結果】IL-8による精子への直接作用ではcontrol群に比べいずれの濃度のIL-8添加群にも有意な運動率の低下は認めなかった。GEを添加し, SMIの経時的変化をみると, control群に比べ, GE添加群では濃度依存性に精子運動率が低下した($p < 0.01$)。つぎにSLPIをGEに同時添加したところ精子運動率抑制作用が有意に解除された($p < 0.01$)。【結論】精液中にはGEに対するinhibitorであるSLPIが存在し, GEの作用を抑制することにより精子機能の

調節に重要な役割を担っていることが示唆された。

6. Strict criteriaによる精子正常形態評価のIVFにおける媒精法への有用性

○高野陽子, Paul E. Kihale, 広津留恵子
宇都宮隆史 (セント・ルカ産婦研究)

【目的】 strict criteria正常形態率がICSI施行可否かの判断基準として有効であるかを検討した。【対象と方法】 97年12月から98年8月までに体外受精を施行した250症例373周期(凍結および射出以外により精子を採取した例, 凍結卵のET施行例を除く)のうち, conventional-IVFとICSIを同時に施行した10例を対象とした。【結果】 WHO基準に基づく精液検査所見は, 濃度 $93.3 \pm 29.9 \times 10^6$ /ml, 運動率 $39.1 \pm 12.6\%$, 正常形態率 $46.9 \pm 8.8\%$ でありstrict criteria正常形態率は $6.2 \pm 3.3\%$ であった。受精率に関して, conventional-IVF施行群は $38.5 \pm 33.8\%$ であったのに対し, ICSI施行群は $84.7 \pm 22.0\%$ であり, 10例中7例において前者施行による受精率が50%未満だった。【結論】 WHO基準の精液検査所見ではconventionalでよいと思われる症例でも, strict criteria正常形態率が低値の場合はsplit cyclesとし慎重に扱う必要性が示唆された。

7. Partial Zona Dissection (PZD)によるAssisted hatchingの有効性についての検討

○佐藤真紀, 長木美幸, 広津留恵子
宇都宮隆史 (セント・ルカ産婦研究)

【目的】 IVF-ET反復無効症例に対してAssisted hatching(以下AHA)が有効とされている。AHAの方法としてPartial Zona Dissection(以下PZD)を施行後追加培養し, その媒養経過を検討した。【対象】 1998.5.25~8.31に患者の同意のもとにPZDを施行後, 胚移植を行わなかった余剰胚の2~8細胞期胚18個について行った。同時期に培養した2PN群の胚をコントロール群とした。【方法】 PZD施行後HTFでday7まで培養し胚盤胞発生率胚の完全脱出率を検討した。【結果】 胚盤胞発生率および胚の完全脱出率はPZD群で 66.7% (7/18)および 38.9% (23/84), コントロール群で 27.3% (23/84)および 2.4% (2/84)でありPZD群で有意($p < 0.001$)に高かった。【考察】 PZDによるAHAは胚のhatchingを促進させるのに有効であるといえる。

8. 脊椎損傷患者における顕微授精法の応用

○沖 利通, 丸太邦徳, 中村佐知子
山崎英樹, 中江光博, 桑波田理樹
堂地 勉, 永田行博

(鹿児島大産婦)

症例は夫35才, 妻33才である。妻29才で結婚したが, 夫は18才時にプールの飛び込みで脊椎損傷となり射精障害を認めた。挙児希望があり当院泌尿器科で保存療法を行ったが, 効果無くARTの適応で98年5月, 当科へ紹介となる。7月16日, 泌尿器科で人工精液造設術施行。TESEおよびMESAからえられた凍結精子と精液瘤の経皮的穿刺で回収した凍結精子と採卵日に回収した精液瘤精子の合計4種類の精子を準備し, 所見の良かった当日回収精液瘤精子を用いて, 合計25個にICSIを行い, ICSI4回分の精子を凍結保存することができた。ICSI施行18時間後には, 20個に正常な受精を確認できたため, 4個はそのまま胚移植用に追加培養し, その他の胚は冷凍保存した。翌日, 4細胞期胚3個を子宮内に移植した。1回の精子回収で複数回の受精チャンスが得られる凍結保存と数匹の精子で受精可能なICSIの組合せは, 脊椎損傷患者に大きな福音となる。

9. 不妊治療により妊娠に至った患者への日常生活に関する質問紙調査

○實崎美奈, 指山実千代, 宇都宮隆史
(セント・ルカ産婦看護)

【目的】 不妊治療を専門としている当院で, 妊娠に至り治療を終えた患者に対し, 治療中の日常生活等についてのアンケート調査を施行したので報告する。【対象と方法】 1997年12月13日より1998年8月31日までの間に他院へ紹介となった挙児希望患者149名に対し, 記述式によるアンケート調査を行った。【結果】 全体の回収率は 38.9% (ART患者では 43.6% , ART以外の患者では 36.2%)であり, 日常生活においては, 仕事や趣味など活動的に過ごしたとの回答が多く, 精神的な面では気分転換やリラクセスを心掛けたとの回答が多かった。回答の文中には夫, 医療スタッフ, 友人の順で支えとなっている様子がうかがえた。【考察】 精神的な安定を図ることが, 患者が不妊治療を受ける上で最も有用であると考えられ, 当院において行われている様々な患者サポートは功を奏していることがART患者の回答から示唆された。

10. 不妊症患者の「悩み」について質問紙調査による検討

○渡辺利香, 倉橋千鶴美, 指山実千代
宇都宮隆史

(セント・ルカ産婦看護)

青木一雄, 三角順一

(大分医大公衆衛生)

【目的】「どれほど不妊に悩んでいるのか」患者さんの本音を知る。【対象】1997年8月から10月の間に当院に来院した患者354名に質問紙による調査【結果】子供が欲しいと願う患者さんに「子供が欲しい」といつ頃から思うようになりましたか」と問うと37%が結婚してすぐ、28.8%が結婚前からと答えた。自分の意志から治療を始めたのは86.2%となり、14.7%が夫の勧めであった。不妊治療において夫の存在は大きく94.6%が夫とのコミュニケーションはうまくいっていると答えた。しかし、少数ではあるが不妊が原因で離婚を考えた事のある夫婦も存在した。夫以外の治療の相談相手として不妊治療の経験のある友人が49.2%となった。74.9%は夫婦で治療の終りを考えた事があると答え、さらに、約半数は養子やAID・子供のいない生活を考えていた。【結論】不妊治療は女性側にのみでなく夫婦一緒に身体的・精神的ケアをしていくことが望ましい。

11. GnRHアナログ使用中に脳梗塞を起こした子宮腺筋症の一例

○丸岡慶子, 稲津哲子, 古恵良恵子
緒方りか, 野崎雅裕, 中野仁雄

(九州大産婦)

症例は43歳, 経妊7回経産3回, 平成7年に高血圧, 糖尿病を指摘され、9月より糖尿病の治療のため当院内科に入院していた。月経痛の増強を主訴に当科外来を紹介受診し、子宮腺筋症の診断を受けた。同年10月より酢酸リュープロレリン皮下注を開始したが、更年期障害様症状が高度であったため、12月より酢酸ブセレリン点鼻に変更した。平成9年3月2日、内科入院中に左中大脳動脈領域に脳梗塞を起こして、グリセリンとオザグレルナトリウムにて加療したが、3月9日には左前頭葉に脳出血を併発したため、オザグレルナトリウムは中止した。現在、ブセレリンは中止している。本症例は比較的若年である。高血圧, 糖尿病に関しては他臓器の障害も軽度でコントロール良好であるにもかかわらず脳梗塞をおこしており、GnRHアナログが何ら

かの影響をおよぼした可能性も否定できないため、文献的考察を加えて報告する。

12. 大学新入生の月経異常に関する検討

○嶋田貴子, 河野雅洋, 中村恒一

石丸忠之

(長崎大産婦)

大坪敬子, 石井伸子

(長崎大保健管理センター)

【目的】大学新入生には受験勉強や生活環境の変化などによるストレスが多く、月経異常の頻度も高いと推察される。そこで、大学新入生における月経異常の頻度を明らかにすることを目的とした。【対象および方法】平成8年度および9年度の当大学へ入学した女子学生1339名を対象とし、入学時にアンケート調査を行い、必要と思われる学生については精査を施行した。【結果】アンケート回収可能は1331名(99.4%)であった。その結果は、頻発月経79名(5.9%)、希発月経49名(3.7%)、無月経28名(2.1%)、過短月経1名(0.1%)、過長月経56名(4.2%)、月経時鎮痛剤使用533名(40.0%)などであった。無月経はすべて続発性無月経であり、その内訳は、多嚢胞性卵巣症候群13名、視床下部性無月経10名、体重減少性無月経4名および高プロラクチン血症1名であり、ストレスが原因と考えられる視床下部性無月経とほぼ同じ頻度で多嚢胞性卵巣症候群がみられた。

第119回日本不妊学会関東地方部会

日時：平成11年2月6日(土)

午後1時30分～5時40分

場所：ツムラ本社ビル 大ホール(東京都)

1. 卵管鏡下卵管形成後の卵管内繊維性癒着の経過—second look falloposcopyによる検討—

○吉山礼子, 末岡 浩, 松田紀子

土屋慎一, 鈴木雅美, 大澤淑子

小澤伸晃, 久慈直昭, 吉村泰典

(慶應大産婦)

卵管不妊の原因に対する治療法として、卵管鏡下卵管形成術(以下FTと略)が有効な治療法として位置づけられつつある。FT治療後には、術後に子宮卵管造影や子宮鏡下選択的卵管通水を施行し、再度閉塞を生じていた卵管に対して、本法による治療を反復して施行した。反復FTを施行した際の内腔所見と比較することにより、とくに繊維性癒着の経過につい

て検討した。FT初回治療後では色調は白色を呈し、ひだの硬化や平坦化して微細な叢状の繊維からなる陳旧性の線維性癒着像を認めた。反復治療時には淡桃色となり、卵管ひだの硬化・平坦化は呈しているものの繊維性組織の遺残は消失しており血液循環の回復が示唆された。また再治療時の内腔所見では閉塞箇所を減少を認め、反復例でも治療の意義は高いことを示した。初回FTの癒着剥離によって内腔面の循環改善が得られ、性周期における内膜の新生により繊維性癒着癒痕の消失による生殖環境の改善が示唆された。

2. 新しい卵管内圧測定法の開発

一卵管内圧モニタリングは不妊治療に有効か—

○貝原賢二, 三並伸二, 斉藤 恵

平田昌二, 関谷隆夫, 竹下俊行

可世木久幸, 石原楷輔, 荒木 勤

(日本医科大産婦)

【目的】新しい卵管内圧測定法を開発した。この方法で卵管通水圧(内圧)を測定し卵管の配偶子輸送能力の詳細な評価を行った。【方法】子宮鏡ガイド下に、卵管内にカテーテルを挿入。10%イジゴカルミン添加生理的食塩水を1 ml/minでカテーテル内に注入、注入中の通水圧を測定。限界圧を300mmHgに設定、注入時の卵管を腹腔鏡で観察。対象は不妊症4症例8卵管とし、計12回測定した。【結果】通過性良好卵管の通水圧パターンは二つのピークを形成し圧が最高値に達した後低下し最終的に一定値に収まった。第一ピークで色素液が卵管内に充滿し第二ピークで色素液が卵管采から流出した。通過性不良卵管では卵管采から色素液流出の前後にピークは認められなかった。閉塞卵管は限界圧まで通水圧は上昇した。【結論】圧パターンの分類により客観的に疏通性を評価できた。この方法は卵管の配偶子輸送能力を診断するのに有効である。

3. 進行子宮内膜症を有する不妊症に対する腹腔鏡下手術の妊娠成立からみた効果

○許山浩司, 江崎 敬, 大浦訓章

松本和紀, 田中忠夫

(東京慈恵会医科大産婦)

楠原浩二(楠原レディースクリニック)

小田原 靖 (ウイメンズクリニック)

【目的】腹腔鏡下手術(以下LPRと略す)を施行した不妊症合併進行子宮内膜症例の術後の妊娠成立より見た予後をretrospectiveに分析し、どのような症例に

LPRが有効であるか検討した。【対象】LPRを施行した挙児希望のある進行子宮内膜症で6カ月以上経過観察可能であった27症例。症例の平均年齢、不妊期間、進行期は31.6歳、3.3年、r-AFSⅢ期19例、Ⅳ期8例であった。【方法】術後6カ月の待機療法で妊娠した症例を妊娠群とし非妊娠群と患者背景、腹腔内所見を比較した。【結果】待機療法により9症例が妊娠し(妊娠率33.3%)、妊娠群では、両側の卵管通過性が良好な症例が8例、卵管周囲癒着のない症例が7例で両側の卵管周囲癒着のあった症例は認めなかった。また患者背景、卵巣癒着、チョコレート嚢胞の有無は非妊娠群と差は認めなかった。【結論】進行子宮内膜症で両側卵管が正常である症例に対しLPRは有効であると思われた。

4. 子宮内膜症に対する腹腔鏡下手術後のIVF症例の検討

—とくに頻回IVF症例について—

○小嶋 清, 中島潤子, 鈴木圭子

羽生久美子, 大庭三紀子 (小嶋医院)

兼子 智

(東京歯科大市川総合病院産婦)

明楽重夫

(日本医科大産婦)

【目的】IVF-ETが近年、多医療機関で普及するにつれ、機器もすぐれたものが開発され、IVF-ET技術もパターン化され、スタッフも少人数で容易に施行されるようになった。しかしながら、IVFリピーター患者に関しては、ますます増加の傾向にあり、採卵率、卵分割率においては問題がある。【方法】子宮内膜症が原因と考えられるIVFにて妊娠成立をみなかった9症例について、子宮内膜症に対する腹腔鏡治療を施行した。治療はLH-RH-Aを併用した。治療前後の採卵時間・採卵時出血、麻酔薬の量、採卵時における卵子の質、培養状況、分割率、分割卵の質、ET時における状況などを比較検討した。【結果・考察】結果については学会内で発表のため省略する。子宮内膜症を伴った不妊症患者は今後ますます増加することが予想され、その症状などによる(無症状にて腹腔内の癒着、卵巣のう腫化することが多い)増悪により、IVFタイミングの時期が後手に回ることによりIVFリピート回数が増えることは患者本人にとっても医療側にも労力の損失と費用のムダ(病院側にとっては良いのかもしれないが、今後、IVF回数の増加によりディスカウントも考えなければならぬ。)と思われる。早めの子宮内膜症治療タイミングを考え、条件を整えてIVF施行にむかうことが

得策と考える。

5. MS管を用いた精子回収法の有用性の検討

○菊池 盤, 武内裕之, 佐藤雄一
中野義宏, 桑原慶紀

(順天堂大学産婦)

【目的】MS管は内外筒からなるガラス管で、運動良好精子が外筒をswim upし、内筒へswim downすることを応用した精子回収法である。【方法】不妊外来で精液検査を行った49例について、MS管の内筒を上層、中層、下層の3層にわけ、精子回収率および精漿除去の状況をswim up法と比較した。【結果】精子回収率に関しては、MS管の下層はswim up法とほぼ同等で、MS管における上層、中層、下層の回収精子数は下へ行くほど増加する傾向が認められた。運動率に関しては、swim up法、MS管の各層とも原精液の性状によらず改善する傾向が認められた。運動率、回収精子数ではやや劣るものの、MS管の上層では精漿の除去が良好で背景のきれいな精子所見が得られた。【結論】MS管では下層においては精子回収率が高く、上層では精漿の除去が良好である、1回の操作で異なった性状の精子回収が得られることが示唆された。

6. プロゲステロンのヒト精子hyperactivationに対する効果

○大田昌治, 永井聖一郎, 水野薫子
小川恵吾, 笠井 剛, 平田修司
星 和彦 (山梨医科大学産婦)

プロゲステロンは精子細胞膜の受容体を介してhyperactivationに関与することが示唆されているが、その機序は明確ではない。そこで我々は、hyperactivationに対するプロゲステロンの効果を検討した。運動良好精子をプロゲステロン1, 10, 100nM, 1 μ Mを含むmBWWで培養し、30分後のhyperactivated spermを計測した。精液は総てWHOの判定基準を満たすものを実験に使用した。HyperactivationはBurkmanの定義に従い判定した。プロゲステロンは含まない時のコントロール21.1%に対して、100nMのプロゲステロンでhyperactivated spermが31.8%, 1 μ Mで32.1%と有意に増加した。卵の周囲には数 μ Mのプロゲステロンが存在することが予想され、卵管内でhyperactivationが十分に促進されていることが考えられた。

7. 人工授精により妊娠した逆行性射精の一例

○菅原一朗, 栗林 靖, 斎藤 要
房間茂由, 平井邦彦, 村井邦彦
石塚文平, 雨宮 章
(聖マリアンナ医科大産婦)
松下和彦, 馬場克幸, 岩本晃明
(聖マリアンナ医科大泌尿)

症例は、妻32歳、夫39歳の不妊症カップルで、0経妊0経産で、既往歴、家族歴、特記すべきことなし。平成8年2月当院泌尿器科を受診し部分型逆行性射精と診断されたため、膀胱内より精子を回収し、Hotchkissらの報告に準じAIHをおこなった。9回目までは、通常に、Percoll-AIHを施行しましたが、妊娠せず、Hydration-Percoll-AIH 5回目に妊娠し、妊娠40週4日に、正常分娩にて2638gの女児を出産、母児共に健康である。1971年～1998年に、本邦の文献および学会抄録より、妊娠例を55例認めた。今回我々は、Hydration-Percoll-AIHによる逆行性射精の妊娠例を経験した。

8. 当科における男性不妊症の治療成績に関する検討

○伊東宗毅, 林 直樹, 田谷順子
斎藤正博, 石原 理, 木下勝之
(埼玉医科大総合医療センター産婦)

男性不妊症例の中には、従来治療の極めて困難な例が多かったが、ICSIの導入により治療成績は著しく向上した。そこで、当科においてICSIによる治療が軌道に乗り、治療予後の判定が十分可能になったと考えられる1996年初診症例における男性不妊症例を検討した。不妊症例427例のうち男性不妊は147例(34%)あり、うち103例(70%)は乏精子症であった。このうち70例(48%)が妊娠した。ICSI施行例は26例あり、1998年12月までに19例(73%)が妊娠した。妊娠未成立例は77例で、このうち19例は現在治療継続中である。残りの60例は途中で自己中止しており、精液検査、ハムスター検査後に中止した例が27例(45%)あった。男性不妊の症例を個別化した的確な治療法の選択が、治療成績の向上につながると考えられた。

9. ARTにまれな子宮外妊娠をきたした2症例

○山中温子, 石川 源, 里見操緒
明楽重夫, 竹下俊行, 荒木 勤
(日本医科大産婦)

ARTでの子宮外妊娠率は約2~11%に達するといわれている。その多くは卵管妊娠だが、今回我々はIVF-ET後の卵巣妊娠と子宮鏡GIFT後の腹腔妊娠を経験した。〈症例1〉29歳。乏精子症にてIVF-ETを施行した。胚移植より4週間後右下腹部痛を訴え、急性腹症にて緊急開腹術を施行した。右卵巣出血を認めたため楔状切除を施行し、病理組織検査にて卵巣妊娠と診断された。〈症例2〉33歳。機能性不妊症にて子宮鏡GIFTを施行した。採卵から4週間後下腹部痛を訴え来院。子宮外妊娠の診断で腹腔鏡を施行、ダグラス窩に付着した胎嚢を認め腹腔妊娠と診断、胎嚢除去術を施行した。【結論】ART後の子宮外妊娠の検索の際には卵巣妊娠や腹腔妊娠も考慮に入れる必要があると再認識させられた。

10. 採卵術後に卵巣留膿腫に至り開腹術を施行した2例

○町田稔文, 紙谷節夫, 神田義明
鈴木理絵, 松本加代, 菊地紫津子
草場徳雄 (横浜労災病院産婦)
児島孝久 (アモルクリニック)

採卵術後、遅発型腹膜炎および卵巣留膿腫を来たした2症例を経験した。〈症例1〉35歳、診断：原発性不妊症、子宮筋腫、11月に子宮筋腫核出術を施行し、9月15日採卵および同17日に胚移植を施行した。10月21日右下腹痛が出現し、骨盤腹膜炎、両側付属器炎の診断で、腹腔内ドレナージを施行後、さらに、左卵巣留膿腫にて平成10年1月28日左卵巣を部分切除施行した。〈症例2〉30歳、診断：原発性不妊症、子宮内膜症(R-AFS分類、stage 3)、平成8年3月腹腔鏡下手術を施行した。平成10年9月8日採卵および同10日に胚移植を施行したところ、9月23日より下腹痛、発熱が認められ、汎発性腹膜炎、卵巣留膿腫の診断で右付属器切除術を施行した。採卵後の骨盤内膿瘍の発生率は、0.2~0.6%の報告が見られるが、その多くが急性発症例であり、本報告のように遅発型の発症は稀と思われた。

11. ARTの採卵において培養液が原因と考えられるアナフィラキシー・ショックを生じた一例

○和田智明, 佐山雅昭, 小川修一
岩崎竜彦, 大野晶子, 荒木重雄
佐藤郁夫
(自治医科大産婦 生殖内分泌・不妊センター)

IVF-ETにおける採卵時に頻脈、低血圧等のアナフィラキシーショック様症状を呈した症例を経験した。当初は麻酔に使用した薬剤または麻酔管理が原因と考え、使用薬剤を変更し麻酔科医に全身管理を依頼したが同様の症状が出現した。そこで原因としてflushing mediumを疑いHTFの皮内反応およびリンパ球刺激試験を施行したところ、HTFに含まれているストレプトマイシンが陽性を示した。そこでストレプトマイシンを含まないHTFを作成し、採卵時にflushing mediumとして使用したところ上記の症状の出現はなく採卵を終了し得た。現在市販されている培養液は抗生物質を含有するものが多く、採卵時に頻脈、低血圧等の症状が出現した時は、原因の一つとして抗生物質によるアナフィラキシーを考慮する必要がある。

12. カウンセリングの後自然妊娠に至った一症例

○酒井のぞみ, 堀口 文, 山本百合恵
田辺清男, 吉村泰典 (慶應大産婦)

症例は31歳の主婦、数年来の月経不順と挙児希望にて当院受診、不妊期間は5年間で不妊外来に約2年間通院していたが、姑との不仲や義妹の里帰り出産および不妊治療等がストレスとなり、不眠、泣き叫ぶ、自殺企図の他、腹痛、嘔吐等の症状が出現していた。心理テストの成績は、CMIが2領域、SDS自己抑うつ評定法が43点で異常はみられなかったが、YG性格テストが非行型で情緒不安定であった。夫にも心理テストを施行した。患者は面接や文章完成テストなどにより心身相関による発症準備因子や発症誘因等の問題点に気づき、その解決に対処、打開しようとし、また、夫の理解も得られたことから、ストレスによる心身の緊張がとれ、間脳下垂体性腺系の機能へ好影響を及ぼし、妊娠に至ったものと思われた。不妊症患者は不妊のストレスのみでなく自己の性格や家族関係からもストレスを感じており、その不安や葛藤を解決するよう援助することが有用と考えられる。

13. 習慣流産における免疫療法

—MLRによる評価—

- 奥脇伸二, 和泉俊一郎, 鈴木隆弘
松林秀彦, 善方菊夫, 淡路英雄
杉 俊隆, 牧野恒久 (東海大産婦)

習慣流産に対する免疫療法は、現在多くの施設で行われる様になったが、未だに一定の結論がでない。今回我々は、妻のリンパ球も凍結保存することにより新たな評価法を試みたので報告する。症例は、当院での免疫療法の適応である原発性習慣流産患者7例。免疫は、夫のリンパ球 $3 \times 10^7/1.2\text{ml}$ (生食)を放射線照射後に妻へ静注する方法で、2週間の間隔をおいて計3回行った。また、免疫施行毎に妻の血清とリンパ球をMLR用に凍結保存し、免疫終了後にMLRを施行した。従来のブロックング・ファクターの評価では、異なるリンパ球を用いて異なる血清を比較していた。今回我々は、凍結しておいた免疫前の妻リンパ球のみをresponderとして免疫前後の妻血清を評価すると同時に、標準血清中における免疫前後の妻リンパ球の反応も検討した。その結果免疫療法により、妻側の免疫系に様々な感作が起き、複雑な反応が惹起されていることが示され、ブロックングファクターを正しく評価するためには、免疫前の妻リンパ球をresponderとした、MLRをすべきであると思われた。

14. 抗リン脂質抗体陽性妊婦に対する管理とその予後に関する検討

- 福地智恵, 小澤伸晃, 鈴木雅美
黒田優佳子, 久慈直昭, 末岡 浩
吉村泰典 (慶應大産婦)

当院における抗リン脂質抗体陽性妊婦に対する管理方法とその治療成績について検討した。当院不育症患者における抗リン脂質抗体陽性患者の既往流産歴では、妊娠中期以降の子宮内胎児死亡の既往を有する割合が高く認められたが(抗カルジオリピン抗体価 $10 \sim 20\text{U/ml}$ では25%, 抗体価 20U/ml 以上の強陽性患者では33.3%), 今回抗体価強陽性者に対し、プレドニンとアスピリンの併用療法によって治療を行ったところ、14例中12例(85.7%)で生児を獲得することが可能であった。症例によってはヘパリンや紫苓湯を追加投与する例もあったが、12例中5例は早産となった。早産やIUGRに至った症例では抗カルジオリピン抗体価や凝固マーカーのTAT値、臍帯動脈PI値などの変動がみられ、妊娠中は抗体価、血液

凝固検査、超音波検査などを参考に総合的に、分娩時期を判断していくことが重要であると思われた。

15. 着床における子宮内膜組織血流の重要性—内膜vascular endothelial growth factorの意義

- 菅原新博, 尾崎恒男, 神野正雄
星合敏久, 中村幸雄 (杏林大産婦)

【目的】子宮内膜組織血流量(ETBF)および内膜組織中のvascular endothelial growth factor(VEGF)発現量を測定し、それらの着床における意義について検討した。【方法】IVF患者の自然周期高温相4日目にhysteroscope, レーザー血流計を用いてETBFを測定。同日採取した子宮内膜組織を蛍光免疫組織染色し、共焦点レーザー顕微鏡にて鏡検、VEGF発現量をみた。【結果】妊娠/非妊娠群間で比較すると、ETBFは妊娠群で有意に高かった。ETBF高値の妊娠例では、ETBF低値の非妊娠例に比し、子宮内膜におけるVEGFの発現がより強く認められた。【結論】ETBFは着床となる子宮内膜の血流量を直接測定でき、着床能力を評価するうえで最も鋭敏であった。同様に子宮内膜におけるVEGFの発現も着床能力を良く反映するものと示唆された。

16. ICSI反復着床不成功例に対する細径腹腔鏡下ZIFTの試み

- 田中宏明, 久慈直昭, 宮崎豊彦
末岡 浩, 吉村泰典 (慶應大産婦)
北村誠司, 竹原祐志, 片山恵利子
杉山 武 (総合荻窪病院産婦)

ICSI反復着床不成功例に対する卵管内移植の臨床的有効性を検討するため、細径腹腔鏡下ZIFTを試みた。過去3回以上受精卵を子宮内移植したにもかかわらず妊娠が成立しない8症例に対しIVF-ICSI施行、ICSI後24-48時間後全麻下に2mm腹腔鏡を用いて3-4個の胚を卵管内移植した。手術時間は23-36分で10mm腹腔鏡下で行った場合の約1/2であり、術後経過は良好であった。妊娠例2例は移植胚gradeがすべて良好、または前回の子宮内胚移植時のgrade良好な症例であった。細径腹腔鏡の使用により卵管内移植を比較的侵襲に施行することが可能となったが、移植胚のgradeが低い、viabilityが低いと考えられる症例で妊娠率が改善できるかどうかは不明である。ICSI反復着床不成功例は移植胚のgradeが比較的良好的な反復着床不成功例に対してのみ、慎重に施行するべきであると考えられた。

17. Blastocyst培養とその解析

○鈴木香織, 林 明美, 大野道子
 本山光博

(高度医研・中央クリニック)

Blastocystの培養とその染色体解析を行い、臨床応用に先立ちその安全性に関して検討したので報告する。新鮮良好胚11個、新鮮不良胚70個、前核異常胚13個、凍結融解胚63個について会告に従い患者の同意を得たうえで培養、染色体解析を試みた。培養方法はIVF, ICSI施行後、3日目までに患者血清10%添加HTF、その後は患者血清10%添加 α -MEMにて継続培養を行いBlastocystの形成の見られた時点で解析を行った。新鮮良好胚11個より6個、新鮮不良胚70個より9個、前核異常胚13個より3個、凍結融解胚63個より10個のBlastocystを得た。得られたBlastocystの染色体標本を作製し、GまたはQ分染方にて観察を行った。核型分析が可能だった新鮮良好胚2例中1例、新鮮不良胚5例中3例、凍結融解胚1例に正常核型を認めた。異常が認められた3例はすべて正常核型と倍数性とのモザイクだった。前核異常胚の3PNの確認された胚より3倍体を認めた。

18. 当院における胞胚期移植の臨床的成績

○渋谷幸裕, 安部裕司, 雀部 豊
 伊藤嘉奈子, 中野由起子, 池永秀幸
 間崎和夫, 久保春海, 平川 舜

(東邦大第1産婦)

【目的】桑実胚もしくは胞胚期移植の臨床成績を従来の2ないし3日目の胚移植と比較検討しその臨床的意義を検討した。【方法】1997年11月より1998年12月までにインフォームドコンセントの得られた27症例27周期(年齢34.7歳, 移植数2.3個)に対しa群)Day 4/5 ETを施行し, b群)Day 2/3 ETを施行した108症例132周期(年齢35.3歳, 2.3個)とその臨床成績を比較検討した。【結果】平均既往ART回数はa群, b群それぞれ2.6回, 1.0回と有意な差を認めたのに対し, 着床率a群vs. b群: 16.4%, 17.7%, 妊娠率(対症例)a群vs. b群: 33.3%, 41.7%, 妊娠率(対周期)a群vs. b群: 33.3%, 34.1%と有意な差は認められなかった。しかしDay 4で桑実胚, Day 5で胞胚を移植し得た周期(適格周期)は16周期59.3%であり8周期50%に臨床的妊娠が成立した。【考察】Day 4/5 ETは適格周期では高い妊娠率を示し, さらに反復ART不成功例に対し有効であることが示唆された。

19. 各種hMG製剤におけるゴナドトロピン組成とその臨床的意義

○合阪幸三, 西平正之, 越野哲郎
 上里忠和, 生月弓子, 三輪晶子
 民秋史子, 藤原敏博, 梁 善光
 貝原 学

(帝京大附属市原病院産婦)

新しく開発されたヒュメゴン100を重症の視床下部障害性排卵障害(PCO: 5例, 非PCO: 6例)に使用し, その臨床成績, 含有するゴナドトロピン量をパーゴナル, フェルティノームPと比較検討した。成熟卵胞発育までに要したhMG総投与量は, PCOではパーゴナルが非PCOではフェルティノームが増加する傾向を示した。成熟卵胞発育個数はいずれもパーゴナルで増加する傾向を示したが有意差はなかった。OHSS発生頻度はPCO, 非PCOでそれぞれヒュメゴン: 35.7 vs. 33.3%, パーゴナル: 53.3 vs. 60.0%, フェルティノーム: 50.0 vs. 35.7%で, いずれもヒュメゴンで低下する傾向を示した。各薬剤中のゴナドトロピン組成をみると, FSHはフェルティノームでやや少なく, LH, hCGはパーゴナルで有意に多く含まれていた。以上より, ヒュメゴンはPCO, 非PCOのいずれに対しても同等の効果を有し, 使いやすい製剤であると考えられた。またゴナドトロピン製剤中のhCGは添加しない方がよいと思われた。

20. IVF周期における血中インヒビン, アクチビン測定の意義の検討

○中川潤子, 三室卓久, 斎藤理恵
 安達知子, 岩下光利

(東京女子医科大産婦)

【目的】インヒビン, アクチビンは卵胞の発育, 成熟に密接に関与すると考えられている。インヒビンにはA, Bの二つの異なるダイマーが存在し, 近年これらを個別に測定するELISAが開発された。IVFを予定した患者のhMG投与開始時の血中インヒビンA・B, アクチビンA, FSHを測定し, 年齢, hMG投与日数, 採卵数との関連を検討した。【対象と方法】97年から98年にかけて当科でIVFを予定した94周期で, 平均年齢は35.1歳。過排卵刺激法はultralong protocol法を使用。【成績】FSH, インヒビンA, アクチビンAの値は, 投与日数, 採卵数と相関を認めなかった。インヒビンBは, 投与日数が短く, また採卵数が多い症例では高値であり, 有意な相関を認めた。【結論】IVF周期において, インヒビンB値が高い

症例ではhMGに対する反応性が良好で、卵胞刺激の結果を予測する指標となりうる事が示唆された。

21. 新しい培養液(P-1)を使った3日目ETの成績

○児島孝久 (アモルクリニック)

体外受精の妊娠率向上のために共培養やAHA (Assisted Hatching)等の工夫がなされているが、未だに定着した方法は見当たらない。培養液の改良により妊娠率が改善するかを検討した。P-1培養液はグルコースを含まず、アミノ酸としてタウリンを含んだ培養液であり、このP-1を使用した体外受精(ICSI含む)100症例と、従来のHTFを使用した直前の100症例の成績を比較検討した。全例ウルトラショートによる排卵誘発、採卵、媒精、胚移植を実施し、P-1を使用した症例は採卵後3日目の胚移植とした。ET当たりの妊娠率は、HTF群が90例中16例(17.7%)、P-1群が93例中20例(21.5%)と有意な差はみられなかった。受精率はHTF群が39.6%、P-1群が46.8%とやや受精率の向上がみられたものの、受精卵の質はVeeck 分類のGrade 1~5各群の占める割合には差がなかった。以上の結果より、新しい培養液P-1を用いた体外受精の成績は、従来のHTF使用例と比較しても有意な差はなかった。

22. 閉塞性無精子症の臨床統計

○石井祝江, 中居敏明, 吉田 淳
永尾光一, 原 啓, 黒田加奈美
石井延久, 三浦一陽

(東邦大泌尿第一)

東邦大学大森病院リプロダクションセンターを受診した男性不妊患者のうち、男性に不妊の原因があると診断された症例は1978年から1997年までの20年間に4728例であった。そのうち閉塞性無精子症の患者は219例(4.6%)であり、その原因としては先天性精管欠損症が一番多く63例、ついで幼少期の鼠径ヘルニア手術時両側精管結紮59例であった。

1992年以前での精路手術で妊娠を見たものは47例中5例で10%であった。1992年以降の顕微鏡下精管精管吻合において精子出現は43例中21例(49%)であったが、妊娠は8例であった。当院で行っている精路閉塞に対するTESE-ICSIを施行した症例15例のうち妊娠を見たものは3例(20%)であったが、この治療法の歴史は浅いので今後の妊娠症例の増加が期待される。

23. 閉塞性無精子症に対する精巣上体精管吻合術の検討

○市川智彦, 小宮 顕, 川名庸子
鈴木啓悦, 伊藤晴夫 (千葉大泌尿)
鈴木規之, 村上信乃

(旭中央病院泌尿)

始関吉生 (川崎製鉄千葉病院泌尿)

赤間晴雄, 内藤正文

(川崎製鉄千葉病院産婦)

【目的】閉塞性無精子症に対する精巣上体精管吻合術の成績について検討した。【対象および方法】1995年から1998年までの4年間に、不妊を主訴として千葉大学医学部泌尿器科を受診した閉塞性無精子症患者のうち、顕微鏡下精巣上体精管吻合術を施行した4例を対象とした。原因は両側鼠径ヘルニア手術後が2例、両側精巣上体炎が2例であった。前者は精管精管吻合術を施行後、本手術を行った。【結果】鼠径ヘルニア手術後症例のうち、1例は精巣上体管に精子を認めず、手術を中止した。その後、TESE/ICSIを施行し挙児を得た。もう1例は片側のみ吻合、1ヶ月で精子が出現し経過観察中である。精巣上体炎症例は、2例とも片側のみ吻合したが、両者とも精子が出現しなかった。1例はTESE/ICSIを検討中である。【結論】精巣上体精管吻合術は、配偶者が若い症例ではTESE/ICSI施行前に検討すべき治療と考えた。

24. 男性不妊における膿精液症の治療

○宮地系典, 石川博通, 青柳貞一郎
早川邦弘, 畠 亮

(東京歯科大市川総合病院泌尿)

男性不妊患者のうち膿精液症のある26例にレボフロキサシン(300mg/日)を投与して起炎微生物に対する効果および精液所見の変動について観察した。薬剤投与前の微生物学的検査ではChlamydiaおよびUreaplasmaは検出されなかった。一般細菌は22例のVB3尿から8種38株が検出され、薬剤の投与後37株が消失した。精液中の白血球数は薬剤投与後有意に減少した。精子運動率は投与前の運動率が40%未満の症例では有意に上昇した。膿精液症に対するレボフロキサシン投与は有用であると考えられた。

特別講演

精子免疫による不妊と避妊

香山 浩二(兵庫医科大学産婦)

精子抗原は女性にとって性交によって初めて接触する非自己抗原であり、また男性にとっても、免疫系がその発達過程で自己抗原を認識して免疫学的寛容(同じ自己抗原と反応しなくなる状態)を獲得するはるか後の思春期になって初めて出現してくる抗原であり、男女いずれが精子抗原に対して免疫応答を起こして来ても不思議ではない。種の保存という観点からみても精子免疫に対する精巧な防御機構が発達しているに違いないが、本講演ではその防御機構が破綻して起こってくる精子免疫と不妊の関係につき主に臨床的側面より解説すると共に、この現象を避妊手段に応用しようとして研究が進んでいる精子抗原による避妊ワクチンの開発について紹介する。

精子免疫に関する研究は古く、雌動物を精子で免疫すると抗精子抗体の産生と共に免疫動物は不妊になることが報告されている。また、雄動物を精子で免疫した場合にも抗精子抗体の産生と共に自己免疫性精巣炎が発症し、免疫動物は不妊となる。臨床的にも女性および男性不妊患者の中に対照に比べて高率に抗精子抗体が検出されることから、抗精子抗体と不妊の関係が注目されている。抗精子抗体の検出法には多数の方法があり、検出された抗体が必ずし

も不妊の原因になるとは限らない。少なくとも運動精子に反応する抗体で、精子に何らかの傷害作用を及ぼす抗体でなければならない。抗精子抗体による不妊機序も多岐に渡るが、臨床的に最も良く観察される現象は、男性が抗体を持っている場合も、女性が抗体を持っている場合も、子宮頸管での精子の通過性が強く障害されることである。抗体によっては精子の卵透明帯への結合、侵入を強く阻害するものがある。従来、抗精子抗体が検出されても治療によって妊娠を成立させることは非常に困難であったが、最近の生殖補助技術の進歩によって、抗精子抗体を保有する不妊男性および女性の妊娠率が著しく向上して来た。

発展途上国を中心とした爆発的な人口増加の抑制策として安全で安価な避妊法の開発が模索され、その手段として避妊ワクチンの開発が注目されている。避妊ワクチンの候補抗原として①hCG②精子抗原③卵透明帯抗原等が検討されているが、中でも精子抗原は臨床的に健康で抗精子抗体を持っているが故に妊娠しない不妊症の存在することから、これをモデルとして、不妊患者の抗精子抗体の対応抗原を同定し、あるいは受精に関与する精子特異抗原を同定し、これを最近発展が著しい分子生物学的手法を用いて避妊ワクチン化しようとする研究が進められている。

関連学会のお知らせ

第40回 日本哺乳動物卵子学会開催のご案内

下記により第40回日本哺乳動物卵子学会および総会を開催致しますので、多数の皆様のご参加をお願い申し上げます。

第40回 日本哺乳動物卵子学会
会長 久保 春海

記

期 日：1999年5月27日(木)・28日(金)
会 場：シェーンバッハ・サボー(砂防会館別館)
〒102-0093 東京都千代田区平河町2-7-5 (電話)03(3261)8386

学術講演会

招請講演：I. Roger A. Pedersen, "Derivation and Controlled Differentiation of Pluripotent Stem Cells"
(仮題)

II. A. Henry Sathanathan, "The Inside Story of ICSI"

III. Pietro M. Motta, "Human Ova and Cumulus Cells *in Vitro* and *in Vivo*"

IV. Paul Katayama, M. D. Ph. D & Alyce Katayama,
「アメリカにおける非配偶者間体外受精胚移植の現状」

特別講演：杉村 隆 「がん関連遺伝子変化とがん化」

教育講演：角田 幸雄 「クローン研究の最前線」

会長講演：久保 春海 「受精卵診断はどこまで可能か」

Symposium：

I. 凍結のUp to Date (座長：葛西孫三郎・井上正人)

II. 卵の遺伝子診断 (座長：上口勇次郎・鈴森 薫)

III. 培養条件と胚発生 (座長：佐藤嘉兵・野田洋一)

一般演題：5月27日(木)～28日(金)

公開講座：「日本人の性行動の未来」(パイアグラとピルがどう変えるのか！)
5月28日 午後6時30分より

参加申込み方法：学会当日会場にて受け付けます。

学会参加費 7,000円・懇親会参加費 7,000円

連絡先：東邦大学医学部第1産科婦人科学教室内 第40回日本哺乳動物卵子学会事務局

担当者：安部裕司・菅 睦雄

〒143-8541 東京都大田区大森西6-11-1 (電話)03-3762-4151 (Fax)03-3765-7671

第6回日本産科婦人科内視鏡学会実技研修会および、 第6回日本産科婦人科内視鏡学会学術研修会のご案内

第6回日本産科婦人科内視鏡学会実技研修会および、第6回日本産科婦人科内視鏡学会学術研修会を下記のごとく開催する予定です。会員皆様の多数の御参加をお待ち申し上げます。

第6回実技研修会

研修会内容：(1日目) 講義と希望者対象のトレーニングボックスによる縫合トレーニング並びにグループ別ミーティング

(2日目) ライブデモと実技トレーニング

講師：学会幹事他を予定しております。

日時：平成11年5月15日(土)PM15:00～16日(日)PM16:00

場所：ジョンソン・エンド・ジョンソンメディカル(株)

エチコン研究センター(EESI)

〒962-0000 福島県須賀川市大字桑原女夫坂1番地

Tel:0248-75-6100 Fax:0248-75-6035

定員：30名(定員になり次第締切りさせていただきます)

受講資格：日本産科婦人科内視鏡学会会員並びに学会入会のご希望者

参加費：65,000円(受講費・テキスト費・夕食ミーティング費を含みますが、会場までの交通費・宿泊費・朝食費は別途参加者個人負担となります)

第6回学術研修会

研修会内容：『産婦人科領域における内視鏡手術のこつと、その落とし穴-2』と題して、縫合のこつ、(予定) オフィスラパロ(侵襲低減の工夫、細径内視鏡等)、LAVH、子宮筋腫摘出術、卵巣嚢腫のボーダレスケースの取扱などを予定しております。

講師：学会幹事並びに評議員の先生を予定しております。

日時：平成11年8月5日の第22回産婦人科マイクロサージャリー学会開催日の午前中に行います。(予定) す。

場所：学会会場

定員：100名(定員になり次第締切りさせていただきます)

受講資格：学会参加の医師

参加費：2,500円(受講費・テキスト費)

申込方法

申込締切：定員になり次第締切りさせていただきます。

下記の学会事務局まで事前に郵便はがきまたはFAXにて、ご希望の研修会名と、お名前・所属・連絡先住所・同電話番号・同FAX番号を明記の上、お申込みください。折り返し事務局から必要事項をご連絡いたします。なお参加費は実技研修会については事務局から送付されます振込用紙により事前にお支払いいただきます。また、学術研修会は学会当日に学術研修会会場受付窓口でお支払いください。

申込先：〒113-0033 東京都文京区本郷3-39-1(三和ビル5階)

(株)メディカルサプライジャパン内

日本産科婦人科内視鏡学会・事務局宛

Tel. 03-3818-2177 Fax. 03-3815-2644又は03-3813-9461

主催・日本産科婦人科内視鏡学会

日本アンドロロジー学会第18回学術大会案内

日本アンドロロジー学会第18回学術大会を下記の要領で開催致しますので御案内申し上げます。皆様の御参加を心からお待ちいたしております。

日本アンドロロジー学会第18回学術大会
会長 梅田 隆

記

会 期：1999年7月2日(金)～3日(土)

会 場：日本都市センター会館

〒102-0093 東京都千代田区平河町2-4-1

TEL：03-3265-8211(代) FAX：03-3262-1705

事務局：帝京大学医学部泌尿器科学教室内 第18回日本アンドロロジー学会事務局

〒173-8605 東京都板橋区加賀2-11-1

TEL：03-3964-2497 FAX：03-3964-8934

e-mail:uro1@med.teikyo-u.ac.jp

主要プログラム

招聘講演Ⅰ：“EDSTAC and current EPA efforts regarding standardization and validation of endocrine disrupter screens and tests”

Anthony Macirowski (US-EPA, Washington DC, USA)

招聘講演Ⅱ：“Adverse trends in male reproduction: Some aspects of testis cancer and semen quality”

Neils E. Skakkebaek (Copenhagen University)

招聘講演Ⅲ：“Fertilization: Ignition of the first cell cycle and the impact of zygote toxicants”

Sally Perreault (US-EPA, NC, USA)

招聘講演Ⅳ：『生殖腺の分化を支えるメカニズム』

諸橋憲一郎(岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所)

特別講演：『生殖補助医療技術の動向と臨床応用のあり方』

星 和彦(山梨医科大学産婦人科学教室)

シンポジウムⅠ：環境因子とアンドロロジー

シンポジウムⅡ：最近の精子および精子形成にまつわる基礎的研究

シンポジウムⅢ：性分化・性成熟異常

シンポジウムⅣ：勃起障害に対する臨床と診断

パネルディスカッション：精液検査の標準化

演題申込み要項等は事務局までお問い合わせ下さい。

演題申込み締切：1999年4月10日

参加申込み方法：学会当日会場にて受け付けます。

学会参加費 10,000円

第17回日本受精着床学会ご案内

第17回日本受精着床学会を下記の通り開催しますので、奮って御参加下さいますようお願い申し上げます。

期 日：平成11年7月8日(木)～9日(金)
会 場：ニュースカイホテル
熊本市東阿弥陀寺町2
会 長：岡村 均(熊本大学教授)
演題募集：締め切り 平成11年4月19日(月)(消印有効)
応募用紙 指定用紙を使用のこと

プログラム

- 特別講演 1：Discovery of Ovarian Gene Expression during Ovulation
Professor Lawrence L. Espey (Trinity University, USA)
2：Trophoblast Differentiation and Implantation
Professor Jerome F. Strauss III (University of Pennsylvania, USA)
3：Function of the Fallopian Tube : Its Impact on the Past, Present and Future Status of ART
Professor Luigi Mastroianni Jr. (University of Pennsylvania, USA)
- 招聘講演 1：発生・生殖工学の新展開 山村 研一(熊本大学教授)
2：Banking of the Oocytes and Ovarian Tissues
Professor Kwang Y. Cha (Pochon CHA University, Korea)

シンポジウム：Signaling from / to Germ Cells

座長 佐藤 英明 (東北大学教授)
星 和彦 (山梨医科大学教授)

- | | |
|---|----------------|
| 1) 卵胞発生におけるc-kitの役割 | 吉田 尚弘 (京都大学) |
| 2) 卵胞の分化・成長過程におけるGDF-9の役割 | 林 正路 (北海道大学) |
| 3) 卵成熟にともなう卵特異的な遺伝子発現 | 岡村 佳則 (熊本大学) |
| 4) 卵母細胞による卵胞腔形成の誘導 | 宮野 隆 (神戸大学) |
| 5) 卵胞・卵・胚の発育とヒアルロン酸 | 斉藤 英和 (山形大学) |
| 6) 卵丘細胞におけるヒアルロン酸の合成と蓄積、卵による調節 | 佐藤 英明 (東北大学) |
| 7) SpermatogenesisにおけるMC 31 / CE 9の発現と機能 | 年森 清隆 (宮崎医科大学) |
| 8) Germ cell-Sertoli cell-Leydig cell interaction | 藤澤 正人 (神戸大学) |
| 9) 精子受精能獲得に関する分子細胞学的アプローチ | 平田 修司 (山梨医科大学) |

ワークショップ：ART at Present in Japan

座長 野田 洋一 (志賀医科大学教授)

- | | |
|-----------------------|---------------------|
| 1) 大学病院におけるART | 山野 修司(徳島大学) |
| 2) 不妊治療におけるARTの位置づけ | 辰巳 賢一(梅ヶ丘産婦人科) |
| 3) 当院におけるARTの現状と今後の課題 | 馬渡 善文(セントマザー産婦人科医院) |
| 4) 凍結胚移植の臨床応用 | 神谷 博文(神谷レディースクリニック) |

連絡先：〒860-8556 熊本市本荘1-1-1
熊本大学医学部産科婦人科学教室内
第17回日本受精着床学会事務局
担当 田中 信幸・本田 律生
TEL：096-373-5269 FAX：096-363-5164
E-mail: obgyn@kaiji, medic. Kumamoto-u.ec.jp

第17回日本受精着床学会
会長 岡村 均

第22回産婦人科マイクロサージャリー学会ご案内

会 期：平成11年8月5日(木)

会 場：大阪国際交流センター

〒543-0001 大阪市天王寺区上本町8-2-6

TEL 06-6772-5931

学会参加費：5,000円

懇親会参加費：5,000円 平成11年8月6日(金)

* 学会会場の大阪国際交流センターさくらの間にて第39回日本産科婦人科内視鏡学会と
合同で開催いたします。

理事長講演：産婦人科マイクロサージャリー学会のこれからの歩み

座長 藤井 明和 (産婦人科マイクロサージャリー学会 名誉会長)

特別講演：What is reproductive surgery

演者 Professor Victor Gommel (Canada)

座長 星合 昊 (近畿大学教授)

シンポジウム：卵管性不妊症の治療法の推進

座長 野口 昌良 (愛知医科大学教授)

座長 井上 正人 (山王病院院長)

- | | |
|-----------------------------|------------------|
| 1) 教室における卵管性不妊症の治療法の推移 | 森田 峰人 (東邦大学) |
| 2) 卵管間質部閉塞の診断・治療の進歩 | 長田 尚夫 (日本大学) |
| 3) 当施設における卵管性不妊症に対する治療法の変遷 | 村上 節 (東北大学) |
| 4) 当科における卵管性不妊症の推移 | 高橋規久也 (近畿大学) |
| 5) 当教室における卵管性不妊の治療とその変遷 | 澤田 富夫 (藤田保健衛生大学) |
| 6) 卵管性不妊症に対する治療法の当科における選択基準 | 浅井 光興 (愛知医科大学) |
| 7) microsurgery から内視鏡下治療へ | 小林 善宗 (山王病院) |

学術集会事務局：

〒589-8511 大阪狭山市大野東377-2

近畿大学医学部産科婦人科学教室

第22回産婦人科マイクロサージャリー学会事務局

Tel. 0723-66-0221 (内線3214) Fax. 0723-68-3745

E-mail: gyne@med.kindai.ac.jp

第39回日本産科婦人科内視鏡学会総会ならびに学術講演会ご案内

第39回日本産科婦人科内視鏡学会を下記の通り開催いたしますので、奮ってご参加くださいますよう、お願い申し上げます。

会 期：平成11年8月6日(金)・7日(土)

会 場：大阪国際交流センター

〒543-0001 大阪市天王寺区上本町8-2-6

TEL 06-6772-5931

学会参加費：7,000円

懇親会参加費：5,000円 平成11年8月6日(金)

* 学会会場の大阪国際交流センターさくらの間にて第22回産婦人科マイクロサージャリー学会と合同で開催いたします。

テ ー マ：21世紀へ向けての産婦人科内視鏡下手術

プログラム

招請講演：演題未定のため決まり次第お知らせいたします。

演者 Harry Reich, M. D., U. S. A

演者 Prashant Mangeshikar, M. D., India

演者 Charles Koh, M. D., U. S. A

演者 Camran Nezhat, M. D., U. S. A

特別講演：『腹腔鏡下腔式子宮全摘術(LAVH)の現況と将来』

演者 塩田 充 (近畿大学)

座長 星合 昊 (近畿大学教授)

シンポジウム：『悪性腫瘍と内視鏡下手術(適応と限界を中心に)』

座長 工藤 隆一(札幌医科大学教授)

野澤 志郎(慶應義塾大学教授)

シンポジウム：『不妊症治療に対する内視鏡下手術の有効性(成績を中心に)』

座長 杉並 洋(国立京都病院)

深谷 孝夫(東北大学助教授)

ランチョンセミナー：

各日昼食時間に予定しております。

そのほかに教育講演を予定しております。

学術集会事務局：

〒589-8511 大阪狭山市大野東377-2

近畿大学医学部産科婦人科学教室

第39回日本産科婦人科内視鏡学会事務局

Tel. 0723-66-0221(内線3214) Fax. 0723-68-3745

E-mail:gyne@med.kindai.ac.jp

不妊症新治療ワークショップご案内

1999年仙台セミナー

会 期：平成11年 8月21日(土)，22日(日)
会 場：仙台国際ホテル
〒980-0011 仙台市青葉区中央4丁目6-1
TEL：022-268-1111 FAX：022-268-1113

主 催：不妊症新治療ワークショップ世話人会
(世話人会) 鈴木 雅洲(東北大学名誉教授：代表世話人)
武谷 雄二(東京大学教授：代表世話人)
鈴木 秋悦(前慶応大学助教授) 廣井 正彦(山形大学教授)
星 和彦(山梨医科大学教授) 星合 昊(近畿大学教授)
佐藤 章(福島県立医科大学教授) 田中 憲一(新潟大学教授)
高橋 克幸(日母副会長)

プログラム

主題：着床

- 1) Jan TESARIK, M.D., Ph. D. (生物医学研究所, フランス)……同時通訳あり
 - ① Problems of gamete competence for fertilization diagnosis and treatment
 - ② Problems of early embryo growth and implantation potential, and their possible solutions; embryo selection versus embryo rescue strategies
- 2) Christos COUTIFARIS, M.D., Ph. D. (ペンシルバニア大学, U.S.A.)……同時通訳あり
 - ① Clinical optimizing the endometrial enviroment for embryo transfer
 - ② Molecular mechanisms of human trophoblast adhesion and migration during implanlation
- 3) Herman TOURNAGE, M.D., Ph. D. (ブリュッセル大学, ベルギー)……同時通訳あり
 - ① Diagnosis of male infertility as well as sterility
 - ② New development of ART in human males
- 4) Berry Behr, Ph. D. HCLD. (スタンフォード大学, U.S.A.)……同時通訳あり
培養液の選び方, 使い方, 作り方, 保存法
- 5) 着床率向上のための透明帯操作 矢野 浩史(矢野産婦人科)
- 6) 子宮内膜胚移植法 寺元 章吉(加藤レディースクリニック)
- 7) 胞胚までの培養技術 元石 睦郎(蔵本ウイメンズクリニック)
- 8) 臨床最前線で経験した症例の中から 鈴木 雅洲(東北大学)
- 9) 受精卵の質と染色体分析 荒木 康久(高度医療技術研究所)
- 10) 総括解説—わが国のこれからのARTについて 廣井 正彦(山形大学)

問い合わせ先：不妊症新治療ワークショップ事務局
〒989-2481 宮城県岩沼市里の杜3丁目5-5
医療法人社団スズキ病院内
TEL：0223-23-3111(代) FAX：0223-23-3123
E-mail: suzukihp@ sh. comminet. or. jp
事務担当：伊藤，佐藤，幕田

第44巻1号掲載論文中の正誤表

第44巻1号掲載の「男性不妊以外の臨床症状を認めなかったPrimary Ciliary Dyskinesiaの1例」頁68(68)の図1：胸部X-P(写真)が印刷工程中に左右逆転のミスプリントになって出版されました。

ここに改訂させていただきます。

大変ご迷惑をおかけして申し訳ありません。

日本不妊学会雑誌編集室

誤

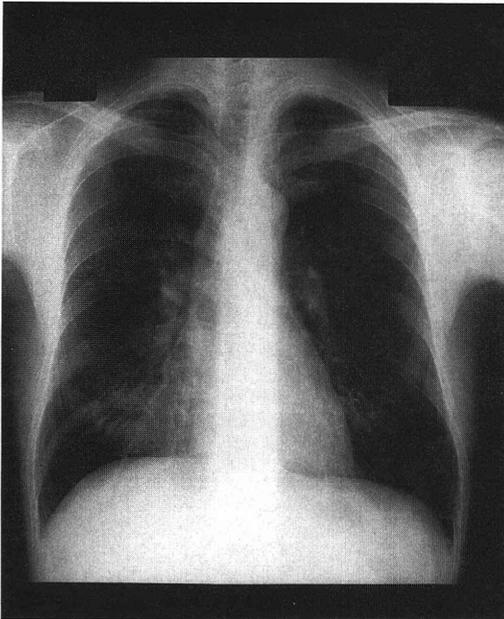


図1：胸部X - P

右側に心陰影を認めるも、肺野および鏡像心陰影には異常を認めない。

正

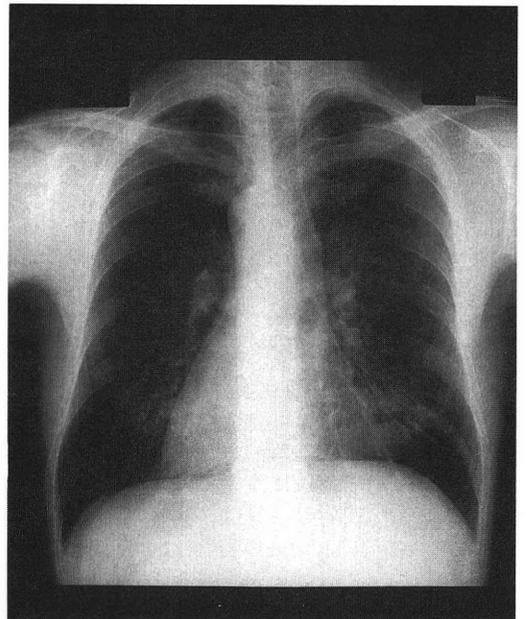


図1：胸部X - P

右側に心陰影を認めるも、肺野および鏡像心陰影には異常を認めない。

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以内の英文抄録（題名、著者名、所属を含む）を添付する。各抄録の下に和文ならびに英語5語以内のKey wordsを付記する。英文はあらかじめ専門家の校閲を受けておくこと。ただし編集委員会で校閲が必要と認めた場合は、その費用を著者負担とする。
8. 投稿原稿は表紙（題名、著者名、所属、住所、ランニングタイトルを和文ならびに英文で明記）、英文抄録、和文抄録、本文（緒言、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:頁一頁 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頁一頁 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	会員番号	フリガナ	会員番号
氏名	[所属機関名]	氏名	[所属機関名]
	No.		No.
1.	[]	2.	[]
	No.		No.
3.	[]	4.	[]
	No.		No.
5.	[]	6.	[]

本文ページ数：

文献件数：

和文抄録：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

日本不妊学会誌は、第44巻2号も装丁を保つに十分な投稿論文が集まり、無事出版にこぎつけました。昨今の英文誌への投稿の傾向が強くなるなか、日本不妊学会誌もその余波を受けたとはいえ、査読後に掲載に至った論文12編、という数字は邦文機関誌としての関心を維持している証左ともいえるでしょう。さらに、総会の教育講演2題とビルに関係する1題の計3編の依頼稿を加え、より充実した冊子となりましたことは編集をする者の一人として大変に喜ばしいことと思っております。日本の医学のグローバル化に伴い、評価の高い英文誌へ投稿が移行している現実の一部の雑誌の投稿数減少の事態を招きましたが、その反面、研究水準の継続的な向上につながることであり、ひいては本誌においても内容の充実に結びつくことと信じております。

(編集委員 末岡 浩)

編集委員

平川 舜 (委員長)

味香勝也	安部裕司	石川博通
石塚文平	岩本晃明	遠藤克
押尾茂	末岡浩	田原隆三
百目鬼郁夫	永尾光一	三浦一陽

Editorial Board

Shun HIRAKAWA (Editor-in-Chief)

Katsuya AJIKA	Yuji ABE	Hiromichi ISHIKAWA
Bunpei ISHIZUKA	Teruaki IWAMOTO	Tuyoshi ENDO
Shigeru OSHIO	Kou SUEOKA	Ryuzo TAHARA
Ikuo DOUMEKI	Koichi NAGAO	Kazukiyo MIURA

日本不妊学会雑誌 第44巻第2号

編集発行人 平川 舜
発行所 社団法人 日本不妊学会
〒102-0083
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 パンメディア
〒162-0043
東京都新宿区早稲田鶴巻町110
TEL (03) 3209-1810
FAX (03) 3209-1863

1999年3月25日印刷
1999年4月1日発行