

ISSN 0029-0629 CODEN: NFGZAD

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

Vol. 44 No. 3 July 1999
第44卷 第3号 平成11年7月1日

Jpn. J. Fertil. Steril. / 日不妊会誌

事務局からのお願い

先に、名簿作製の資料として、勤務先・自宅住所などに関するお問い合わせを総会資料とともにお送り致しましたが、まだご返送いただいていない場合は、返信ハガキを朱筆訂正の上、至急ご投函下さい。

なお、今回より新たに電子メールアドレスも記載致したいと存じますので、余白にご記入下さいますようお願い致します。

すでにハガキをご投函いただいた先生も、電子メールアドレスをファクシミリにて下記事務局までお知らせ下さい。

日本不妊学会事務局：電話/ファクシミリ兼用 03(3288)7266
〒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

日本不妊学会・学会誌への投稿についてのお願い

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7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4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。多数の方々をご参加下さいますようお願い申し上げます。

記

- I 期 日：平成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
座長：森 崇英 (京都大学名誉教授)
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
座長：吉田 英機 (昭和大学医学部泌尿器科教授)
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
座長：大島 博幸 (東京医科歯科大学泌尿器科教授)
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
座長：青野 敏博 (徳島大学医学部産婦人科教授)
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
座長：永田 行博 (鹿児島大学医学部産婦人科教授)
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?—
座長：武谷 雄二 (東京大学医学部産婦人科教授)
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
座長：守殿 貞夫 (神戸大学医学部泌尿器科教授)
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
座長：毛利 秀雄 (岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所所長)
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（兵庫医科大学分産新生児部助教授）
- 4) 子宮内膜 — 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) 子宮内膜症と卵管機能

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科助手）

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。

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）7月

第44回日本不妊学会

会長 矢内原 巧

日本不妊学会雑誌

第44巻 第3号

平成11年7月1日

—目 次—

原 著

- ゴナドトロピン療法例の発育卵胞数と多胎妊娠発生との関連 (英文)
..... 劉 曉偉・安藤一道・上条隆典
山田清彦・水沼英樹・伊吹令人 1
- 腹腔鏡下子宮内膜症性嚢胞の核出術前後における卵巣の過排卵誘発に対する
反応性の検討
..... 武田裕子・福井敬介・堀 玲子
吉本 勲・越智 博・伊藤昌春 9
- 精子自動分析装置による精子運動能の解析と妊孕能の検討
..... 榊井 真・市川智彦・小宮 顕
川名庸子・鈴木啓悦・伊藤晴夫
鈴木規之・村上信乃・始関吉生 15
- HMGによる成熟ラット (Sprague-Dawley 系) の過排卵誘起と過剰妊娠
橋詰良一・岡田浩典・宮田貴士・伊藤雅夫 21
- 子宮卵管吻合術による間質部卵管閉塞の治療とその病理学的検討 (英文)
..... 長田尚夫・藤井Tom清・角田郁夫
山田祐士・津端捷夫・佐藤和雄 27
- 不妊患者の「悩み」についての実態調査およびCMI健康調査による心理評価
..... 渡辺利香・後藤孝子・倉橋千鶴美
指山実千代・宇津宮隆史 35
- 着床前遺伝子診断のための簡便なDNA抽出法の検討 (英文)
..... 橋場剛士・末岡 浩・黒島正子
浅田弘法・久慈直昭・吉村泰典 41
- 若年男性における精液所見の変化
..... 中居敏明・三浦一陽・石井祝江・吉田 淳
永尾光一・原 啓・石井延久・上山 讓 45
- 子宮内膜症を伴う不妊症における腹腔鏡下手術後の妊娠率についての検討 (英文)
..... 栗林 靖・石塚文平・斎藤寿一郎
代田琢彦・菅原一朗・雨宮 章 51

症例報告

HMG/ テストステロン療法にて造精機能発現に成功した Kallmann 症候群の 1 例

..... 宮地系典・村井 勝・青柳貞一郎・早川邦弘
石川博通・畠 亮・大橋正和・井沢 明 57

採卵後に遅発型骨盤内感染症を来した 2 例

..... 町田稔文・紙谷節夫・鈴木理絵・松本加代
菊地紫津子・草場徳雄・児島孝久 61

Klinefelter 症候群に発生した精巣類表皮嚢胞の一例

..... 東田 章・中村吉宏・坪庭直樹・山中幹基
古賀 実・三浦秀信・西村憲二
内田欽也・北村雅哉・松宮清美
奥山明彦・辻 敏徳・岡本吉夫 67

地方部会講演抄録 83

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 44, No. 3, 1999)

Japan Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Originals

- The Relationship between the Number of Growing Follicles and the Occurrence of Multiple Pregnancies in Women Treated with Gonadotropin
..... X. Liu, K. Andoh, T. Kamijo
K. Yamada, H. Mizunuma & Y. Ibuki 1
- Effect of Laparoscopic Enucleation of Endometrioid Cysts and Ovarian on the Response to Ovarian Hyperstimulation
..... Y. Takeda, K. Fukui, R. Hori,
I. Yoshimoto, H. Ochi & M. Ito 9
- Evaluation of Sperm Motility and Fertility Using a Computer-aided Sperm Analyzer
..... M. Masui, T. Ichikawa, A. Komiya
Y. Kawana, H. Suzuki, H. Ito
N. Suzuki, S. Murakami & Y. Shiseki 15
- Induction of Superovulation and Superpregnancy in Adult Sprague-Dawley (SD) Rats by Human Menopausal Gonadotrophin (hMG) Injection
..... R. Hashizume, H. Okada, T. Miyata & M. Ito 21
- Pathological Findings at Microsurgical Tubouterine Anastomosis and Pregnancy Rates Following Surgery for Proximal Tubal Obstructions in Cases of Unsuccessful Transcervical Tubal Procedures
..... H. Osada, T.K. Fujii, I. Tsunoda
Y. Yamada, K. Tsubata & K. Satoh 27
- The Stress of Infertility Patients and the Evaluation of Psychological Condition by the Cornell Medical Index
..... R. Watanabe, T. Goto, C. Kurahashi,
M. Sashiyama & T. Utsunomiya 35
- A Simplified Method for Lysis of Single Cells in PCR-based Preimplantation Genetic Diagnosis
..... T. Hashiba, K. Sueoka, M. Kuroshima
H. Asada, N. Kuji & Y. Yoshimura 41
- The Change of Semen Quality among Young Men
..... T. Nakai K. Miura N. Ishii A. Yoshida
K. Nagao H. Hara N. Ishii & M. Ueyama 45
- Pregnancy Rate Following Operative Laparoscopy in Infertile Patients with Endometriosis
..... Y. Kuribayashi, B. Ishizuka, J. Saito
T. Shiota, I. Sugawara & A. Amemiya 51

Case report

Spermatogenesis was Induced by hMG/Testosterone Therapy Kallmann's Syndrome :

A Case Report

..... *K. Miyaji, M. Murai, T. Aoyagi*

K. Hayakawa , H. Ishikawa, M. Hata

M. Oohashi & A. Izawa 57

Two Cases of Late Manifestation of Pelvic Inflammatory Disease (PID) after Oocyte

Retrieval

..... *T. Machida, T. Kamiya, R. Suzuki, K. Matsumoto*

S. Kikuchi, T. Kusaba & T. Kojima 61

Epidermoid Cyst of the Testis in a Patient with Klinefelter Syndrome

..... *A. Tohda, Y. Nakamura, N. Tsuboniwa, M. Yamanaka,*

M. Koga, H. Miura, K. Nishimura

K. Uchida, M. Kitamura, K. Matsumiya

A. Okuyama, T. Tsuji & Y. Okamoto 67

The Relationship between the Number of Growing Follicles and the Occurrence of Multiple Pregnancies in Women Treated with Gonadotropin

Xiaowei LIU, Kazumichi ANDOH, Takanori KAMIJO, Kiyohiko YAMADA,
Hideki MIZUNUMA* and Yoshito IBUKI

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

Abstract: Ninety-four conception cycles of 81 patients in 663 cycles of 183 infertile women treated with gonadotropin treatment were retrospectively examined to investigate the relationship between the number of growing follicles (≥ 14 mm) on the day of hCG administration and the occurrence of multiple pregnancies. Patients were divided into 6 groups according to the type of infertility as follows; macroprolactinoma (MA), hypothalamic amenorrhea (HA) I, HA II, polycystic ovary syndrome (PCOS), anovulatory cycles (AC), and unexplained infertility. Multiple pregnancies occurred if the number of growing follicles was only 2 or 3 in women with anovulatory infertility such as MA, HA II, and AC. Women with unexplained infertility had a low tendency of multiple pregnancy rate (5.0 %) compared to anovulatory infertility (21.6 %). In addition, patients with PCOS had a significant low rate (8.0 %) of multiple pregnancy when less than 4 follicles were induced whereas their multiple pregnancy rate was 52.6 % in the case of 5 or more follicles ($p=0.00141$). These results indicate that there appears to be the association between the number of growing follicles on the day of hCG administration and the risk of multiple pregnancy in women with PCOS.

Key words: gonadotropin/follicle/multiple pregnancy/polycystic ovarian syndrome

(Jpn J Fertil Steril 44:213-219 1999)

Introduction

Multiple pregnancy has dramatically increased since 1980 in developed countries, and this increase has caused serious complications during pregnancy and delivery. However, it is difficult to prevent multiple pregnancy in ovulation induction cycles. Despite the conventional use of human menopausal gonadotropin (hMG) and careful follicular monitoring including frequent ultrasound (US) and rapid sera hormone assays for oestradiol (E_2), progesterone (P), and luteinizing hormone (LH), the risk of multiple gestation is only slightly reduced¹. Recently, various stimulation protocols have been tried to prevent multiple pregnancy; hMG therapy combined with clomiphene citrate (CC), the pulsatile subcutaneous administration of human menopausal gonadotropin (hMG) or follicle-stimulating hormone (FSH)², the low dose pulsatile gonadotropin-releasing hormone (GnRH)³, the sequential

FSH-pulsatile GnRH treatment⁴, the step-down protocol⁵, and the low dose step-up protocol⁶. Furthermore, careful monitoring of serum FSH levels is suggested to improve the efficacy of gonadotropin treatment⁷. However, secular technology of monofollicular development is not yet fully developed. Subsequently, multiple follicular development cannot be completely prevented in ovulation induction using gonadotropin preparations.

Serum E_2 measurement and preovulatory ovarian scan are usually used to predict multiple pregnancy, but the results are controversial^{8,9}. In this study, we retrospectively examined the pregnancy outcome in infertile women undergoing gonadotropin treatment and investigated the relationship between the number of growing follicles on the day of human chorionic gonadotropin (hCG) administration and the occurrence of multiple pregnancies in women with various types of infertility.

*To whom correspondence should be addressed.

Materials and Methods

Patients and diagnosis of the type of infertility

We examined 94 conception cycles of 81 patients in 663 cycles of 183 infertile women who received gonadotropin therapy at the infertility clinic of Gunma University Hospital between January 1989 and September 1997. All infertile women kept basal body temperature (BBT) charts. Before the initiation of gonadotropin therapy, they had a hysterosalpingography (HSG) and their partners' semen was analyzed. Women with bilateral tubal occlusions indicated by a HSG or a severe oligozoospermia in their partners' semen analysis according to the World Health Organization¹⁰ criteria were excluded from this study. For the present analysis, the patients were divided into six groups according to the type of infertility as follows; macroprolactinoma, hypothalamic amenorrhea I, hypothalamic amenorrhea II, polycystic ovary syndrome (PCOS), anovulatory cycles, and unexplained infertility.

Macroprolactinoma was diagnosed by amenorrhea, galactorrhoea, the elevation of serum prolactin (PRL) level, and the presence of pituitary adenoma evaluated by X-ray and/or a computed tomography (CT) scan of the pituitary. All women in this study had received transsphenoidal excisions of pituitary adenomas. Hypothalamic amenorrhea was diagnosed by amenorrhea, normal level of serum PRL, normal or low-normal levels of LH and FSH, and normal response of serum LH and FSH to a 100 μ g luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) using a gonadorelin diacetate (LHRH, Tanabe Pharmaceutical Co., Tokyo, Japan). Women with hypothalamic amenorrhea were further divided into two groups according to the presence (hypothalamic amenorrhea I) or absence (hypothalamic amenorrhea II) of withdrawal bleeding after an intramuscular administration of 25-50mg of progesterone (Luteum, Teikoku Hormone Mfg. Co., Tokyo, Japan).

Diagnosis of PCOS was determined by the presence of amenorrhea, an elevated LH/FSH ratio of >2.0 with LH levels over 25mIU/ml, an exaggerated response of serum LH to a 100 μ g LHRH, high dehydroepiandrosterone sulfate levels, and multiple cysts in the ovaries indicated by US from 1989 to 1994⁹. Since 1995, the diagnosis of PCOS has been made when there

were menstrual disorders including amenorrhea or oligomenorrhea, an elevated serum level of LH with normal FSH (LH/FSH >1), polycystic ovaries indicated by US, and the presence of withdrawal bleeding after an intramuscular administration of 50mg of progesterone.

Women with anovulatory cycles were diagnosed by menstrual disorders including oligomenorrhea or anovulatory bleeding, occasional or persistent anovulatory cycles as revealed by BBT charts, and normal levels of serum LH, FSH, and PRL.

In women with ovulatory cycles, serum LH and FSH were measured and the response of serum PRL level to an intravenous administration of 500 μ g thyrotropin-releasing hormone (TRH) using a protirelin (TRH, Tanabe Pharmaceutical Co.) was examined to exclude an occulted hyperprolactinemia¹¹ on the 3rd-5th day of the menstrual cycle. Next, in the same cycle, a post-coital test was performed. To evaluate luteal function, when the maximal diameter of the dominant follicle reached 14-16mm, daily morning urine samples were collected until the urinary LH surge occurred. Urinary LH was measured with an Organon LH Color kit (N.V. Organon, Oss, The Netherlands) from 1989 to 1994, and thereafter was measured with a CLEARPLAN ONE STEP (Unipath Co., Bedford, England). The day of urinary LH surge was defined as day 0, and serum P levels were measured during the early luteal phase (day 3-5), the midluteal phase (day 6-8), and the late luteal phase (day 9-12). Endometrial dating was simultaneously performed during the midluteal or the late luteal phase¹². In the cases of no apparent causes of infertility, a laparoscopic examination was performed about 12 months later, if the pregnancy did not occur. The diagnosis of unexplained infertility was made when all the above mentioned examinations were within the limits of normality.

Stimulation Protocol

Gonadotropin treatment using hMG (Pergonal, Teikoku Hormone Mfg. Co.) was begun on the 3rd to 5th day of the menstrual cycle or when withdrawal bleeding induced by a 25-50mg intramuscular injection of progesterone began. Purified urinary FSH (Metrodin: Serono Laboratories, Aubonne, Switzerland, or Fertinorm P, Serono Japan Ltd., Tokyo, Japan)

was used in women with PCOS. Stimulation protocol was usually a conventional fixed dose regimen. That is, a starting dose of 150-225IU/day of gonadotropin was administered for 7 days. When follicular development was not observed by US, the amount of gonadotropin was increased by 75IU every a week. In some patients with PCOS, the step-down regimen⁹⁾ or the low dose step-up regimen reported by Buvat et al.¹³⁾ were performed to prevent ovarian hyperstimulation syndrome and multiple pregnancy. Gonadotropin treatment combined with a 2.5-10.0mg/day of bromocriptine (Parlodel, Sandoz Co., Tokyo, Japan) therapy was performed for women with macroprolactinoma. In our institute, gonadotropin treatment for women with unexplained infertility has been performed since 1994.

Monitoring of follicular development

US monitoring using a vaginal probe has been performed since 1988 in our institute. From 1988 to 1990, US monitoring used SSD 620 (Aloka Co., LTD, Tokyo, Japan) with a 5 MHz vaginal probe. Since 1991, SONOVISTA-cs or SONOVISTA-if (Mochida Pharmaceutical Co., LTD, Tokyo, Japan) with a 5.0-7.5 MHz vaginal probe has been used. US monitoring was carried out daily to determine the mean diameter of growing follicles in two dimensions. Five to ten thousand IU of hCG (Pregnyl, Organon Co., Tokyo, Japan) was administered on the day when the diameter of the dominant follicle reached 18mm. Cancellation of hCG administration was not carried out even if multiple follicles developed. Subsequently, 5,000IU of hCG was injected two or three times every 2 to 3 days to support luteal function, if the maximum diameter of the ovaries did not exceed 60 mm.

Pregnancy test

The pregnancy test was done using a TEST-PACK Plus hCG-urine (Abbott Laboratories, Chicago, IL) employing the immunochromatography assay. The sensitivity for hCG in urine was 50 mIU/ml from 1989 to 1994¹⁴⁾, and has been 25 mIU/ml since 1995. Pregnancy was diagnosed by a positive TEST-PACK Plus hCG-urine, ultrasonographic evidence of a gestational sac in the uterine cavity, and/or a histological finding of chorionic villi.

Statistical analysis

Statistical significance was analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Scheffe's method, Mann-Whitney's U test, and Fisher's exact probability test. A value of <0.05 was considered statistically significant.

Results

Clinical characteristics and result and pregnancy outcome

Table 1 presents clinical characteristics and result in women with various types of infertility undergoing gonadotropin treatments. Although there were no significant differences in the mean body mass index (BMI) among the pregnant patients (results not shown), women with unexplained infertility were significantly older ($p < 0.01$) than women with anovulatory infertility. Table 2 shows pregnancy outcome in pregnant women with various types of infertility. There were no significant differences in the pregnancy rates among the treated cycles in women with various types of infertility. Multiple pregnancies occurred in 17 cycles; a heterotopic pregnancy in one cycle, twins in 12 cycles, and triplets in 4 cycles. Although there were

Table 1 Clinical characteristics and result in women with various types of Infertility undergoing gonadotropin treatment.

Type of Infertility	No. of treatment patients	No. of pregnant patients(%)	Mean(±SD) age (years) of pregnant patients	No. of treatment cycles	No. of ovulatory cycles(%)
Unexplained Infertility	48	19 (39.6)	33.9±4.8*	126	126 (100)
Anovulatory Infertility	135	62 (45.9)	30.1±4.3*	537	506 (94.2)
Anovulatory cycles	13	5 (38.5)	31.6±5.1	33	30 (90.9)
PCOS	89	40 (44.9)	29.7±4.2	373	356 (95.4)
Hypothalamic Amenorrhea I	23	11 (47.8)	30.3±4.4	108	100 (92.6)
Hypothalamic Amenorrhea II	6	4 (66.7)	31.3±4.9	17	14 (82.4)
Macroprolactinoma	4	2 (50.0)	31.5±4.9	6	6 (100)

PCOS: polycystic ovarian syndrome.

*Mann-Whitney's U test: $p < 0.01$

Table 2 Pregnancy Outcome in pregnant women with various types of infertility undergoing gonadotropin treatment.

Type of Infertility	No. of pregnant cycles (%)*	No. of singleton pregnancies	No. of abortions	No. of ectopic pregnancies	No. of multiple pregnancies (%)	Twins	Triplets
Unexplained Infertility	20 (15.9)	18	1	0	1 (5.0)	1	0
Anovulatory Infertility	74 (14.0)	46	11	2	16 (21.6)	11	4
Anovulatory cycles	5 (15.2)	4	0	0	1 (20.0)	0	1
PCOS	50 (13.4)	31	8	1**	11 (22.2) **	7	3
Hypothalamic Amenorrhea I	12 (11.1)	7	3	1	1 (8.3)	1	0
Hypothalamic Amenorrhea II	5 (29.4)	3	0	0	2 (40.0)	2	0
Macroprolactinemia	2 (33.3)	1	0	0	1 (50.0)	1	0

PCOS: polycystic ovarian syndrome. *Pregnant cycles/treatment cycles.
 **A heterotopic pregnancy. This cycle was included in one of multiple pregnancies.

no significant differences in the multiple pregnancy rates among the women with various types of infertility, women with unexplained infertility had a low tendency of multiple pregnancy rate (5.0%) compared to anovulatory infertility (21.6%) (Fisher's exact probability test; p=0.0747).

Relationship between the number of growing follicles and the occurrence of multiple pregnancies

Figure 1 shows the relationship between the number of growing follicles over 14 mm in diameter on the day of hCG administration and the pregnancy outcome in 83 cycles of 76 patients with various types of infertility. Multiple pregnancy occurred even if the

number of growing follicles was only 2 or 3 in women with anovulatory cycles, hypothalamic amenorrhea II, and macroprolactinoma. There were no significant differences in the mean number of growing follicles among women with various types of infertility. Table 3 indicates the relationship between the number of growing follicles on the day of hCG administration and the rate of multiple pregnancies in women with PCOS. There was a significant difference in the rate of multiple pregnancies in PCO patients between cycles with number of follicles less than 4 and those with number of follicles 5 and more (Fisher's exact probability test; p=0.00141).

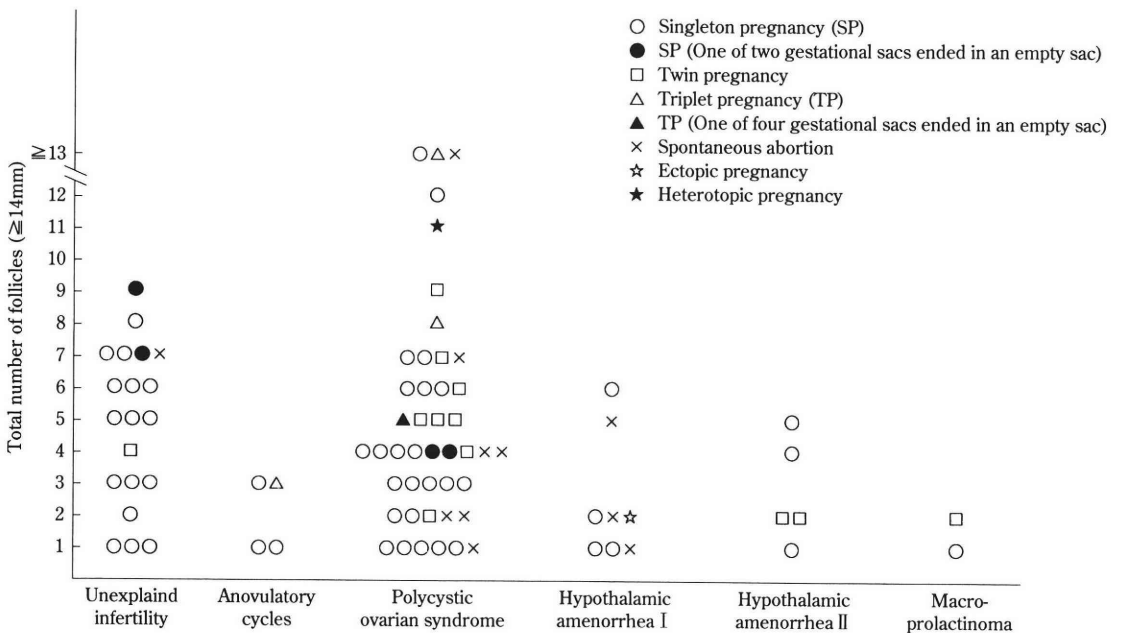


Figure 1 The relationship between the number of growing follicles (≥14mm) on the day of hCG administration and the pregnancy outcome in women with various types of infertility undergoing gonadotropin therapy.

Table 3 The number of growing follicles on the day of hCG administration and the rate of multiple pregnancies in women with PCOS.

The number of growing follicles (≥ 14 mm) on the day of hCG administration	No. of conceived cycles	No. of multiple pregnancies	The rate of multiple pregnancies (%)
1	6	0	0
2	5	1	20.0
3	5	0	0
4	9	1	11.1
≥ 5	19	10	52.6

Discussion

This study has demonstrated that there appears to be a different relationship between the number of growing follicles over 14mm in diameter on the day of hCG administration and the occurrence of multiple pregnancy in women with different types of infertility undergoing gonadotropin treatment. Especially, in women with PCOS, the risk of multiple pregnancy significantly increases when 5 or more follicles were induced.

Previous reports^{15, 16} using abdominal US have demonstrated that the number of preovulatory follicles at hCG administration influences the multiple pregnancy rate. Navot et al.⁹ have demonstrated that the presence of intermediate sized (15-17mm) follicles at the time of hCG administration after hMG induction of follicular maturation is predictive of, and independently associated with a higher incidence of multiple pregnancy in women with hypothalamic amenorrhea and ovulatory dysfunction of various etiologies treated with hMG/hCG therapy. Farhi et al.⁸ have also reported that the risk of multiple conception was directly related to the total number of leading (≥ 17 mm) and cohort follicles (≥ 14 mm) in both ovaries, rising from 7% with one leading follicle to 33% with six or more follicles in women with anovulatory infertility treated by gonadotropin or pulsatile GnRH therapy. Thus, when there are more than four mature follicles, the chance for multiple gestation beyond twinning is greater than if only two or three mature follicles are induced¹⁷.

On the other hand, Dickey et al.¹⁸ have shown that the outcome after hMG intrauterine insemination 424 infertile women with ovulatory dysfunction, endometriosis, tubal adhesion, and unexplained infertility, was related to the number of follicles ≥ 12 mm, to E_2 , and to age. However, they have concluded that neither the number of follicles ≥ 15 mm nor ≥ 18 mm in

diameter on the day of hCG administration were predictive of pregnancy nor multiple gestation. Ben Nun et al.¹⁹ have demonstrated that the number and size of follicles abdominally or vaginally visualized on the day of hCG administration have no predictive value regarding the occurrence of a multiple gestation in women with ovulatory dysfunctions (PCOS, normo-prolactinemic anovulation, hypogonadotropic hypogonadism, and hyperprolactinemia) stimulated with menotropin. Moreover, Goldenberg et al.²⁰ have reported that oestradiol levels and ovarian transvaginal US did not provide criteria for the prediction of occurrence of multiple pregnancies in 68 cycles of 51 women with chronic anovulation stimulated with menotropin.

Our present results are compatible with previous reports^{8, 9} showing that the number of growing follicles has a positive correlation with the rate of multiple pregnancy. One of the reasons for previous controversial results^{8, 9, 19, 20} may be the difference between subjects regarding their cause of infertility. Even in our study, there was no significant difference between the number of growing follicles and the occurrence of multiple pregnancy if all subjects were examined together. The present study demonstrated that the risk of multiple pregnancy did not increase in case of less than 4 follicles in women with PCOS. This study also presented that women with unexplained infertility were significantly older than women with anovulatory infertility and had a low tendency of multiple pregnancy rates compared to women with anovulatory infertility. In IVF outcome for PCOS, the fertilization rate and cleavage rate was significantly lower in women with PCOS than in patients with tubal factor infertility, although there was no difference in the pregnancy rate²¹. Moreover, the rate of multiple pregnancy in women with unexplained infertility was significantly lower (8.8%) than in women with anovulatory infertility (39.0%), although

the number of follicles grown and the total doses of hMG were not significantly different in the two groups²²⁾. These facts suggest that there may be a problem of the oocyte quality in women with PCOS and unexplained infertility.

Our results indicate that hCG administration should be withheld to prevent multiple gestation if 5 or more follicles over 14 mm in diameter were induced on the day of hCG administration in women with PCOS stimulated with gonadotropin. It is generally accepted that the best protection against multiple pregnancy to induce a monofollicular development in women undergoing gonadotropin treatment. Recently, low dose FSH therapy was advocated for women with PCOS and the monofollicular cycle rates reportedly reached 55-74%^{6, 13, 23, 24)}. However, about 2-20% cycles resulted in multiple follicular cycles. So cancellation of hCG administration was performed when more than 3 follicles (≥ 15 -16mm) were developed. Our results have supported the justification of this cancellation in women with PCOS.

In conclusion, although the number of subjects in this study is limited, there appears to be the association between the number of growing follicles on the day of hCG administration and the risk of multiple pregnancy in women with PCOS.

References

- 1) Check JH, Chase JS, Adelson HG, et al. (1993) A conservative treatment protocol with human menopausal gonadotropins aimed at reducing multiple births. *J Perinat Med* 21 : 315-319
- 2) Nakamura Y, Yoshimura Y, Yamada H, et al. (1989) Clinical experience in the induction of ovulation and pregnancy with pulsatile subcutaneous administration of incidence of multiple pregnancy. *Fertil Steril* 51 : 423-429
- 3) Filicori M, Flamigni C, Dellai P, et al. (1994) Treatment of anovulation with pulsatile gonadotropin-releasing hormone: prognostic factors and clinical results in 600 cycles. *J Clin Endocrinol Metab* 9 : 1215-1220
- 4) Kuwahara A, Matsuzaki T, Kaji H, et al. (1995) Induction of single ovulation by sequential follicle-stimulating hormone and pulsatile gonadotropin-releasing hormone treatment. *Fertil Steril* 64 : 267-272
- 5) Mizunuma H, Takagi T, Yamada K, et al. (1991) Ovulation induction by step-down administration of purified urinary follicle-stimulating hormone in patients with polycystic ovarian syndrome. *Fertil Steril* 55 : 1195-1196
- 6) Hamilton Fairley D, Kiddy D, Watson H, et al. (1991) Low-dose gonadotropin therapy for induction of ovulation in 100 women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 6 : 1095-1099
- 7) Ben Rafael Z, Levy T and Schoemaker J (1995) Pharmacokinetics of follicle-stimulating hormone: clinical significance. *Fertil Steril* 63 : 689-700
- 8) Farhi J, West C, Patel A, et al. (1996) Treatment of anovulatory infertility: the problem of multiple pregnancy. *Hum Reprod* 11 : 429-434
- 9) Navot D, Goldstein N, Mor Yosef S, et al. (1991) Multiple pregnancies: risk factors and prognostic variables during induction of ovulation with human menopausal gonadotrophins. *Hum Reprod* 6 : 1152-1155
- 10) World Health Organization (1987) WHO laboratory manual for examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. Cambridge University Press, Cambridge. UK
- 11) Archer DF (1987) Prolactin response to thyrotropin-releasing hormone in women with infertility and/or randomly elevated serum prolactin levels. *Fertil Steril* 47 : 559-564
- 12) Andoh K, Mizunuma H, Hasegawa Y, et al. (1992) Association of immunoreactive-inhibin levels with luteal function. *Horm Res* 37(suppl1) : 37-40
- 13) Buvat J, Buvat Herbaut M, Marcolin G, et al. (1989) Purified follicle-stimulating hormone in polycystic ovary syndrome: slow administration is safer and more effective. *Fertil Steril* 52 : 553-559
- 14) Kawakami Y, Andoh K, Mizunuma H, et al. (1993) Assessment of the implantation site by transvaginal ultrasonography. *Fertil Steril* 59 : 1003-1006
- 15) Sallam HN, Marinho AO, Collins WP, et al. (1982) Monitoring gonadotropin therapy by real-time ultrasonic scanning of ovarian follicles. *Br J Obstet Gynecol* 89 : 155-159
- 16) Stone SC, Schimberni M, Schuster PA, et al. (1987) Incidence of multiple gestations in the presence of two or more mature follicles in the conception cycle. *Fertil Steril* 48 : 503-504
- 17) Fleischer AC and Vasquez J (1996) Transvaginal sonography scanning in gynecologic infertility. In: Fleischer AC, Manning FA, Jeanty P, et al. (eds), *Sonography in obstetrics and gynecology: principles and practice*. Appleton 7 Lange, Connecticut, pp913-929
- 18) Dickey RP, Olar TT, Taylor SN, et al. (1991) Relationship of follicle number, serum estradiol, and other factors to birth rate and multiparity in human

- menopausal gonadotropin-induced intrauterine insemination cycles. *Fertil Steril* 56 : 89-92
- 19) Ben Nun I, Cohen I, Shulman A, et al. (1993) The inability of preovulatory ovarian scan to predict multifetal pregnancy occurrence in a follow-up of induction of ovulation with menotropins. *Fertil Steril* 60 : 781-781
- 20) Goldenberg M, Ravinovic J, Shalev J, et al. (1994) Lack of association between ovarian follicular size and number and the occurrence of multiple pregnancies in menotropin cycles. *Gynecol Endocrinol* 8 : 83-87
- 21) Buyalos RP and Lee CT (1996) Polycystic ovary syndrome: pathophysiology and outcome with in vitro fertilization. *Fertil Steril* 65 : 1-10
- 22) Ishihara O, Ihno Y, Saitoh M, et al. (1994) Risk and benefits of gonadotropin therapy for infertile patients with ovulatory cycles. *Acta Obstet Gynecol Jpn* 46 : 221-226
- 23) Strowitzki T, Seehaus D, Korell M, et al. (1994) Low-dose follicle stimulating hormone for ovulation induction in polycystic ovary syndrome. *J Reprod Med* 39 : 499-503
- 24) White DM, Polson DW, Kiddy D, et al. (1996) Induction of ovulation with low-dose gonadotropins in polycystic ovary syndrome: an analysis of 109 pregnancies in 225 women. *J Clin Endocrinol Metab* 81 : 3821-3824

(Received April 19, 1999)

(Accepted May 21, 1999)

ゴナドトロピン療法例の発育卵胞数と多胎妊娠発生との関連

群馬大学医学部産科婦人科学教室

劉 曉偉, 安藤一道, 上条隆典, 山田清彦
水沼英樹, 伊吹令人

1989年1月から1997年9月の間に、排卵障害例(マクロプラクチノーマ(MA)、視床下部性第I度無月経(HA I)、視床下部性第II度無月経(HA II)、多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)、無排卵周期症(AC))および機能性不妊例に対しゴナドトロピン療法を実施した183症例663周期のうち、妊娠成立した81例94周期について、後方視的にhCG切り替え日の14mm以上の発育卵胞数と多胎妊娠発生との関連を検討した。MA、HA II、およびACでは発育卵胞数が2~3個の場合でも多胎妊娠を認めた。一方、機能性不妊の発育卵胞数は排卵障害例と有意差を認めないが、多胎妊娠率は5.0%と排卵障害例(21.6%)に比べ低い傾向を示した。またPCOSの場合、発育卵胞数が5個以上の場合の多胎妊娠率は52.6%であり、4個以下の場合(8.0%)に比べ有意(p=0.00141)に高頻度であった。以上の結果から、PCOSに対するゴナドトロピン療法においては、hCG切り替え日の14mm以上の発育卵胞数と多胎妊娠発生に関連があることが示唆された。

(日不妊会誌 44:213-219 1999)

腹腔鏡下子宮内膜症性嚢胞の核出術前後における 卵巣の過排卵誘発に対する反応性の検討

Effect of Laparoscopic Enucleation of Endometrioid Cysts and Ovarian on the Response to Ovarian Hyperstimulation

愛媛大学医学部産科婦人科学教室

武田 裕子
Yuuko TAKEDA
吉本 勲
Isao YOSHIMOTO

福井 敬介
Keisuke FUKUI
越智 博
Hiroshi OCHI

堀 玲子
Reiko HORI
伊藤 昌春
Masaharu ITO

Department of Obstetrics and Gynecology, Ehime University,
School of Medicine, Ehime 791-0295, Japan

不妊患者において内膜症性嚢胞の存在は、排卵障害や過排卵誘発に対する反応性の低下を来すことが知られている。腹腔鏡下嚢胞核出術はその治療法として有用であるが、手術時期を決定する上での明確な基準はない。本研究は内膜症性嚢胞核出術前後の過排卵誘発に対する卵巣の反応性を基に手術適応基準を設定することを目的とした。当科にて腹腔鏡下内膜症性嚢胞核出術を施行した不妊症(n=8)を対象とし、核出術前後の過排卵誘発に対する発育卵胞数の変化およびそれに及ぼす嚢腫径の影響を後方視的に調査した。核出術により術後の平均発育卵胞数は有意に増加した(0.7 ± 0.6 個 vs. 1.9 ± 1.1 個, $p < 0.05$)。しかし嚢胞径が35mm未満の群と比較して35mm以上の群においては、術後発育卵胞数が有意に少なかった(2.9 ± 0.7 vs. 1.4 ± 0.6 , $p < 0.02$)。以上より、過排卵誘発を必要とする不妊患者において嚢胞径が35mmを越える前に核出術を考慮すべきである。

キーワード：腹腔鏡、子宮内膜症性嚢胞、過排卵誘発

(日不妊会誌 44:221-225 1999)

緒 言

不妊患者において内膜症性嚢胞の存在は、排卵障害や過排卵誘発のレスポンス低下を来すことが知られている¹⁾。その対策のひとつとして嚢胞核出術が挙げられるが、手術時期を決定する上での明確な基準はない。本研究は内膜症性嚢胞核出術前後の過排卵誘発における発育卵胞数の変化を基に、過排卵誘発を必要とする不妊症患者における内膜症性嚢胞の新たな手術適応基準を設定することを目的とした。

対象および方法

平成6年12月から10年10月までに当科にて腹腔鏡

下内膜症性嚢胞核出術を施行した不妊患者のうち、手術前後に同一の方法で過排卵誘発を行った8症例を対象とし、下記の1~4)の内容について後方視的に検討を行った。過排卵誘発法は3例に対してクロミフェン(クロミッド：塩野義)2錠/日を月経5日目から5日間投与し、5例に対してhMG製剤(ヒュメゴン：オルガノン)150単位を月経3日目から連日投与した。経腔超音波を用いて左右の卵巣を経時的に観察し、卵胞径が16~18mm以上に達した卵胞数をそれぞれカウントした。複数回の誘発を行った症例については平均の発育卵胞数を算定した。hCGの投与はクロミフェン投与例では主席卵胞径が20mm、hCG投与例で18mmに達した時点でを行った。

1 検討内容

- 1) 過排卵誘発における術前の健側卵巣と患側卵巣の発育卵胞数の比較 (n=3).
- 2) 術前後の過排卵誘発における発育卵胞数の比較 (n=8).
- 3) 術前後の過排卵誘発における発育卵胞数におよぼす嚢腫径の影響 (n=8).
- 4) 術前後の過排卵誘発における発育卵胞数におよぼす卵巣周囲癒着の影響 (n=8).

2 腹腔鏡下卵巣嚢腫核出術

術式は全身麻酔下に気腹操作を行い、臍直下および左右の下腹部の計3箇所5mmのトロカール(エチコン)を挿入し骨盤内を観察した。嚢胞周囲の癒着について附属器癒着スコア²⁾を用いてスコアリングを行った。全例に対して卵巣の可動性が十分に得られ、卵巣表面の膜様癒着を完全に除去する様に剥離鉗子(stryker)、クーバー(stryker)およびバイポーラ鉗子(オリンパス)を用いて卵巣周囲癒着の剥離操作を行った。次に16G穿刺針(八光)あるいはS.A.N.Dパルーンカテーテル(八光)にて内容を漏出しないように吸引洗浄し、穿刺部位を中心に嚢胞壁に切開を加え、正常卵巣から嚢胞を鈍的かつenblocに体内法を用いて核出した。核出後の卵巣は原則として縫合は行わず、バイポーラのみでは止血できなかつた3例に対して2-0吸収糸(vicryl:エチコン)にて止血縫合を行った。

数値は平均値±標準偏差で示し、統計学的有意差はWilcoxon-singed rank検定およびMann-Whioney U検定を用いて行った。

成績

各症例における年齢、不妊期間、過排卵誘発法、嚢腫サイズ、附属器癒着スコア(患側卵巣のみに関する)を表1に示した。平均年齢は33.6±1.9歳、平均不妊期間は4.8±2.4年、嚢腫の平均直径は32.5土

6.3mm、平均癒着スコアは3.9±3.4点であり、摘出した腫瘍サイズは比較的小さいものが多かった。

術前の内膜症性嚢胞の過排卵誘発に対する反応性を同一症例の患側卵巣と健側卵巣との間で比較した(n=3)。患側卵巣の過排卵誘発に対する平均発育卵胞数は0.7±0.6個であり、健側卵巣(3.0±1.0個)の約1/3まで低下していた。

術前の患側卵巣における過排卵誘発時の8症例の平均発育卵胞数は0.8±0.6個とレスポンスは低下していたが、術後においては2.1±1.1個と有意に増加を認めた(p<0.05)(図1)。

内膜症性嚢胞径の術後の過排卵誘発における発育卵胞数におよぼす影響について検討した。内膜症性嚢胞径と術後の増加発育卵胞数との相関直線(相関式)から35mmを境に増加卵胞数が1個未満の低値を示すことから(図2)、嚢胞径が35mm以上のlarge群(n=4)と35mm未満のsmall群(n=4)とに分け、術前後の過排卵誘発に対する平均発育卵胞数を比較した。術前における両群の平均発育卵胞数に差は見られなかったが(0.8±0.5個 vs. 0.8±0.5個)、術後の発育卵胞数は、small群の2.9±0.7個に比較してlarge群は1.4±0.6個と発育卵胞数は有意に低値を示した(p<0.02)

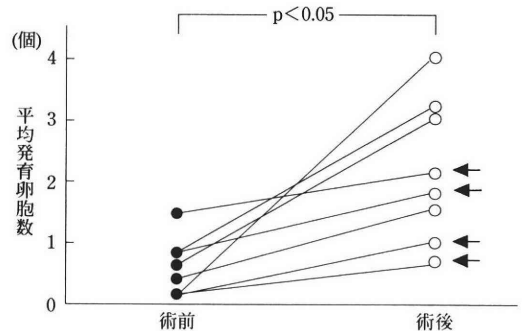


図1 内膜症性嚢胞核出術の排卵誘発における発育卵胞数におよぼす影響 (矢印は嚢腫径35mm以上のlarge群)

表1. 子宮内膜症性嚢胞核出術を行った8症例におけるプロフィール

症例	年齢	不妊期間	誘発法	平均嚢腫直径	癒着スコア(16点満点)
a	36	9	hMG	30	8
b	29	3	hMG	34	2
c	34	4	クロミフェン	37	1
d	34	8	hMG	35	8
e	34	4	hMG	37	1
f	34	3	クロミフェン	35	8
g	29	3	hMG	18	1
h	34	4	hMG	34	2

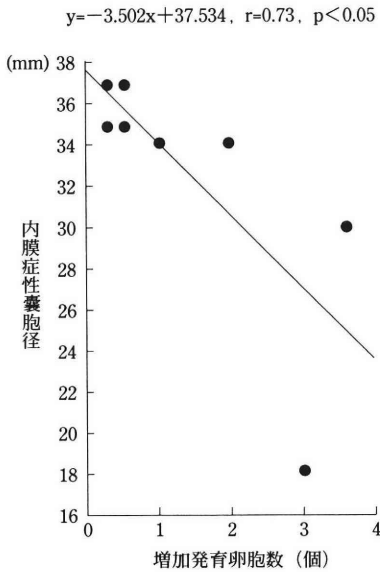


図2 内膜症性嚢胞径と術後の排卵誘発における増加発育卵胞数の相関

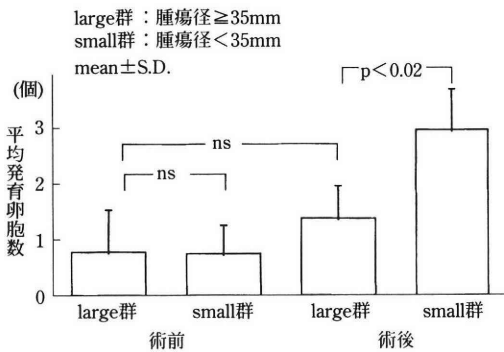


図3 核出術前後の排卵誘発における発育卵胞数におよぼす嚢腫径の影響

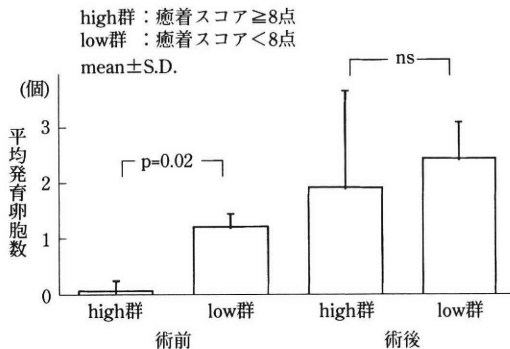


図4 核出術前後の排卵誘発における発育卵胞数におよぼす排卵周囲癒着の影響

(図3). なお両群間において平均年齢, 付属器癒着スコアに有意差はなかった.

内膜症性嚢胞を有する卵巣の周囲癒着が術前後の過排卵誘発における発育卵胞数におよぼす影響について検討した. 付属器癒着スコア²⁾のうち患側の卵巣周囲の癒着スコアが16点満点中, 8点以上のものをhigh群(n=3), 8点未満のものをlow群(n=5)とし, 術前後の平均発育卵胞数を両群で比較した. 術前ではlow群の1.2 \pm 0.2個に比較してhigh群は0.1 \pm 0.2個と発育卵胞数は有意に低値を示した(p<0.02). 術後では, 両群の平均発育卵胞数に差は見られなかった(2.3 \pm 0.6個 vs. 1.8 \pm 1.6個)(図4).

考 察

子宮内膜症の不妊患者における内膜症性嚢胞の存在の有無はダナゾール療法や体外受精胚移植術(IVF-ET)などの不妊治療の予後に影響しないと報告されている^{3,4)}. しかし, 卵管性不妊をはじめとする他の不妊原因に比べて内膜症性嚢胞の存在はIVF-ETにおける過排卵誘発におけるレスポンスの低下や胚の質の低下を招き, 妊娠成績は良好でないとする報告が存在する^{1,5)}. その対策としてGnRHa投与などの薬物療法⁶⁾, 採卵時の嚢腫穿刺吸引⁷⁾, IVF-ET施行前の腹腔鏡手術⁶⁾が有効とされる.

しかし, 内膜症性嚢胞のむやみな核出は過排卵誘発におけるpoor-responderの発生も報告されている⁸⁾. 現在のところIVF-ETなどの過排卵誘発を必要とする不妊患者において内膜症性嚢胞を如何に扱うかについての統一の見解はない. 我々は核出前後の過排卵誘発効果の変化と嚢腫サイズとの関連に着目し, 如何なる時期に核出をすべきかを研究課題とした. 今回の検討において嚢胞の核出によって術前に比して過排卵誘発に対するレスポンスが不良となった症例はなく, 全体平均としては卵胞数は増加することが明らかとなった. しかし, 嚢腫サイズの35mm以上の症例では35mm以下の症例に比較して発育卵胞の増加数は少なく, 術後の有意な増加は見られなかった.

内膜症性嚢胞が過排卵誘発における卵胞発育障害をおこす理由の一つとしてmass-effectが挙げられる. すなわち卵巣実質での血流阻害により卵胞に対するゴナドトロピン刺激が減少し, 卵胞発育に障害をもたらすと推測される. 実際, 子宮内膜症患者ではLHサーージ時の血中エストラジオール値が低く, 卵胞径が小さいことやそれに引き続く黄体期のプロゲステロン値も低いことが報告されている^{9,10)}. また,

卵巣周囲の癒着により骨盤内臓器の解剖学的位置異常を招き発育卵胞数自体が減少するという報告もある^{11,12)}。今回の検討においても患側卵巣の過排卵誘発に対する反応性は健側に比して有意に低下していた。また、患側卵巣周囲の癒着の程度に比例して反応性が低下しており、massおよび卵巣周囲癒着によるmechanicalな因子が反応性の低下を来することが確認され、外科的にこれらを切除することによって過排卵誘発の反応性が改善することが明らかとなった。

しかし、内膜症性嚢胞径が35mm以上のlarge群においては術前と比較した卵胞の増加数は35mm以下のsmall群に比較して減少していることが明らかとなった。この理由として手術操作においては止血操作に縫合を加える可能性が高くなり、その結果、血流障害を招くことや切除した嚢腫壁に含まれる原始卵胞数が増加することが推察された。本検討においても止血操作を行っていた3症例はすべてlarge群であった。

また嚢胞のmass-effectやその周囲の炎症性細胞の影響により、既に原始卵胞が減少して不可逆的变化を来していることも推察される。これに関連した報告としてKaplanら¹¹⁾は内膜症性嚢胞の家兎モデルを用いた興味深い実験を行っている。彼らは卵巣内に脂肪組織および子宮内膜組織を外科的に移植し、過排卵誘発時の卵胞発育を観察した。その結果、癒着を生じていた卵巣では双方とも卵胞発育が抑制されていたが、癒着のない卵巣でも内膜組織移植群においては卵胞発育の抑制を認めた。彼らは、内膜組織の移植により卵巣にはmechanicalな癒着以外の何らかのbiochemicalな因子が作用して卵胞発育障害が起こると考察している。内膜症性嚢胞において卵胞径が35mm程度の比較的小さな嚢胞によっても卵胞発育が障害されることはmechanicalなmass-effectのみでは説明しがたい現象である。Large群における卵胞発育障害にはマクロファージやリンパ球からのサイトカインなどのbiochemicalな因子が関与し卵胞発育に障害を来している可能性が考えられる¹³⁾。未だ、具体的な結論がでておらず、今後は嚢胞核出時に生検により原始卵胞の数や分布、浸潤した炎症性細胞の分布や表面マーカーの検討、卵巣静脈中の各種サイトカインの検討により、病態を解明する必要がある。

文 献

- 1) Wardle PG, Mitchell JD, McLaughlin EA, et al. (1985) Endometriosis and ovulatory disorder: Reduced fertilisation *in vitro* compared with tubal and unexplained infertility. *Lancet* 2:236-239
- 2) Hoshiai H. (1989) Laparoscopic studies for pelvic endometriosis in relation to sterility. *Acta Obst Gynaec Jpn* 41: 990-999
- 3) Tadayuki I, Hideaki M, Teturo S, et al. (1994) Influence of ovarian endometrioma on fertility. *Am J Obstet Gynecol* 171:541-545
- 4) Isaacs JD jr, Hines RS, Sopelak VM, et al. (1997) Ovarian endometriosis do not adversely affect pregnancy success following treatment with *in vitro* fertilization. *J Assist Reprod Gen* 14: 551-553
- 5) O Shea RT, Chen C, Weiss T, et al. (1985) Endometriosis and *in vitro* fertilization. *Lancet* 2: 723
- 6) Huang-HY, Lee-CL, Lai-YM, et al. (1997) The outcome of *in vitro* fertilization and embryo transfer therapy in women with endometriosis failing to conceive after laparoscopic conservative surgery. *J Am Assoc Gynecol Laparo* 4: 299-303
- 7) Dicker D, Goldman JA, Feldberg D, et al. (1991) Transvaginal ultrasonic needle-guided aspiration of endometriotic cysts before ovulation induction for *in vitro* fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Trans* 8: 286-289
- 8) 小林善宗, 本田育子, 井上正人(1997) チョコレート嚢腫摘出術後のPoor responderはどうするか. *臨産* 51:620-623
- 9) Tummon IS, Maclin VM, Radwanska E, et al. (1988) Occult ovulatory dysfunction in women with minimal endometriosis or unexplained infertility. *Fertil Steril* 50:716-720
- 10) Harlow CR, Cahill DJ, Maile LA, et al. (1996) Reduced preovulatory granulosa cell steroidogenesis in women with endometriosis. *J Clin Endocr Metab* 81:426-429
- 11) Kaplan CR, Eddy CA, Olive DL, et al. (1989) Effect of ovarian endometriosis on ovulation in rabbits. *Am J Obstet Gynecol* 14:40-44
- 12) Simon C, Gutierrez A, Vidal A, et al. (1994) Outcome of patient with endometriosis in assisted reproduction results from *in vitro* fertilization and oocyte donation. *Hum Reprod* 9:725-729
- 13) Punnonen J, Teisala K, Ranta H, et al. (1996) Increased levels of interleukin-10 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 174:1522-1526

(受付: 1999年 3月31日)

(受理: 1999年 5月24日)

**Effect of Laparoscopic Enucleation of Endometrioid Cysts and
Ovarian on the Response to Ovarian Hyperstimulation**

Yuuko Takeda, Keisuke Fukui, Reiko Hori, Isao Yoshimoto, Hiroshi Ochi, Masaharu Ito

Department of Obstetrics and Gynecology, Ehime University,
School of Medicine, Ehime 791-0295, Japan

The presence of endometrioid cysts causes an ovulatory disorder and a low response to ovarian hyperstimulation. These effects may be improved after laparoscopic enucleation of the lesion. However, no definite criteria for the opportunity of operations have been established. This study was performed to define a criterion based on the response to ovarian hyperstimulation. Eight infertile patients having endometrioid cysts who underwent laparoscopic enucleating surgery, and investigated for the numbers of mature follicles during ovarian hyperstimulation. Numbers of follicles for ovarian hyperstimulation after the operation significantly increased as compared with those before the operation (0.7 ± 0.6 vs. 1.9 ± 1.1 , $p < 0.05$). Furthermore, in subjects with large cysts (> 35 mm), the numbers of increased follicles after the operation were significantly small than those in subjects with small cysts (< 35 mm) (1.4 ± 0.6 vs. 2.9 ± 0.7). In conclusion, infertile patients with endometrioid cysts, who needed ovarian hyperstimulation, should undergo enucleation surgery before the diameter of the endometrioid cysts are less than 35mm.

Key words: laparoscopy, endometrioid cysts, ovarian stimulation.

(Jpn J Fertil Steril 44:221-225 1999)

精子自動分析装置による精子運動能の解析と妊孕能の検討

Evaluation of Sperm Motility and Fertility Using a Computer-aided Sperm Analyzer

千葉大学医学部泌尿器科学教室

梶井 真	市川 智彦	小宮 顕
Makoto MASUI	Tomohiko ICHIKAWA	Akira KOMIYA
川名 庸子	鈴木 啓悦	伊藤 晴夫
Youko KAWANA	Hiroyoshi SUZUKI	Haruo ITO

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

国保旭中央病院泌尿器科

鈴木 規之	村上 信乃
Noriyuki SUZUKI	Shino MURAKAMI

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

川崎製鉄千葉病院泌尿器科

始 関 吉 生
Yoshio SHISEKI
Department of Urology, Kawasakietsu Chiba Hospital, Chiba 260-0842, Japan

千葉大学泌尿器科に不妊を主訴として受診し、顕微鏡下の肉眼的計測による精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の特発性男性不妊症患者(以下、患者群)を対象とした。同時に精子自動分析装置による精液検査を行い、得られた計測値を用いて精子運動能と妊孕性の関係ならびに、精子自動分析装置の有用性について検討した。

- 1) 患者群の妊娠例は、拳児を確認された健常成人男性(以下、正常群)と比較して運動率は有意に低かったが、精子速度、直進性および頭部振幅はほぼ同じであった。
- 2) 患者群の妊娠例と非妊娠例の精子運動能を比較すると、妊娠例の方が精子運動率、精子速度、直進性、頭部振幅のいずれもが非妊娠例より有意に高値を示した。
- 3) 患者群の内、正常群の平均精子速度である $37(\mu\text{m}/\text{sec})$ 以上の群と37未満の群に分けると、37以上の群の方が妊娠率が有意に高かった。
- 4) また、正常群の平均頭部振幅である $2.1(\mu\text{m})$ 以上の群と2.1未満の群に分けると、2.1以上の群の方が妊娠率が有意に高かった。

従って、精子運動率の他に、精子速度、直進性、頭部振幅などの精子運動能が妊娠の有無と関係していた。また、これらの精子運動能のパラメーターの中で、精子速度や頭部振幅が有用であった。

以上のことより、精子自動分析装置による精子運動能の解析は特発性男性不妊症の妊孕性を検討する上で有用であると考えられた。

キーワード：精子自動分析装置、精子運動能、妊孕性、特発性男性不妊症

緒 言

男性不妊症に対する基本的な検査として、従来よりMakler chamberなどによる顕微鏡下の精液検査が行われてきた。この方法では精子運動能を求めることはできるが、詳細な精子の運動能を客観的な数値として得ることはできなかった。1991年Levinら¹⁾により精子自動分析装置が報告され、その後も種々の改良が加えられ、精子濃度、精子運動率の他に、精子運動速度、精子運動の直進性、精子頭部振幅などの精子運動能を定量分析できるようになった。今回、我々は特発性男性不妊症のうち、精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上とWHOの基準を満たす症例における精子自動分析装置の有用性を見るために、それにより得られた各種精子運動能パラメーターと妊孕性の関係について検討した。

対象および方法

1992年1月から1998年10月までに、千葉大学医学部附属病院泌尿器科に不妊を主訴として受診し、特発性男性不妊症と診断され、かつ、顕微鏡下の肉眼的計測による精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の症例を対象とした。これらの経過観察中、あるいはその後のアンケート調査により、妊娠が確認された53例(自然妊娠43例、顕微・体外受精を除く人工授精10例)、あるいは不妊期間が3年以上の非妊娠症例50例の合計103例を患者群として、精子自動分析装置による精子運動能を検討した。対照として、結婚後1年以内に(避妊期間を除く)妊娠し、拳児を確認された健康成人男性17例を正常群として比較した。

精液は禁欲5日後、用手法にて採取し、室温にて30分静置の後、まず、顕微鏡下の肉眼的計測により、精子濃度、運動率を求めた。同時に精子自動分析装置により、精子濃度、運動率のほか、各種精子運動能パラメーター〔運動速度($\mu\text{m}/\text{sec}$)、直進性、平均頭部振幅(μm)〕を測定した。精子自動分析装置は、Cell Soft Series 3000(CRYO Resource社)を用いた。パラメーターは始関ら²⁾の報告に従い、Frame数15(30Hz)、Velocity 10.00~150.00 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 、4~25 pixels (Pixel Scale 0.688microns)、また、精漿中のdebrisの影響を調整するため、Threshold Grey Levelを110~125に設定した。Cell Softの測定は解析精子数が、150個以上を原則とした。肉眼的計測ならびに精子自動分析装置による精液検査は、原則として初診時に1週間以上の間隔をおいて2回行い、その平均値を用いて解析した。また、患者群の妊娠例につ

いても、初診時の平均値をもって解析した。今回対象とした患者においては、肉眼的計測および、自動分析により得られた精子濃度と運動率は、ほぼ一致していた。〔自動分析濃度($\times 10^6/\text{ml}$)=0.99 \times 肉眼濃度($\times 10^6/\text{ml}$) $-9 \times 10^6/\text{ml}$, $r=0.90$; 自動分析運動率(%)=1.06 \times 肉眼運動率(%) -4% , $r=0.93$ 〕。統計的解析はt検定または χ^2 検定を用いた。数値は平均 \pm 標準偏差(M \pm SD)で表した。

結 果

1 全症例における精子運動能の比較

患者群(103例)、正常群(17例)の精子運動能を比較すると、不妊症群の運動率は正常群と比較して有意に低かった(表1)。

表1 全症例における精子運動能の比較

	患者群(103)	正常群(17)
精液量(ml)	3.4 \pm 1.4	2.7 \pm 2.2
濃度($\times 10^6/\text{ml}$)	75 \pm 47	95 \pm 56
運動率(%)	50 \pm 22*	68 \pm 13*
速度($\mu\text{m}/\text{sec}$)	34 \pm 6	37 \pm 8
直進性	4.9 \pm 0.7	5.0 \pm 0.9
振幅(μm)	2.1 \pm 0.5	2.1 \pm 0.4

*p<0.01

2 妊娠例における精子運動能の比較

次に、患者群103例のうち、53例(51%)に妊娠を認めたと、妊娠例における精子運動能を比較すると、不妊症群における妊娠例は正常群と比較して運動率は有意に低かったが、その他のパラメーターに有意な差はなかった(表2)。

表2 各群の妊娠例における精子運動能の比較

	患者群(53)	正常群(17)
濃度($\times 10^6/\text{ml}$)	80 \pm 49	95 \pm 56
運動率(%)	55 \pm 19*	68 \pm 13*
速度($\mu\text{m}/\text{sec}$)	37 \pm 6	37 \pm 8
直進性	5.1 \pm 0.6	5.0 \pm 0.9
振幅(μm)	2.2 \pm 0.4	2.1 \pm 0.4

*p<0.05

3 患者群における妊娠例、非妊娠例の比較

不妊症群103例中、その後53例に妊娠を認め(自然妊娠43例、顕微・体外受精を除く人工授精10例)、3年以内に妊娠に至らずその後も妊娠が確認されていない症例は50例であった。それら妊娠例、非妊娠例についてそれぞれ患者背景(結婚時夫年齢、結婚時妻年齢、不妊期間、精巣容積、内分泌学検査所見)につ

いて比較した。不妊期間は妊娠例の方が有意に短かったが、それ以外では両群に有意差はなかった(表3)。

表3 患者群における妊娠例、非妊娠例の比較

	妊娠例(53)	非妊娠例(50)
結婚時夫年齢	30±3	30±5
結婚時妻年齢	27±3	27±4
不妊期間(月)	50±28*	66±28*
精巢容積(cc)	21±4	21±3
LH (mIU/ml)	2.8±1.5	2.9±1.5
FSH (mIU/ml)	5.1±3.0	4.8±1.8
T (ng/ml)	3.9±1.3	4.2±1.5
PRL (ng/ml)	15±9.4	13±4.4

*p<0.01

次に、患者群における妊娠例、非妊娠例の精子運動能を比較すると、妊娠例の方が、運動率、精子速度、直進性、頭部振幅で有意に高かった(表4)。

表4 患者群における妊娠例、非妊娠例の精子運動能の比較

	妊娠例(53)	非妊娠例(50)
精液量(ml)	3.4±1.5	3.3±1.2
濃度(×10 ⁶ /ml)	80±49	69±44
運動率(%)	55±19**	44±23**
速度(μm/sec)	37±6***	32±6***
直進性	5.1±0.6*	4.8±0.8*
振幅(μm)	2.2±0.4**	1.9±0.5**

*p<0.05 **p<0.01 ***p<0.0001

4 患者群における妊娠例、非妊娠例の精子運動能

不妊症群の内、運動率が50%以上の症例について、さらに精子運動能パラメーターを検討した。対象となる妊娠例は33例で、非妊娠例は22例であった。それらの精子運動能を比較すると、妊娠例と非妊娠例とでは、精子速度に関し、妊娠例の方が有意(p<0.005)に速かった(表5)。

表5 患者群における妊娠例、非妊娠例の精子運動能 運動率50%以上の症例

	妊娠例(33)	非妊娠例(22)
濃度(×10 ⁶ /ml)	91±54	93±46
運動率(%)	68±11	66±11
速度(μm/sec)	39±5*	35±4*
直進性	5.2±0.5	5.0±0.7
振幅(μm)	2.2±0.43	2.1±0.4

*p<0.005

5 精子速度と妊娠の関係

患者群において、精子速度に関して正常群の平均値である37(μm/sec)で2群に分けると、妊娠例53例の内、精子速度が37(μm/sec)以上のものが25例(47%)、37未満が28例(53%)であった。一方、非妊娠例50例の内、37(μm/sec)以上が14例(28%)、37未満が36例(72%)であり、精子速度が37(μm/sec)以上の群の方が、37未満の群よりも妊娠率が有意(p<0.05)に高かった(表6)。

表6 精子速度と妊娠の関係

	速度(μm/sec)		計(例)
	37以上	37未満	
妊娠例	25	28	53
非妊娠例	14	36	50
計(例)	39	64	

p<0.05

6 頭部振幅と妊娠の関係

患者群において、頭部振幅に関して正常群の平均値である2.1(μm)で2群に分けると、妊娠例53例中、頭部振幅が2.1(μm)以上のものが34例(64%)、2.1未満が19例(36%)であった。一方、非妊娠例50例中、2.1(μm)以上のものが15例(30%)、2.1未満が35例(70%)であり、頭部振幅が2.1(μm)以上の群の方が、2.1未満の群よりも妊娠率が有意(p<0.001)に高かった(表7)。

表7 頭部振幅と妊娠の関係

	頭部振幅(μm)		計(例)
	2.1以上	2.1未満	
妊娠例	34	19	53
非妊娠例	15	35	50
計(例)	49	54	

p<0.001

考 察

男性不妊症における精液検査は、最も重要な検査のひとつであるが、Makler chamberを用いることにより、迅速に測定できるようになった。しかし、検査者の経験に左右されることがあり、また、それによって得られた精子濃度、精子運動率、精子奇形率等のパラメーターだけでは妊孕性との関連性を一元的には説明できず、守殿ら³⁾の報告では、95%特異性における不妊診断率は精子濃度32.9%、精子運動率62.9%、精子奇形率21.7%にとどまった。

今回我々は、一般精液検査のみでは定量化が難し

い精子の運動能と妊孕性の関連性をみるために、精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の特発性男性不妊症患者の精液を、Cell softを用いて精子運動能に関し解析した。それによると精子運動率の他に、精子速度、直進性、頭部振幅などの精子運動能が妊娠の有無と関係していた。また、これらの精子運動能のパラメーターの中で、精子速度や頭部振幅が有用であった。

この事は、頸管粘液の貫通テストで精子速度と貫通度が正の相関を示し、しかも $25 \mu\text{m}/\text{sec}$ 以上が成績が良いという報告⁴⁾や、IVF(*in vitro* fertilization)の成功、不成功に関し精子先体の形態異常とともに頭部振幅の値は受精との関連が大きいという報告⁵⁾、IVFの成否には、精子運動率、頭部振幅、VCL(*curvilinear*)、VSL(*straight line velocity*)が関連していたという報告⁶⁾また、頸管粘液貫通テストや透明帯除去ハムスター卵侵入テストにおいて頭部振幅が大きい方が成績が良かったという報告⁷⁾と一致した。

また、Aitkenら⁷⁾は頭部振幅や鞭毛運動の大きさに従って精子速度が大きくなるとしたが、実際、頭部振幅が精子速度と正の相関を示したという報告⁸⁾もあり、我々の結果と矛盾しない。

精子自動分析装置の出現により、我々は迅速かつ客観的に、しかもより再現性のある⁹⁾各種精子運動能パラメーターを得ることができるようになった。しかし、精子自動分析装置から得られる情報だけでは、精子運動能をすべて解析できている訳ではない。事実、本装置は精子頭部の動きのみで精子運動を評価しているので、鞭毛の動きとの関連について、今後検討が必要と思われる。

精子機能検査の代表的なものに、ウシ頸管粘液貫通試験(ペネトラクテスト)、透明帯除去ハムスター卵侵入試験(ハムスターテスト)、アクロビーズテスト、トリプルステイン法、蛍光抗体法などがある。ペネトラクテストやアクロビーズテストは比較的簡便に実施できるが、その他の検査は煩雑であり、通常の診療レベルで施行するのは事実上困難である。一方、精子自動分析装置は未だ高価ではあるが、それにより比較的簡便に、しかも短時間に各種精子運動能パラメーターを得ることができる。

近年、精子運動能および形態学的パラメーターの中で、形態学的正常精子の含有率がIVFの成否に、またaverage path velocity (VAP)が妊娠率に最も関係すると言われている¹⁰⁾。従って、厳格な精子形

態学的診断基準を用い、かつ精子自動分析装置によりVAP等の各種精子運動能を解析することにより、妊孕性に関し大まかなスクリーニングができる。精子機能検査を追加することで、総合的に精子の妊孕能を評価することもでき、ICSIへの移行を含めた不妊診療の一助になるとと思われる。その意味で、一般精液検査では定量化できない各種データを比較的簡便に得られる精子自動分析装置は、有用な検査法であるといえる。

文 献

- 1) Levin RM, Greenberg SH and Wein AJ (1981) Clinical use of the turbidimetric analysis of sperm motility, comparison with visual techniques. *Fertil Steril* 35:332
- 2) 始関吉生, 角谷秀典, 島崎 淳 他(1991) 精子自動分析装置による精液検査. *日不妊会誌* 36:187-191
- 3) 守殿貞夫, 岡伸俊, 浜口毅樹 他(1986) 精子パラメーターに関する臨床的研究. *ホと臨床* 34:163-170
- 4) Amit A, Bergman A, Yedwab G, et al. (1982) Human sperm penetration into cervical mucus *in vitro*: correlation between its quality, penetration capacity and velocity. *Gynecol Obstet Invest* 14:283-291
- 5) Jeulin C, Feneux D, Serres C, et al. (1986) Semen factors related to failure of human *in vitro* fertilization. *J Reprod Fertil* 76:735-744
- 6) Amann RP (1989) Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately? *J Androl* 10: 89-98
- 7) Aitken RJ, Best FS, Richaedson DW, et al. (1982) The correlates of fertilizing capacity in normal fertile men. *Fertil Steril* 38:68-76
- 8) 安本章浩, 野村伊作, 竹中生昌 他(1990) 精子自動解析装置による成人男性の精子運動性の検討. *西日泌尿* 52:1013-1017
- 9) Kruger TF, Dutoit TC, Franken DR, et al. (1993) A new computerized method of reading sperm morphology (strict criteria) is as efficient as technician reading. *Fertil Steril* 59:202-209
- 10) Eilish TD, Sheena EM, James AM, et al. (1998) *In vitro* fertilization and pregnancy rates: the influence of sperm motility and morphology on IVF outcome. *Fertil Steril* 70:305-314

(受付: 1999年 3月30日)

(受理: 1999年 5月24日)

Evaluation of Sperm Motility and Fertility Using a Computer-aided Sperm Analyzer

Makoto Masui, Tomohiko Ichikawa, Akira Komiya, Youko Kawana, Hiroyoshi Suzuki and Haruo Ito

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

Noriyuki Suzuki and Shino Murakami

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

Yoshio Shiseki

Department of Urology, Kawasakiseitetsu Chiba Hospital, Chiba 260-8670, Japan

One hundred three semen samples of idiopathic male infertility of which sperm concentration was $20 \times 10^6/\text{ml}$ or more by conventional microscopic semen analysis were analyzed by the use of Cell Soft series 3000(CS), a computer-aided sperm analyzer. The ejaculate from idiopathic infertile men showed significantly lower sperm motility than that from normal fertile men. There were no significant differences in sperm velocity or linearity between pregnant cases of idiopathic infertile men and normal fertile men, whereas there were significant differences in sperm motility between them. In idiopathic infertile men, the sperm motility, velocity, linearity and amplitude of lateral head displacement (A.L.H) of pregnant cases were higher than those of nonpregnant cases. Within idiopathic infertile men, the group of high sperm velocity ($\geq 37 \mu\text{m}/\text{sec}$) showed a higher pregnant rate than that of low sperm velocity ($< 37 \mu\text{m}/\text{sec}$). As the same, the group of high A.L.H ($\geq 2.1 \mu\text{m}$) showed a higher pregnant rate than that of low A.L.H ($< 2.1 \mu\text{m}$). These results showed that not only sperm motility but also sperm velocity, linearity and A.L.H were related with fertility. We conclude that the computer-aided sperm analyzer seems to be useful to evaluate semen quality of infertile men.

Key Words: computer-aided sperm analyzer, sperm motility, fertility, idiopathic male infertility

(Jpn J Fertil Steril 44:227-231 1999)

HMGによる成熟ラット (Sprague-Dawley系) の 過排卵誘起と過剰妊娠

Induction of Superovulation and Superpregnancy in Adult Sprague-Dawley (SD) Rats by Human Menopausal Gonadotrophin (hMG) Injection

東京農業大学生物産業学部生物生産学科

橋 詰 良 一 岡 田 浩 典

Ryoichi HASHIZUME Hironori OKADA

宮 田 貴 士 伊 藤 雅 夫

Takashi MIYATA Masao ITO

Department of Bioproduction, Faculty of Bioindustry
Tokyo University of Agriculture, Abashiri 099-2493, Japan

SD系成熟雌ラットを用いてスメア像を指標に発情前期 (I期), 発情期 (III期), 発情後期 (IV期) および発情休止期 (V期) にhMG (閉経期婦人尿性性腺刺激ホルモン) を投与し, 排卵反応が最も良好に得られる時期を調べ, PMSGの成績と比較した。また, hMG投与後妊娠を継続させ, 過剰妊娠誘起の有無と分娩状況について検討した。

- 1) hMG20IU投与区の平均排卵数はI, III, IVおよびV期投与でそれぞれ, 11.4, 15.8, 30.2および19.7個でPMSG投与区と比べて明らかに良好で, とくにIV期は対照区と比べて有意に高かった。また平均正常分割卵数もIV期で25.0個と有意に高く, IV期投与で過排卵が誘起された。
- 2) PMSG投与区では妊娠率および着床数とも極めて劣悪であるのに対してhMG投与区は各性周期で良好で, 平均着床数はそれぞれ9.0, 7.0, 19.5および13.8個であった。とくにIV期投与区の着床数は対照区と比べて有意に高く, 同区で過剰妊娠が誘起された (最高着床数28匹)。
- 3) IV期にhMG投与した個体を分娩させた結果, 総分娩仔数および生存分娩仔数はそれぞれ18.3および15.3匹でいずれも対照区と比べて有意に高かった (最高生存仔数23匹)。この結果から, 過剰妊娠した胎仔は若干その数は減少するもののほぼ生存仔として分娩に至ることが示された。

キーワード: hMG, 成熟ラット, 過排卵誘起, 過剰妊娠

(日不妊会誌 44:233-238 1999)

緒 言

実験動物の過排卵誘起は従来からPMSGとhCGを一定の間隔で併用投与する方法が用いられてきており, ラットでも同様の処置が採用されWister-Imamichi系ラット (WI系) では平均50数個の排卵卵子が得られている^{1,2)}。しかし, 同じラットでも他系統ではWI系のような良好な反応は得られず, Sprague-Dawley系 (SD系) やFisher系ではむしろ自然排卵より

下回る排卵成績が報告されている³⁾。また, 過排卵誘起が可能なWI系においても着床直前まで发育の進んだ胚盤胞は子宮からほとんど消失してしまい回収が困難である等の問題点があり, その改善について石橋らは種々の検討を行っている^{4,5)}。このようにラットの過排卵誘起にはいまだ問題点が多く, ラット卵子の研究を広範に進めてゆく上ではより確実な過排卵誘起法の確立が早急に望まれるところである。

このような現状に対して, 近年PMSGに代わる

FSH様製剤としてhMGが注目されてきており、同ホルモンは、閉経期婦人尿を原料として製造されたFSH様製剤であるが、PMSGに比べて排卵反応の個体差が小さいことや⁶⁾、投与タイミングの適確な選択により安定した排卵反応が得られる事等が報告されている⁷⁾。

著者らは、前報で同ホルモンを過排卵誘起が困難なSD系ラットに投与し、過排卵反応が得られる事を明らかにした⁸⁾。今回は、hMG投与時の性周期の影響をPMSGの成績と比較するとともに両ホルモン投与後の胎仔着床状況と分娩について検討したので報告する。

材料および方法

供試動物はSD系ラットの成熟未経産雌(11~13週齢)および成熟雄(16~20週齢)である。これらは室温 $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ に制御した環境下で飼育し、照明は朝6時から夜8時までの14時間とした。飼料は育成用固形飼料(日本農産工業KK)を用い水とともに不断に給与した。

過排卵処理は、腔スミア検査法により発情周期を2サイクル以上確認できた個体に対して行った。すなわち、発情前期(I期)、発情期(III期)、発情後期(IV期)、および発情休止期(V期)の夕方5時にそれぞれhMG(ヒュメゴン<150IU>、オルガノン社)を20IUあるいはPMSG(セロトロピン、帝国臓器KK)を15および30IU皮下投与し48時間後に雄と交配(PMSG投与区はhCGを同量投与した後交配)して腔栓により交尾を確認した。交尾を確認できた雌については次の日の夕方6~7時に屠殺し顕微鏡下で卵管を灌流して、排卵数と卵子の分割状況(2-cell stage)を観察した。

次にホルモン投与後の胎仔着床状況を調べるため、性周期のIV期にhMGを20IUあるいはPMSGを30IU投与(48時間後hCG同量投与)した個体を妊娠20日目に屠殺し、子宮を摘出して生存胎仔数および死亡胎仔数(着床痕、吸収・浸軟胎仔を総計)を確認した。また、hMG20IU投与区で一部の個体は分娩させ、新生仔の数、性比および体重等を無処置雌の値と比較した。

なお、それぞれの成績はt検定、tの近似法および χ^2 検定を用いて統計処理した。

結 果

性周期の各時期にPMSGあるいはhMGを投与し排卵反応を比較した成績はTable 1~2に示した。Table 1から明らかなように、PMSG投与区では総体的に排卵陽性率が低く15IU区では、I、III、IVおよびV期投与で、それぞれ33.3、100、100および0.0%、30IU区では33.3、66.7、50.0および66.7%であった。また、平均排卵数は両投与量区ともIV期で比較的多く認められたが平均正常分割卵数はそれぞれ7.8および8.5個でいずれも対照区を有意に下回る低い成績であった。また、異常卵の出現率は、すべての実験区で有意に高かった。

一方、hMG区ではI、III、IVおよびV期投与で得られた排卵陽性率はそれぞれ100、66.7、100および100%であり、III期で若干低下したもののPMSG区と比較して明らかに高かった。平均排卵数はそれぞれ11.4、15.8、30.2および19.7個で、PMSG区よりも総じて高く、とくにIV期では対照区と比べて有意な増加を示した。また、平均正常分割卵数も同じくIV期で25.0個と有意に高く、IV期の投与で過排卵が誘起

Table 1. Ovulatory responses after the injection of the PMSG on various stages of the estrous cycle in the adult SD rat

Times of PMSG injection at estrous cycle	PMSG dose (IU)	No. of rats used	No. (%) of rats mating	No. (%) of rats ovulated	Mean no. of ova ovulated	Mean no. of ova cleaved normally	% of abnormal ova																																														
I	15	6	3 (50.0)	1 (33.3)	3.0 \pm 2.0 ^{c)}	0	100 ^{c)}																																														
	30	6	6 (100)	2 (33.3)				III	15	5	4 (80.0)	4 (100)	9.3 \pm 2.3 ^{b)}	4.8 \pm 3.4 ^{c)}	48.6 ^{c)}	30	6	6 (100)	4 (66.7)	10.8 \pm 3.3	4.0 \pm 4.2 ^{c)}	62.8 ^{c)}	IV	15	6	6 (100)	6 (100)	10.3 \pm 2.0 ^{b)}	7.8 \pm 3.5 ^{c)}	24.2 ^{c)}	30	8	8 (100)	4 (50.0)	15.0 \pm 1.1	8.5 \pm 2.1 ^{c)}	43.3 ^{c)}	V	15	6	5 (83.3)	0 (0)	5.3 \pm 4.5 ^{c)}	1.5 \pm 0.9 ^{c)}	71.4 ^{c)}	30	6	6 (100)	4 (66.7)	Non-treatment ^{a)}		17	17 (100)
III	15	5	4 (80.0)	4 (100)	9.3 \pm 2.3 ^{b)}	4.8 \pm 3.4 ^{c)}	48.6 ^{c)}																																														
	30	6	6 (100)	4 (66.7)	10.8 \pm 3.3	4.0 \pm 4.2 ^{c)}	62.8 ^{c)}																																														
IV	15	6	6 (100)	6 (100)	10.3 \pm 2.0 ^{b)}	7.8 \pm 3.5 ^{c)}	24.2 ^{c)}																																														
	30	8	8 (100)	4 (50.0)	15.0 \pm 1.1	8.5 \pm 2.1 ^{c)}	43.3 ^{c)}																																														
V	15	6	5 (83.3)	0 (0)	5.3 \pm 4.5 ^{c)}	1.5 \pm 0.9 ^{c)}	71.4 ^{c)}																																														
	30	6	6 (100)	4 (66.7)																																																	
Non-treatment ^{a)}		17	17 (100)	16 (94.1)	13.1 \pm 1.8	12.9 \pm 1.9	1.4																																														

^{a)} Control group (Spontaneous ovulation).

^{b)} Significant difference from the non-treatment group: $P < 0.01$.

^{c)} Significant difference from the non-treatment group: $P < 0.001$.

($\bar{X} \pm \text{S.D.}$)

されることが示された。なお、異常卵率は他の投与区では対照区と比べて有意に高かったがⅣ期投与区では有意な差は認められなかった。

性周期の各時期にPMSGを30IU投与し、妊娠20日目に母体を屠殺解剖して子宮内の着床状況を調べた成績はTable 3に示した。Tableから明らかなように、いずれの性周期区においても妊娠率が悪く、Ⅰ期区では全く妊娠個体が得られず、Ⅲ、ⅣおよびⅤ期区でもそれぞれ33.3、66.7および20.0%と低値を示した。また、平均総着床数はⅢおよびⅣ期区でそれぞれ4.5および7.0個得られたが、対照区の13.7個より有意に低く、胎仔死亡率も有意に高かった。

一方、hMG区(Table 4)の妊娠率はⅠ、Ⅲ、ⅣおよびⅤ期区でそれぞれ80.0、40.0、100および100%であ

りPMSG区と比べると明らかに良好であった。また、総体的に胎仔死亡率は有意に高かったが、平均総着床数はそれぞれ9.0、7.0、19.5および13.8個で、ⅠおよびⅢ期区で対照区と比べて有意に低かったものの、Ⅳ期区では有意に高く、同区で過剰妊娠が誘起された(最高着床数28個, Fig.1)。

Table 5には、Ⅳ期にhMG20IU投与した区の分娩状況を示した。表からわかるように、総分娩仔数は平均18.3匹で対照区の11.3匹と比べて有意に高かった。また、生存分娩仔数も平均15.3匹で対照区と比べて有意に高く、個別データでみると最高23匹の生存仔を出産した母体もみられた。このことから過剰妊娠した胎仔は若干その数は減少するものの、ほぼ生存仔として分娩に至ることが示された。

Table 2. Ovulatory response after the injection of the hMG (20IU) on various stages of the estrous cycle in the adult SD rat

Times of hMG injection at estrous cycle	No. of rats used	No. (%) of rats mating	No. (%) of rats ovulated	Mean no. of ova ovulated	Mean no. of ova cleaved normally	% of abnormal ova
I	6	5 (83.3)	5 (100)	11.4 ± 6.6	8.8 ± 7.6	22.8 ^{b)}
Ⅲ	6	6 (100)	4 (66.7)	15.8 ± 8.7	8.0 ± 12.3	49.2 ^{b)}
Ⅳ	9	9 (100)	9 (100)	30.2 ^{b)} ± 9.3	25.0 ^{b)} ± 5.1	17.3
Ⅴ	6	6 (100)	6 (100)	19.7 ± 13.8	10.8 ± 11.7	44.9 ^{b)}
Non-treatment ^{a)}	17	17 (100)	16 (94.1)	13.1 ± 1.8	12.9 ± 1.9	1.4

^{a)} Control group (Spontaneous ovulation).

^{b)} Significant difference from the non-treatment group: $P < 0.001$.

($\bar{X} \pm S.D.$)

Table 3. The rate of pregnancy and the number of implantaion sites in the adult SD rat when PMSG (30IU) was injected at different stages of the estrous cycle

Times of PMSG injection at estrous cycle	No. of rats used	No. (%) of rats mating	No. (%) of pregnant animales	Mean no. of implant			Mean % of dead fetuses
				live fetuses	dead fetuses	total	
I	6	2 (33.3)	0				
Ⅲ	6	6 (100)	2 (33.3)	2.5 ^{c)} ± 0.7	2.0 ± 2.8	4.5 ^{c)} ± 2.1	33.4 ^{b)} ± 47.2
Ⅳ	6	6 (100)	4 (66.7)	4.3 ^{c)} ± 3.4	2.8 ^{b)} ± 2.9	7.0 ^{c)} ± 2.2	40.0 ^{c)} ± 40.4
Ⅴ	5	5 (100)	1 (20.0)				
Non-treatment ^{a)}	25	25 (100)	23 (92.0)	13.0 ± 2.3	0.7 ± 0.8	13.7 ± 2.8	4.4 ± 5.1

^{a)} Control group (Spontaneous ovulation).

^{b)} Significant difference from the non-treatment group: $P < 0.01$.

^{c)} Significant difference from the non-treatment group: $P < 0.001$.

($\bar{X} \pm S.D.$)

Table 4. The rate of pregnancy and the number of implantaion sites in the adult SD rat when hMG (20IU) was injected at different stages of the estrous cycle

Times of hMG injection at estrous cycle	No. of rats used	No. (%) of rats mating	No. (%) of pregnant animales	Mean no. of implant			Mean % of dead fetuses
				live fetuses	dead fetuses	total	
I	5	5 (100)	4 (80.0)	7.5 ^{c)} ±3.5	1.5 ±1.3	9.0 ^{b)} ±4.7	14.5 ^{b)} ±9.9
III	5	5 (100)	2 (40.0)	6.5 ^{b)} ±3.5	0.5 ±0.7	7.0 ^{b)} ±4.2	5.0 ±7.1
IV	6	6 (100)	6 (100)	17.3 ^{b)} ±4.0	2.2 ±2.0	19.5 ^{b)} ±5.3	13.2 ^{b)} ±7.5
V	6	6 (100)	6 (100)	11.2 ±5.0	2.7 ^{c)} ±1.1	13.8 ±5.5	23.4 ^{c)} ±13.3
Non-treatment ^{a)}	25	25 (100)	23 (92.0)	13.0 ±2.3	0.7 ±0.8	13.7 ±2.8	4.4 ±5.1

^{a)} Control group (Spontaneous ovulation).

^{b)} Significant difference from the non-treatment group: $P < 0.05$.

^{c)} Significant difference from the non-treatment group: $P < 0.001$.

($\bar{X} \pm S.D.$)

Table 5. The number of pups from the superpregnancy following injection of hMG (20IU) on the metestrus (IV) of the estrous cycle

Experimental group	No. of rats used	Total no. of pups delivered ($\bar{X} \pm S.D.$)	No. of live pups ($\bar{X} \pm S.D.$)	Mean weight (g) of live pups	
				♀	♂
hMG treatment	9	18.3 ^{c)} ±4.0 (13~24)	15.3 ^{b)} ±5.2 (7~23)	4.80 ±0.81	4.90 ^{b)} ±0.92
Non-treatment ^{a)}	11	11.3 ±2.4 (7~16)	11.0 ±2.1 (7~15)	5.62 ±0.33	5.99 ±0.38

^{a)} Control group (Spontaneous ovulation).

^{b)} Significant difference from the non-treatment group: $P < 0.05$.

^{c)} Significant difference from the non-treatment group: $P < 0.01$.

(~): Range

考 察

ラットの過排卵誘起はWI系ではPMSG-hCG処置で平均50数個の排卵卵子が得られる事を石橋らが報告している¹⁾。最近ではMukumotoらも同系統で50数個の卵子が得られるとしており²⁾、初期胚(前核期卵等)の採取に関してはWI系ではその過排卵法は確立してると言える。しかし、WI系と並んで各種実験に汎用されているSD系ラットでは、前記の様な反応は全く得られず、むしろ、過排卵処置後の卵子数は自然排卵を下回る程である³⁾。石島らはSD系の排卵反応を改善するためPMSGの投与時期とラットの日齢との関係調べているがWI系ほどの改善は得られていない⁹⁾。著者らはHusainらの報告¹⁰⁾にあるSD系はPMSGに対して感受性が鈍いとする指摘を参考にして前報では、PMSGに代えてhMGを同系統に投与

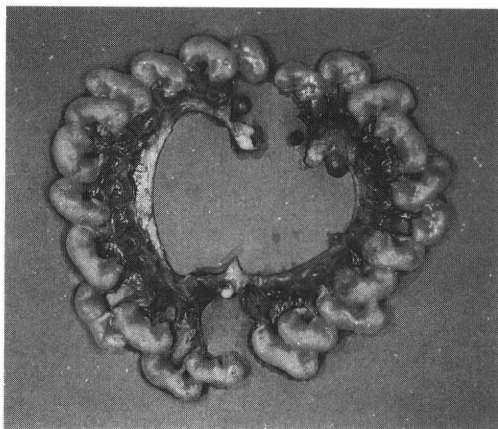


Fig.1 Twenty three live fetuses, two placental remnants and three absorptions were obtained from a superpregnant rat on the 20th day of pregnancy.

し、過排卵誘起に成功した⁸⁾。本実験でもTable 2に示されるように平均30.2個の反応が得られ、hMGの効果を実証できた。

hMGがSD系に有効に働いた理由は明確ではないが、同ホルモンは動物体内に投与された場合にはPMSGに比べて半減期が短く、不要な残留による卵巣への過剰刺激が少ない^{6,7)}。また、過排卵後のProgesteroneの急上昇およびLHサージ等のタイミング良い開始も認められ^{6,7)}、hMGのこれらの特徴がSD系に有効に働いたとも推察されよう。また、本実験で用いたhMG(ヒュメゴン150IU)はFSH/LH比が3:1(FSHドミナント製剤)であり、この比率がSD系ラットの卵胞発育と排卵に適性であったとも考えられるが、この点に関しては、同じhMG製剤であるFSH/LH比が1:1のメノトロピンおよび1:<0.01以下のウロフォリトロピン等の各種hMG製剤の反応と比較してみなければ結論はだせない。なお、本実験で用いたPMSG(セロトロピン、帝国臓器KK)のFSH/LH比は明らかにされていないのでhMGのそれと比較できない。

性周期の影響は各stage毎に反応は異なっているもののhMG区はPMSG区と比べて明らかに反応が良く、とくにIV期は最も高い値を示した(Table 1~2)。体内の性ホルモンは性周期の動きに応じて種々に変化することはButcherら¹¹⁾によって報告されている。外的に投与されたGTHがこの内的なホルモンの動きと交互作用し本成績のようなstage毎の反応差を生むものと考えられるが、とくにIV期は体内のFSHやLH量が低値を示す時期であり、外的に投与したGTHは比較的効率良くその効果をあらわしたものと考えられる。種市らは、hMGの投与適期をマウスで調べており¹²⁾、それによるとマウスはラットと異なりV-2期が最も高い排卵数を示すと報告している。一方、小野寺らはマウスのPMSG投与適期はラットと同じくIV期であるとしており¹³⁾、動物種や使用するホルモンのちがいに投与適期に微妙な差が生じるものと考えられる。

また、過排卵後の着床状況もhMG区では良好であり、とくにIV期の成績が最も良く最高28匹の胎仔が着床した(Table 4)。先に述べたようにhMGは体内に不要に残留しにくく^{6,7)}、PMSGの投与で報告¹⁴⁾されているような排卵遅延で残存する卵胞も少ないものと考えられ、卵巣ではスムーズに黄体期への移行が進行したものと推察される。高橋ら¹⁵⁾は、ラットの脳下垂体抽出液を過排卵処置後のラットに投与し、最高24匹(平均18.3匹)の胎仔を着床させている。石

橋らもProlactin¹⁶⁾やAminoglutethimide phosphate⁵⁾の投与で最高31匹(平均18.7匹)および35匹(平均21.6匹)の胎仔を着床させているが、本実験ではhMGの単回投与のみで最高28匹(平均19.5匹)の胎仔を着床させることができ、従来の報告と比べて遜色はなく、むしろ簡便な処置法といえよう。

また、hMG処置雌を出産させた結果、最高24匹の仔が生まれ、そのうち、生存仔は23匹であった(Table 5)。これらの生存仔は哺育期の前半に半数以上が死亡し、離乳時には無処置雌の哺育仔数と大差ない程に減少した。この原因は母雌の泌乳能力を越えた数の哺育仔が抱えられた為と考えられるが、今後、過剰妊娠に関する技術を完成させる上では、この母雌の哺育能力の問題を避けて通ることはできず、今後の重大な課題となろう。

文 献

- 1) 石橋 功(1967) 過排卵ラット卵子の形態的研究 I 性腺刺激ホルモン投与後の成熟ラットの排卵数について. 家畜繁殖誌 12:127-132
- 2) Mukumoto S, Mori K and Ishikawa H (1995) Efficient induction of superovulation in adult rats by PMSG and hCG. *Exp Anim* 44:111-118
- 3) 橋詰良一, 伊藤雅夫, 佐藤辰也 他(1996) hMG処理ラットの過排卵誘起にみられる系統差. 第91回日本畜産学会大会講演要旨215
- 4) 石橋 功(1983) 種々の量のPMSGとhCGを投与した成熟ラットにおける排卵数と受精および発育について. 家畜繁殖誌 29:1-7
- 5) Ishibashi I, Hashimoto I, Suzuki S, et al. (1990) Effects of aminoglutethimide phosphate administration on embryonic development and implantation and on steroid hormone levels in superovulated rats. *Anim Reprod Sci* 22: 339-347
- 6) Lauria A, Genazzani AR, Oliva O, et al. (1982) Clinical and endocrinological investigation on superovulation induced in heifers by human menopausal gonadotrophin. *J Reprod Fert* 66:219-225
- 7) Lauria A, Genazzani AR, Oliva O, et al. (1982) Improved method to induce superovulation in cattle using human menopausal gonadotrophin (HMG). *Theriogenology* 18:357-360
- 8) 橋詰良一, 伊藤雅夫, 丸 瑠璃子 他(1990) HMGによるラットの過排卵誘起. 日不妊会誌 35:433-437
- 9) 石島芳郎, 藤本秀典(1977) 成熟ラット(Sprague-Dawley系)の過排卵に及ぼす日齢の影響. 畜産の研究 31:1126
- 10) Husain SM (1969) Facilitation of gonadotrophin induced ovulation in adult rats by estrogens. *Rev Can Biol* 28:137-138

- 11) Butcher RL, Collins WE and Fugo NW (1974) Plasma concentration of LH, FSH, Prolactin, Progesteron and Estradiol-17 β throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology* 94:1704-1708
- 12) 種市衣里子, 木村 新, 伊藤雅夫 他(1991) HMGによるマウスの過排卵誘起. *哺乳卵学誌* 8:149-154
- 13) 小野寺政一, 福田正浩, 石島芳郎(1986) マウスの過剰妊娠に及ぼすPMSGの投与時期の影響. *日不妊会誌* 31:143-146
- 14) 伊藤雅夫(1982) 誘起排卵の異常. *産婦人科 Mook* No.19 234-244
- 15) 高橋寿太郎, 伊藤 敦, 安田泰久(1987) 下垂体抽出液投与によるラットの過剰妊娠誘起. *日不妊会誌* 32:1-7
- 16) Ishibashi I and Furukawa T (1986) Incidence of implantation in adult rats treated with gonadotropins and its improvement by exogenous prolactin. *Japan J Anim Reprod* 32:188-194

(受付: 1999年3月12日)

(受理: 1999年5月26日)

Induction of Superovulation and Superpregnancy in Adult Sprague-Dawley(SD) Rats by Human Menopausal Gonadotrophin(hMG) Injection

Ryoichi Hashizume, Okada Hironori, Miyata Takashi and Masao Ito

Department of Bioproduction, Faculty of Bioindustry
Tokyo University of Agriculture, Abashiri 099-2493, Japan

The present study was undertaken to examine the optimum time of hMG injection at the estrous cycle for superovulatory response in adult SD rats. Furthermore, the incidence of pregnancy and parturition in the rat receiving only 20IU hMG were also studied. The results obtained were as follows. 1) Mean number of ova ovulated in the hMG-treated group were apparently high compared with those of the PMSG groups. Maximum superovulation response were obtained in the group receiving 20IU hMG at metestrus of the estrous cycle (30.2 ± 9.3). 2) The mean number of implantation sites on the 20th day of pregnancy in the rat treated with hMG at metoestrus of the estrous cycle was significantly more than those from controls (19.5 ± 5.3 vs 13.7 ± 2.8). 3) Superpregnant rats delivered "super" size litters, up to 24 pups.

Key words: hMG, adult rat, superovulation, superpregnancy

(Jpn J Fertil Steril 44:233-238 1999)

Pathological Findings at Microsurgical Tubouterine Anastomosis and Pregnancy Rates Following Surgery for Proximal Tubal Obstructions in Cases of Unsuccessful Transcervical Tubal Procedures

Hisao OSADA, Tom Kiyoshi FUJII, Ikuo TSUNODA, Yuji YAMADA,
Katsuo TSUBATA and Kazuo SATOH

Department of Obstetrics and Gynecology,
Nihon University School of Medicine, Tokyo 101-8309, Japan

Abstract: Women diagnosed as infertile due to tubal problems are managed by a progressive series of procedures, depending on the severity of the occlusion. The mildest can be reversed by selective salpingography. This is followed by transcervical balloon tuboplasty, and then microsurgical techniques for those who do not respond to the first two methods of treatment. Objective; To explain our protocol for managing infertile women whose problems have been diagnosed as tubal in origin. Design; A retrospective evaluation of our results on women whose infertility was not correctable by either selective salpingography or transcervical balloon tuboplasty. Patients; Women with infertility diagnosed as tubal in origin. Outcome Measure; Pregnancy and live birth rates superior to those obtained with IVF & ET. Results; Microsurgical tuboplasty carried out between 1982 and 1997 consisted of 136 patients who underwent tubouterine anastomosis. Of these, 128 patients (94.1%) had patent tubes post-surgically, and 68 patients (50.0%) had conceived up to December 1997. Ectopic pregnancies occurred in 3 cases (2.2%). Conclusions: Selective salpingography, transcervical balloon tuboplasty or tubouterine anastomosis, depending on the severity of the occlusion, lead to pregnancy and live birth rates superior to those obtained with IVF & ET. **Key Words:** tubal infertility, proximal tubal occlusion, transcervical tuboplasty, microsurgical tubouterine anastomosis

(Jpn J Fertil Steril 44:239-245 1999)

Introduction

The management of infertility in women diagnosed as having oviductal pathologic occlusions or obstructions has seen a great deal of change over the past 25 years. The introduction of microsurgical technology in the treatment of oviductal pathologies has extended the range of women who can hope to conceive spontaneously. More recently, the development of small caliber balloon catheters has led to less traumatic procedures for the correction of oviductal occlusions in selected patients. Improvement in assisted reproductive technologies, such as IVF & ET, GIFT etc., has led to a decrease in the more time-consuming surgical management of oviductal pathologies. However, our department has persisted in employing the vari-

ous surgical procedures which allow women to conceive spontaneously. Only in cases of women who have no possibility of responding favorably to surgical intervention do we consider employing IVF & ET. Microsurgery has been the treatment of preference for infertility of proximal tubal origin since 1977 Gmel^{1,2)}. Since 1982, we have treated such cases with selective salpingography (SS)³⁻⁵⁾ and transcervical tubal catheterization using PTCA balloon catheters from Bard⁶⁻⁷⁾, originally designed for the treatment of coronary arteries. Since then, transcervical tubal catheterization has gained in popularity⁸⁻¹⁰⁾. Linear everting (LE) catheters from Imagyn¹¹⁻¹³⁾ have become available to visualize selectively the tube during fallopscopy, and also to induce patency in apparently occluded tubes. Microsurgical tubouterine anastomosis is employed in

cases where there is a complete blockage of the tubal pars interstitialis. We use a combination of a variety of modalities in the management of infertile women who have been diagnosed as having impatent fallopian tubes. Our protocol for women diagnosed as being infertile due to tubal occlusion on routine hysterosalpingograms is to attempt SS. If this is unsuccessful, we attempt tubal cannulation with a balloon catheter (transcervical balloon tuboplasty, TBT). Only in the cases of women who fail to achieve patency by either SS or TBT, do we consider surgical intervention.

Materials and Methodds

We analyzed 418 patients who displayed bilateral tubal obstructions at initial hysterosalpingography (HSG), performed using television X-rays, between 1982-1997.

The 288 women who displayed bilateral proximal tubal obstructions were selected for further transcervical tubal procedures, such as SS or TBT. We were able to reestablish patency in 187 patients by these two modalities. Tubouterine anastomosis was performed in 136 of the women who had interstitial occlusive disease. Of these 56 cases were conditions which could not be reversed by either SS and TBT, and identified by repeat HSG 3 months post-operatively 19 (19.2%) of the SS subjects and 16 (18.2%) of the TBT subjects demonstrated reocclusion, and a further 35 cases were of women in whom no tubal os could be observed on the hysteroscopy. Thus in these cases neither SS or TBT were attempted.

Our criteria for performing the tubouterine anastomosis were: 1. Women with discernible tubal orifices but who failed to achieve patency by means of transcervical tubal procedures. 2. Women who demonstrated a completely occluded interstitia. In cases where a complete blockage of the tubal pars interstitialis from the ostium uterinum tubae is confirmed by hysteroscopy, the ostium uterinum tubae cannot be seen by hysteroscopy, but these women usually display a rounded blunt shadow at the cornual areas on HSG. The age range of our patients was from 21.8 to 42.3, with a median age of 29.1. Their average period of infertility was 5.1 years.

The tubouterine anastomosis which we are performing is a method which directly sutures the tubal mus-

cularis to the uterine muscularis at the level described as juxta-uterine by Gornel¹⁸⁾. This method involves completely excising the occluded tubal pars interstitialis to the area where the endometrium is exposed, using a Zeis or Wild-Leitz (Switzerland) operative microscope at a magnification of x3.5-20.

The surgical field is extended using meticulous hemostasis and keeping trauma to healthy tissue at a minimum with a bipolar microsurgery hemostasis forceps. The interstitial portion of the tube is carefully dissected free of the surrounding uterine cornual tissue. A longitudinal incision is made to expose the deeper layers of the tube. Only when healthy tubal tissue with an intact lumen is identified is the tube amputated free of the uterine cornu (Figure 1-A). Uterine tissue is excised medially until the methylene blue dye instilled in the uterine cavity can be distinctly seen. At this point an electric scalpel is used to carefully enter the uterine cavity with an incision corresponding in diameter to the diameter of the tubal lumen (Figure 1-B). The occluded tubal tissue is excised from the proximal end until a healthy lumen is exposed, as revealed by free flowing of the dye from the tubal stump, which is prepared by inserting a Foly catheter from the fimbrial end and injecting methylene blue. The healthy stump is then sutured to the muscularis of the uterine cavity by microsurgery, using either 8-0 or 9-0 Nylon or Vicryl sutures. The anastomosis of the tube to the muscularis of the uterus is done with 4-8 sutures as required (Figure 1-C). Our procedures are performed without the use of intraluminal splints. After the tubal stump is firmly ligated in place, further anchoring of the cornual tissue is performed to provide a firmer support for the implanted tubes. In patients requiring wide excision of the cornual tissue in order to provide adequate visualization for adaptation, a peritoneal transplant may be required to prevent the formation of neoadhesions. One month after surgery, the anastomoses are checked by hysteroscopy to evaluate the effects of procedure and to confirm that patency has been achieved (Figure 1-D).

Results

The microsurgical tubouterine anastomosis carried out from 1982 until 1997 involved 136 patients who

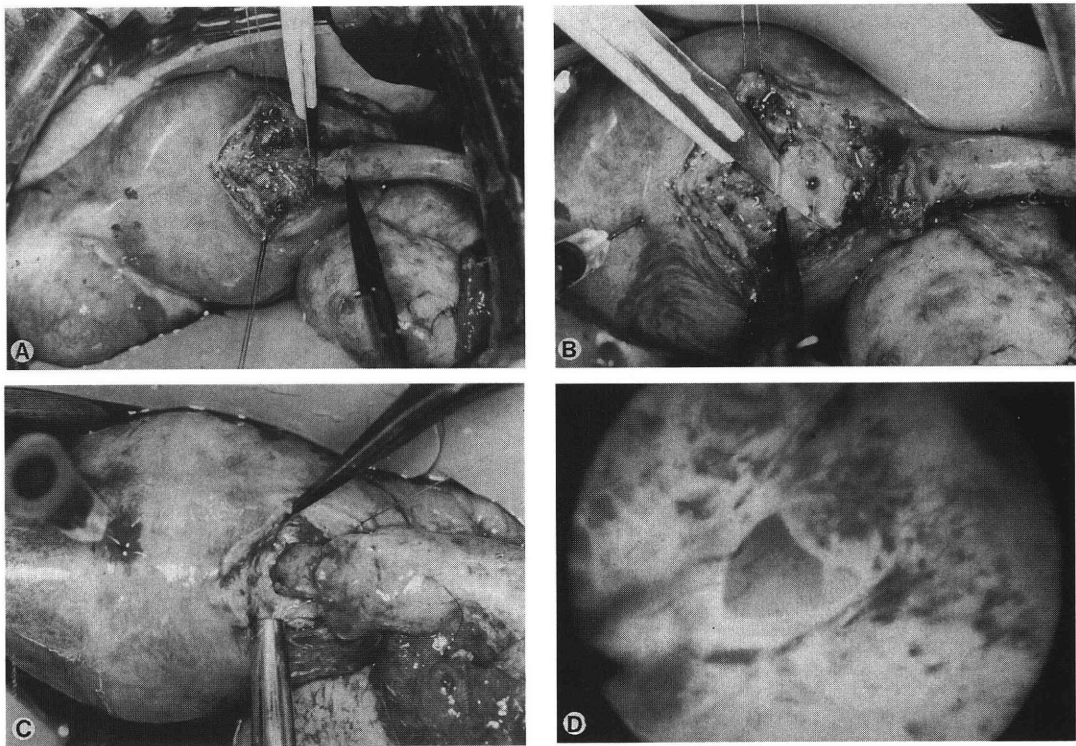


Figure 1 Microsurgical Tubouterine Anastomosis;

The interstitial portion of the tube is carefully dissected free of the surrounding uterine cornual tissue. A longitudinal incision is made to expose the deeper layers of the tube (A). Uterine tissue is excised medially until the methylene blue dye instilled in the uterine cavity can be distinctly seen (B). The healthy tube is approximated to the exposed uterine myometrium with 4-8 fine sutures (C). One month after surgery, hysteroscopic observation of the anastomotic site reveals a patent reconstructed ostium uterini tubae (D).

underwent tubouterine anastomosis. Of these, 128 patients (94.1%) had patent tubes post-surgically. The number in which patency was achieved in only one tube was 15 (11.0%) and the number in which bilateral patency was achieved was 113 (83.1%). 68 patients (50.0%) had conceived as of December 1997, of which 3 were ectopic pregnancies (2.2%). One patient with an ectopic pregnancy later experienced a pregnancy

that went to term. Abortion occurred in 4 cases (2.9%). Subsequent pregnancies in women who had aborted went to term in 2 patients (Table 1). Of the 136 women with interstitial occlusions treated microsurgically, 11 dropped out from further histologic evaluation, leaving 125 women as our series total. Histologic evaluation of the excised tissues showed fibrosis in 57 (45.6%), the most frequent result, chronic inflammation in 23

Table 1. Results of microsurgical tubouterine anastomosis for pathologic cornual occlusion of the tubes

	No. of Patient (%)	
Total procedures	136	
Tubal patency	128	94.1%
unilateral	15	11.0%
bilateral	113	83.1%
Term pregnancy	68	50.0%
Abortion*	4	2.9%
Ectopic pregnancy**	3	2.2%

* Subsequent pregnancies went to term in 2 patients.

** One patient later experienced a pregnancy that went to term.

Table 2. Histologic evaluation of interstitial occlusion taken at tubouterine anastomosis

Histologic evaluation	No. of patients (%)	
Fibrosis	57	45.6%
Chronic inflammation	23	18.4%
Endometriosis	19	15.2%
Salpingitis isthmica nodosa	14	11.2%
Others	12	9.6%
Total	125 *	100.0%

* Of the 136 women with the tubouterine anastomosis, 11 dropped out from further histologic evaluation

(18.4%), endometriosis in 19 (15.2%), and salpingitis isthmica nodosa in 14 (11.2%) (Table 2).

Discussion

Interstitial occlusion is a blockage from the ostium uterini tubae to the pars isthmica. Its length is equivalent to that of the fallopian tube within the uterine muscularis and consists of three layers of tubal muscularis. The outer spiral-longitudinal layer blends with the myometrium, and consists of a prominent circular zone with a deeper recognizable core. This portion extends from the ostium uterini tubae to the pars isthmica for from a few mm to 15-17 mm. There may be a limit to how well we can distinguish and diagnose interstitial occlusions by using conventional insufflation, hydropertubation and HSG techniques.

For the microsurgical treatment of an occlusion of the tubal pars interstitialis, various methods of treatment are available such as tubouterine implantation, tubouterine anastomosis, tubocornual anastomosis, and interstitialis-isthmic anastomosis. Tubouterine implantation has been employed as a method of surgical treatment for such interstitial occlusions for many years. However, its postoperative results are not satisfactory with routine procedures.

We have been performing tubouterine anastomosis in cases where a complete blockage of the tubal pars interstitialis from the ostium uterini tubae has been confirmed by hysteroscopy. In cases where the uterine side of the ostium uterini tubae is partially present, it is not always necessary to perform a tubouterine anastomosis. In our series, there were 26 women who were adequately managed by a so called tubocornual anastomosis, which consists of suturing the tubal stump to the tissues of the uterine cornu with care to approximate the distal tubal endothelium with the proximal interstitial endothelium. When the uterine side of the tubal pars interstitialis is intact (where the ostium uterini tubae can be seen by hysteroscopy), we perform an interstitial-isthmic anastomosis. This technique is generally called "Tubocornual anastomosis" and involves suturing end-to-end the isthmic portion of the tube to the interstitial portion. Tubocornual anastomoses have been performed by a variety of methods by many investigators¹⁵⁻¹⁹⁾ with patency rates reported by the various

authors as being from 63% to 94%, and live birth results ranging from 29%~67%, with the majority around 50%. All of the reports show success rates in terms of live births which are superior to those of IVF/ET. Tubocornual anastomosis, as opposed to tubouterine anastomosis, using microsurgical technologies was first reported, to our knowledge, by Gomel in 1978 "Current Problems in Obstetrics and Gynecology"²⁰⁾ and 1979 in Silbers²¹⁾. He advocates the use of a high-magnification delicate surgical technique and of suture material in order to achieve a satisfactory result. Above and beyond these requirements is the question of the qualifications of the surgeons performing the procedures. Gomel specifies the need for delicate excision of the cornual tissues with an intact vasculature. He further makes use of a specially developed blade to allow sharp dissection without damaging the interstitial tissues to a greater extent than is necessary for the actual anastomosis. This is in contrast with the report of Winston²⁾ in the *Lancet*, whose series reports on the reversibility of fertility following surgical sterilization. His series does not include women with intractable interstitial occlusion, thus, although the procedures are performed microsurgically, the area of excision is distal and removed from the uterine os tubae.

The tubouterine anastomoses that we perform may be similar to the procedure reported by Favez²³⁾. However the authors do not report their procedures explicitly enough for us to make a definitive comparison. Our procedure involves the microsurgical suturing of a tubal stump (isthmic portion) which is apparently normal, and has an intact vasculature to the uterine muscularis, with 4 to 8 sutures with 8-0 to 9-0 Nylon or Vicryl as required. We have achieved a post-surgical patency rate of 94.1%. However, our pregnancy rate at 50.0% is not as high as some that have been reported. The reason our results are not as good as some of those reported may be due to our performing microsurgery on only those women who were unable to demonstrate patency by either SS or TBT. Thus, our procedures were performed on women with severe, complete obliterative processes of the interstitial, and perhaps the isthmic portions, of the tube. However, with the prolongation of our post-surgical observation period to at least two years, we hope to

find an increase in the number of women who conceive, and thus to improve our pregnancy rates.

Our first report concerning our tubouterine anastomoses was at the 12th World Congress of Fertility and Sterility, Singapore (1986). Since then, we have reported on our growing series. However, we believe the reason this procedure has not gained in popularity is because it is time consuming and very exhausting for the surgical team. Up to about 1990, it took 4-5 hrs. per tube, requiring 8-10 hrs. for a bilateral procedure. Conditions necessary for acceptable results require the exposure of the uterine cavity to a diameter acceptable for suturing to the tubal stump. This is achieved by a gradual excision of the uterine tissues to expose the uterine cavity to a diameter similar to that of the caliber of the tubal stump, so that an adequate approximation can be performed. Once the uterine cavity has been reached, which is checked by an injection of methylene blue into the uterine cavity, which becomes visible from the distal area exposed by excision, a small incision is then performed with an electric scalpel, to expose an endometrial defect similar in diameter to the diameter of the tubal lumen. Once the endometrium has been successfully excised, the tubal lumen (endothelium) is fixed in close approximation to the uterine endometrium. This requires from 4-8 sutures using 8-0 to 9-0 Nylon or Vicryl sutures. Care is taken to place all sutures before ligation as the tissues to be anastomosed are very friable. We require our patients to refrain from conception for 3 months following surgery, and emphasize the necessity of cesarean sections at the time of delivery because of the cornual muscular defects caused by the surgical procedures. We feel that, with improved techniques which will make these procedures acceptable to more surgeons, as well as devices to shorten the surgical times and to enhance safety, the popularity of these tedious, time consuming, exhausting procedures will increase. One innovation we have adopted since 1990 is the Cavitron Ultrasonic Surgical Aspiration (CUSA) device. The use of this CUSA has shortened the length of bilateral procedures by 50%, so that at present, we are out of surgery in 4-5 hrs., in contrast to the 8-10 hr. required without CUSA. We have continued the use of this procedure in spite of the long surgical time etc., because it allows women

with intractable interstitial occlusions to conceive spontaneously and to have take home babies with far better success rates than those achieved by IVF & ET.

According to Sulak²³⁾, histologic examination of excised proximal tubal segments during tubocornual anastomosis of 18 patients who received proximal tubal resections, revealed that 3 patients (16.6%) had normal non occluded tubes. Eight patients had patent tubes with identifiable histologic abnormalities (i.e. fibrosis or inflammation). Only 7 of the 18 patients had tubal obliteration due to fibrous replacement or salpingitis isthmica nodosa. According to Letterie²⁴⁾ histologic examination of proximal tubal obstruction in patients who underwent unsuccessful fluoroscopically guided tubal canalization, showed that 24/26 (93%) had tubal pathologies, 61% oblitative fibrosis, 57% chronic salpingitis, 42% salpingitis isthmica nodosa and 65% a combination of the above. In none of these cases was there any evidence of endometriosis or hyaline casts. There were no normal non-occluded tubes. Thus in our series microsurgical intervention was employed on a minority of patients who were not successfully managed on an out-patient basis by either selective salpingography or transcervical balloon tuboplasty.

Acknowledgments

We wish to thank Professor Victor Gomel of Vancouver B. C. for his constructive suggestions of this study.

References

- 1) Gomel V (1977) Tubal reanastomosis by microsurgery. *Fertil Steril* 28:59-65.
- 2) Winston RML (1977) Microsurgical tubocornual anastomosis for reversal of sterilization. *Lancet* 1: 284-5
- 3) Osada H, Matsuura M, Akamine K, et al. (1984) Tubal microsurgery. *Clinical Gynecology and Obstetrics* (in Japanese). 38:102-110.
- 4) Osada H and Takagi S (1986) Surgical approach to female infertility: micro-and macrosurgery. In: Rahtnam SS, Teoh ES, Ng SC, eds. *In Vitro Fertilization*. New Jersey: The Parthenon Publishing Group, 2:195-201.
- 5) Capitano GL, Ferraiolo A, Croce S, et al. (1991) Transcervical selective salpingography: a diagno-

- sis and therapeutic approach to cases of proximal tubal injection failure. *Fertil Steril* 55:1045-1050.
- 6) Osada H (1989) Hysteroscopic transcervical tuboplasty. *The World of Obstetrics & Gynecology* (in Japanese) 41:215-220.
 - 7) Osada H (1990) Diagnosis and reanastomosis of the occluded interstitialis of the fallopian tube. In: Knapstein PG, Friedberg V, Sevin BU, eds. *Reconstructive Surgery in Gynecology*. New York: Georg Thieme, 141-149.
 - 8) Sulak PJ, Letterie GS, Hayslip CC, et al. (1987) Hysteroscopic cannulation and ravage in the treatment of proximal tubal occlusion. *Fertil Steril* 48: 493-495.
 - 9) Confino E, Tur-Kaspa I, DeCherney A, et al. (1990) Transcervical balloon tuboplast: a multicenter study. *J Am Med Assoc* 264:2079-2082.
 - 10) Weidemann R, Sterzik K, Gombisch V, et al. (1996) Beyond recanalizing proximal tubal occlusion: the argument for further diagnosis and classification. *Hum Reprod* 11:986-991.
 - 11) Kerin JF, Pearlstone AC, William DB, et al. (1992) Falloposcopic classification and treatment of fallopian tube lumen disease. *Fertil Steril* 57:731-741.
 - 12) Pearlstone AC, Surrey ES and Kerin JF (1992) The linear everting catheter: a nonhysteroscopic, transvaginal technique for access and microendoscopy of the fallopian tube. *Fertil Steril* 58:854-857.
 - 13) Sueoka K, Kobayashi T, Nozawa S, et al. (1994) The clinical evaluation for falloposcopic tuboplasty system. *Clinical Report* 28:179-191.
 - 14) Takagi S and Osada H (1985) Microsurgical tuboplasty. *Obstetrical and Gynecological Therapy* (in Japanese) 51:1042-1053
 - 15) Tomazevic T, Ribic-Pucelj M, Omahen A, et al. (1996) Microsurgery and *in-vitro* fertilization and embryo transfer for infertility resulting from pathological proximal tubal blockage. *Hum Reprod* 11: 2613-2617
 - 16) Dubuisson JB, Chapron C, Ansquer Y, et al. (1997) Proximal tubal occlusion: Is there an alternative to microsurgery? *Hum Reprod* 12:692-698
 - 17) Diamond E (1979) A comparison of gross and microsurgical technique for repair of cornual occlusion in fertility: a retrospective study, 1968-1978. *Fertil Steril* 32:370-376.
 - 18) Gomel V (1983) An odyssey through the oviduct. *Fertil Steril* 39:144-156
 - 19) McComb P and Gomel V (1980) Cornual occlusion and its microsurgical reconstruction. *Clin Obstet Gynecol* 23:1230-1241.
 - 20) Gomel V (1978) Recent advances in surgical correction of tubal disease producing infertility. *Current Problems in Obstetrics and Gynecology* vol.1 10:38-44
 - 21) Gomel V and McComb P (1979) Microsurgery in Gynecology. In Silber SJ ed: *Microsurgery*. Baltimore, Williams & Wilkins, 143-183
 - 22) Fayez JA and Suliman SO (1982) Infertility surgery of the oviduct: comparison between macrosurgery and microsurgery. *Fertil Steril* 37:73-78
 - 23) Sulak PJ, Letterie GS, Coddington CC, et al. (1987) Histology of proximal tubal occlusion. *Fertil Steril* 48:437-440
 - 24) Letterie GS and Sakas EL (1991) Histology of proximal tubal obstruction in cases of unsuccessful tubal canalization. *Fertil Steril* 56:831-835.
 - 25) Osada H, Watanabe Y, Yamada Y, et al. (1987) A histological and electronmicroscopic evaluation of surfactants in the female genital tract-the structure of SF-phospholipid materials in normal human fallopian tube. *J Clin Electron Microscopy* 19:665-666.

(Received April 26, 1999)

(Accepted May 26, 1999)

子宮卵管吻合術による間質部卵管閉塞の治療とその病理学的検討

日本大学医学部産婦人科

長田尚夫, 藤井トム清, 角田郁夫, 山田祐士

津端捷夫, 佐藤和雄

卵管不妊の中で間質部卵管閉塞による不妊は、最も多く、またその治療法にも選択的卵管疎通術、経腔的卵管形成術、マイクロサージェリーによる卵管形成術、体外受精による胚移植法(IVF&ET)など様々な方法が開発された。間質部卵管閉塞の外科的治療には、古くから子宮卵管移植術があるが、術後の妊娠率も非常に低く現在行われていない。我々は、自然妊娠を目的として子宮卵管移植術に代わる新たな術式である子宮卵管吻合術を開発し実施してきた。本術式は、選択的卵管疎通術や経腔的卵管形成術によっても卵管の疎通性が得られない重症な症例にマイクロサージェリーによって間質部卵管の閉塞卵管の総てを摘出し末梢部残存卵管断端部を直接子宮疎通口に縫合固定する方法である。1982年より1997年までに子宮卵管吻合術を136例に行い128例(94.1%)に疎通性を認め、68例(50.0%)が妊娠、4例(2.9%)が流産、3例(2.2%)に子宮外妊娠を認めている。また本法によって得られた125例の間質部閉塞卵管の病理学的検討では、卵管線維症が57例(45.6%)、慢性卵管炎が23例(18.4%)、卵管内膜症が19例(15.2%)、結節性峡部卵管炎が14例(11.2%)であった。子宮卵管吻合術は、子宮卵管移植術に代わる術式として臨床的な意義は非常に大きいといえる。

キーワード：卵管不妊、間質部卵管閉塞、卵管形成術、子宮卵管吻合術

(日不妊会誌 44:239-245 1999)

不妊患者の「悩み」についての実態調査 およびCMI健康調査による心理評価

The Stress of Infertility Patients and the Evaluation of Psychological Condition by the Cornell Medical Index

セント・ルカ産婦人科

渡辺 利香

後藤 孝子

倉橋 千鶴美

Rika WATANABE

Takako GOTO

Chizumi KURAHASHI

指山 実千代

宇津宮 隆史

Michiyo SASHIYAMA

Takafumi UTSUNOMIYA

St.Luke Clinic, Oita 870-0947, Japan

不妊は10組に1組の割合で存在し、その発生率は10%程度に認められる。しかし、昔から「子供が出来ないのは女性側の問題」として考えられがちで、今でもその考えは根強く残っている。このような社会のなかで不妊患者の心理的な負担は大きい。そこで、「悩み」の実態調査とCornell Medical Index健康調査(以下CMIと略す)を実施した。その結果、「悩み」の実態調査では子供がいないことで71%が引け目を感じていた。今の生活を楽しいと感じているのは74.9%であり23.2%は不安・不満を持っていた。不妊治療にもかかわらず妊娠に成功しなかった場合、養子や夫婦二人だけの生活を考えたことがあるのは53.1%であった。CMIによる心理評価においては、CMIコントロール群では正常グループ89.4%、神経症グループ10.6%となり、それに対して不妊患者群では正常グループ90.7%、神経症グループ9.3%に分類された。それらを分析すると、CMIによる評価ではコントロール群と不妊患者群の占める割合に有意差はなかった。また、神経症グループの患者に通院期間が短い傾向が得られた。これらのことから、「不妊」自体は、正常・神経症を左右する誘因となりにくく、神経症になりやすいのは不妊期間よりもその人本来の性格が大きく影響していると思われる。また、神経症になりやすい性格をもつ患者ほど通院期間が短く治療が長続きしないと思われる。

キーワード：不妊症、患者の悩み、精神的ケア、CMI

(日不妊会誌 44:247-251 1999)

緒 言

不妊は10組に1組の割合で存在するといわれ、20歳代～40歳代に限られるが発生率は10%程度に認められ、他の疾患に比べてその値は高い。しかし、以前から「子供が出来ないのは女性側の問題」として考えられがちで、現在でもその考えは根強く残っている。不妊の与えるイメージが「恥ずかしい」「劣等感」「罪悪感」等に示されるような否定的認識が社会の一般的傾向として存在し、また、不妊女性自身も同様

の認識を少なからず持っているか、または、自分自身不妊を経験するまでは持っていたとも考えられる。我々は今回、不妊患者における心理分析の必要性を感じ、社会の中で不妊である事実が与える不妊患者の心理的負担の重さについて、不妊患者の持つ「悩み」の実態調査とCornell Medical Index健康調査¹⁾(以下CMIと略す)による心理評価を行ったので報告する。

対象および方法

結果

1 「悩み」実態調査

1997年8月～1997年10月に当院外来を訪れた挙児希望患者の女性501名に質問紙を配布、無記名による記入とした。質問の内容は54項目にのぼり、その一部を図1に示した。院内に回収ボックスを設置し、有効回答数は354名であり、回収率は70.7%であった。

I 子供がいないことで引け目を感じたことがありますか？
 A.ある(そのときは?) (複数回答可)
 a. 子連れで集ったとき b. 嫁の立ち場として
 c. 妻の立ち場として d. 子供の話題が出た時
 e. 「子供がいないの・・・」という言葉をかけられたとき
 f. その他()
 B.ない

II 現在の生活を充分楽しんでいますか？
 A.はい B.いいえ

III 我が子を授かる以外に「養子をとる、夫婦二人だけで生きていく」等の自分達の道を考えた事がありますか？
 A.ある a.よくある b.時々ある
 B.ない a.今後考えていく必要があると思う
 b.今後も考える必要はないと思う
 c.その他()

IV 不妊で悩み、体調をこわした事がありますか？
 A.ある (複数回答可)
 a.胃潰瘍 b.円形脱毛症 c.食欲不振 d.過食
 e.下痢 f.便秘 g.不眠 h.めまい
 i.イライラすることが多い j.うつ状態 k.頭痛
 l.ノイローゼ m.吐き気 n.嘔吐
 o.その他()
 *それは病院での治療が必要な程でしたか
 ①はい ②いいえ
 B.ない

図1 悩みの実態調査の質問紙の内容の一部

2 CMIコントロール群

1998年9月に当院での不妊治療と全く関係のない子供のいる25歳以上40歳未満の既婚女性166名を対象とした。郵送により125名より回収され、有効回答数は118名、回収率は75.3%であった。CMIコントロール群の年齢は「悩み」の実態調査を行った不妊患者と同年代に設定した。

3 CMI不妊患者群

「悩み」の質問紙を配布したうちの299名にCMI健康調査表を配布し、郵送により199名より回収された。回収率は66.6%であった。

1 「不妊であることの悩み」の調査結果

「悩み」の調査によると、子供がいないことで354名中251名71%が引け目を感じていた。図2に示すようにそれらは子供の話題が出たとき、嫁の立場、子連れで集まった時等を感じていた。図3に示すように、今の生活を楽しんでいると感じているのは74.9%であり、23.2%は不安・不満を持っていた。図4に示すように不妊治療にもかかわらず妊娠に成功しなかった場合、養子や夫婦二人だけの生活を考えたことがあるのは53.1%であった。またそのことをよく考える人は188名中34名18.1%であった。

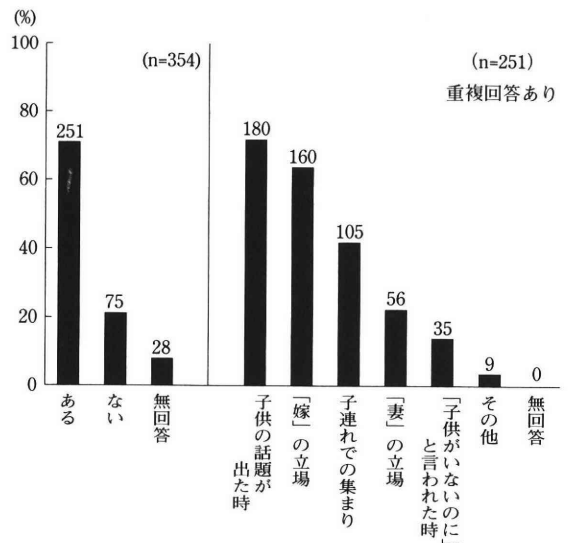


図2 子供がいないことで引け目を感じたことがありますか？

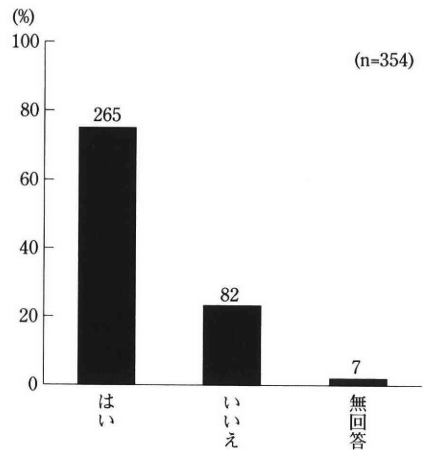


図3 今の生活を楽しんでいますか？

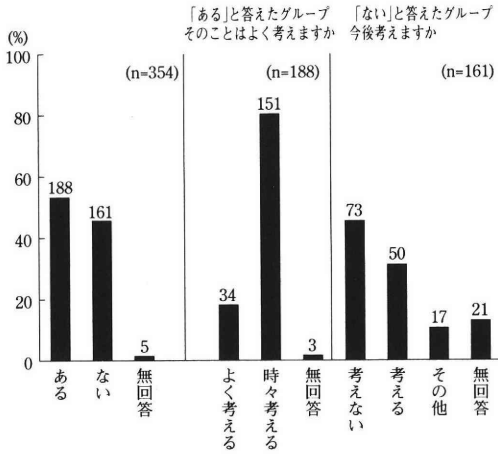


図4 「養子・夫婦だけの生活」を考えた事がありますか？

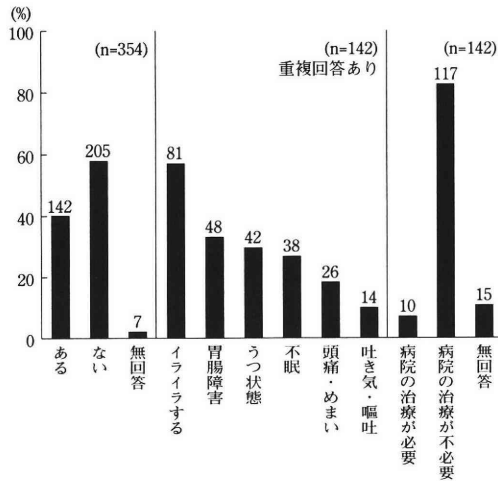


図5 不妊で悩み体調をくずしたことがありますか？

2 「不妊であることの悩み」と「精神症状」について

図5に示すように不妊で悩み体調を崩したことがあるのは40.1%であり、その症状として、イライラ57%、胃腸障害33.8%、うつ状態29.6%等と訴えていた。そのうち治療を要した者は7%であった。図6に示すように、CMIによる心理評価においてI、IIを正常グループⅢ、Ⅳを神経症グループとすると、CMIコントロール群では正常グループが90.7%、神経症グループは9.3%に分類された。CMI不妊患者群では正常グループが89.4%、神経症グループは10.6%に分類された。

CMIによる評価ではコントロール群と不妊患者群の間で神経症の占める割合に χ^2 検定を行ったが有意差はなかった。また、図7に示すようにCMI分類と通院期間の関係においては、Welchの検定により有意差を認め神経症グループの患者に通院期間が短い傾向が得られた。

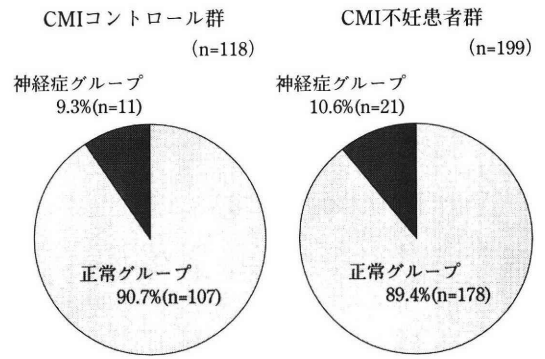


図6

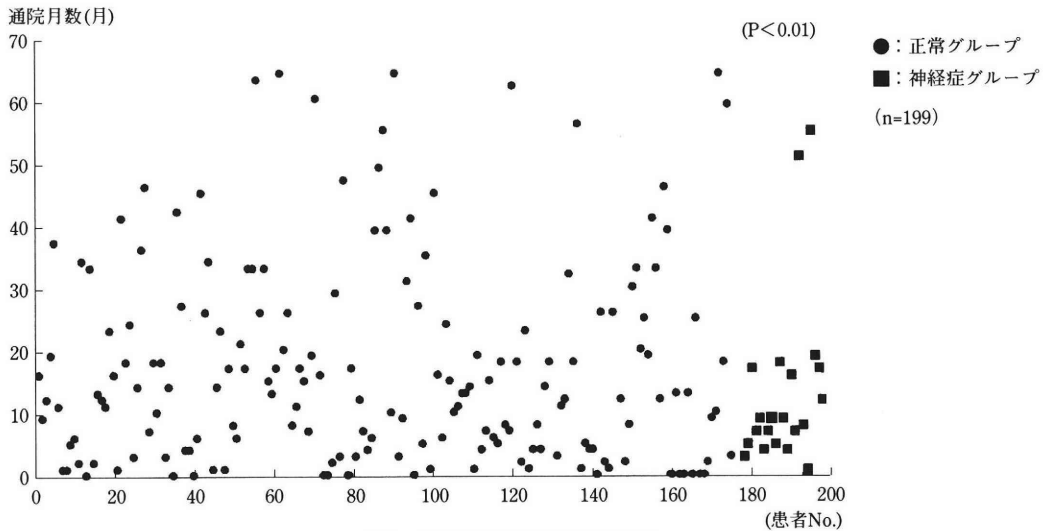


図7 CMI分類と通院期間の関係

考 察

不妊症は10組に1組程度認められ、少なくないにもかかわらず、社会の理解と制度面の充実は充分ではない。このため患者への心理的影響は少なくなく、不妊症をより複雑なものにしている^{2,3)}。今回は独自に作成した質問紙表とCMIを用いて不妊患者の心身医学的状態を検討した。

今回の調査結果では、子供がいないことで不妊患者の71%が引け目を感じていることが明らかとなった。池田⁴⁾らは40.6%の人が不妊であることを“気まずく”思う人が周囲に存在すると報告している。社会・家族関係において、周囲の考え方や期待に重圧を感じている姿が窺える。また、今回の調査では、25.1%が今の生活が楽しくないと回答したが、池田⁴⁾らは不妊であるために結婚したことを後悔している人が37.6%存在し、それらの夫婦は“不妊である”ことよりも結婚生活そのものに問題があると考えていると述べている。一方で、夫婦二人だけでも十分に幸せであるが、子どもがいればもっと幸せという不妊女性の声も聞かれる。「夫婦とはなにか、子どもとはなにか」ということを、不妊を経験しないで子供を得た夫婦に比べ、不妊の夫婦は論議することが多いと思われる。不妊治療開始の時点から段階を追ってどこまで治療をするのか充分話し合うことが必要で、夫婦二人の考えを確かめあっておくことは重要である。我々も³⁾「夫との関係が最も重要であり、とくに体外受精のコースでは夫婦の考えの一致が前提である」と考える。

以上のような社会・家族環境において、今回の調査では不妊に悩む患者の一部では身体的、精神的ストレスを訴えていることが明らかとなった。不妊に悩む事で胃腸障害やうつ状態を起こすとすぐには関連づけられないが、悩みやすくストレスを受けやすい性格の人は不妊であることにも悩み、ストレスを受けやすいのではないかとと思われる。また、精神的ストレスを感じやすい人達は気持ちが入り込みやすく胃腸障害など身体的症状も起こしやすいのではないかとと思われる。

CMIについては、表題が「健康調査」となっているため心理評価を受けるといった感じを与えず、被験者の心理的抵抗が少なくなり、より正確な回答が得られるという長所がある。問題数は195問と多いが、二者択一のため15~30分程度で回答できる。

CMIについて、不妊患者群に対するコントロール群の指標となる文献報告は見当たらない。そこで、

我々は、当院での不妊治療とは全く関係なく児を得ている女性をコントロール群と設定し調査したところ、コントロール群と不妊患者群の間で正常グループ、神経症グループの割合に χ^2 検定による有意差は認められなかった。八代⁵⁾は子宮癌検診を受診した一般婦人のCMIについて、Ⅲ、Ⅳ領域の神経症グループは625例中84例(13.4%)と報告している。また、飯塚⁶⁾らはコントロール群でⅢ、Ⅳの神経症グループの人は14%で、不妊群の神経症グループは30.1%で不妊患者群に神経症グループが多いと報告している。

池田⁴⁾らは、機能的な婦人の心身医学的検査成績として、心身医学的正常群は32.5%、異常群は67.5%と報告している。当院の調査結果はCMI不妊患者群では正常グループ89.4%、神経症グループ10.6%であり、池田らの報告と大きな差が見られる。池田らの施設は大学病院であり、過去に数ヶ所の施設で不妊治療を行ったが、妊娠に至らなかったより深刻な症例が多く集まった結果とも考えられる。これに対し、今回の調査では、不妊女性の神経症グループの通院期間が短い場合が多いためCMI調査の対象に入らなかった例が多いのではないかとと思われる。また、池田らの場合は、初診時の心理評価であるが、今回の調査では大半が治療中の患者であった。当院では、初診時より各治療段階毎に各種カウンセリング、相談など数多くの機会を設けている。これらの当院で行われている検査・治療を含め精神的援助・心的管理が患者に良い影響を与えている結果ではないかとも思われた。

池田⁴⁾らは機能的な不妊婦人の不妊期間とCMIとの関連性については、不妊期間が長いものほど心身症的傾向が強いと報告している。しかし、今回の調査では不妊期間と神経症グループの関連は認められなかった。菊川⁷⁾らは不妊の状態にあるときは程度の差こそあれ必ず心理的な要因がともなうものであると述べ、また、池田⁸⁾らは生殖機能に精神・心的因子が関与していると思われる幾つかの事実を認めている。しかし、今回の調査ではCMIのコントロール群と不妊患者群で神経症グループの割合は差がなかったこと、CMIと不妊期間との関係にも一定の傾向がみられなかったことにより“不妊”自体は正常・神経症を左右する誘因となりにくく、神経症になりやすいのは不妊期間よりも、その人本来の性格が大きく影響していると思われた。

池田⁴⁾らは、不妊外来を訪れた患者のうち70%がすでに他の診療施設に受診しており、過去に受診し

た施設数が多いものほど一般に心身症的傾向が強いと述べている。この点については今回の調査でも図7に示したようにWelchの検定により有意差が認められ神経症になりやすい性格をもつ患者ほど通院期間が短く治療が長続きしないという結果を得ている。我々は、神経症グループに属する人達の性格に統一したのを見出し得なかった。今回の調査では、患者個人個人の性格が左右するのではないかと推測したが、神経症グループに対しては、さらなる専門的で詳細な心理分析が必要と思われた。自分自身が子どもが出来ないという「焦り・劣等感」を持ち、「結婚して子どもをもってこそ一人前」と認められる社会一般の風潮がある。不妊患者は昔からの根強い偏見と無理解の重圧に押しつぶされそうになっているといえる。平山⁹⁾らは不妊女性は深刻な孤立状態に置かれていると表現しており、さらに、サポートするうえで患者の性格も考慮することの必要性を述べている。今回の調査で、その人本来の神経症になりやすい性格をもつ患者ほど内的・外的プレッシャーを感じやすく、また、それは蓄積され精神的苦痛が深いゆえに治療が長続きしないと思われた。今回の研究結果をふまえ、不妊症の検査・治療と平行した精神面へのケアが重要であると考えられた。

文 献

- 1) 金久卓也, 深町 建 (1972) 日本版コーネル・メディカル・インデックスその解説と資料。初版, 三京房, 京都, pp1-128
- 2) 宇津宮隆史, 指山実千代 (1997) 不妊症診療から見た医療の社会性について。セミナー医療と社会 11: 13-21
- 3) 宇津宮隆史 (1998) 不妊患者へのケア。PERINATAL CARE 17 :pp795-801
- 4) 池田友信, 恒吉康男, 河野伸造 他 (1976) 心身医学面からみた不妊症。産婦の世界28: 183-193
- 5) 八代義弘 (1989) 更年期不定愁訴症候群に関する研究 卵巣機能, 加齢ならびに心理面からの検討。日産婦会誌41: 154-160
- 6) 飯塚理八, 小林俊文 (1976) 不妊症患者の心理。産婦の世界28:179-182
- 7) 菊川 寛 (1976) 不妊の心身医学的管理。産婦の世界28: 199-203
- 8) 池田友信, 儀保善英, 森 一郎 (1982) 機能性不妊症の心身医学的観察。産と婦49: 23-32
- 9) 平山史朗, 吉岡千代美 他 (1998) ARTに対する患者の心理調査。日受精着床誌15: 145-149
(受付: 1999年4月7日)
(受理: 1999年5月28日)

The Stress of Infertility Patients and the Evaluation of Psychological Condition by the Cornell Medical Index

Rika Watanabe, Takako Goto, Chizumi Kurahashi,
Michiyo Sashiyama and Takafumi Utsunomiya

St.Luke Clinic, Oita 870-0947, Japan

It is not commonly recognized that the infertility rate in all couples is estimated at 10% before and after. Therefore, the stress of infertile couples increases gradually during medical examinations and treatment for infertility. There are some difficult points and problems in this field; psychological, physical, medical, social and economical issues. We evaluated the stress of infertile women by means of the questionnaire method. Seventy-one percent of patients felt inferior and 75% of them could not enjoy their own life because of their childless family. Furthermore, 53% of them had an experience that they talked with their partner about their childless life. Forty percent of patients had some experience of physical and/or psychological stress and some of them needed treatment. The psychoanalysis for the infertile women was tested by the Cornell Medical Index comparing to the normal women who have one or more children as a control. The rate of the tendency of neurosis is not different between the patient group and normal control group. So, the psychological stress from infertility may not affect the result of CMI test. However, in the neurosis group, some patients have a tendency of give in treatment in short period. As medical staff, we should understand these facts and incorporate them into our treatment of infertile couples.

Key words: infertility, stress of patient, psychological care, CMI

(Jpn J Fertil Steril 44:247-251 1999)

A Simplified Method for Lysis of Single Cells in PCR-based Preimplantation Genetic Diagnosis

Tsuyoshi HASHIBA, Kou SUEOKA, Masako KUROSHIMA, Hironori ASADA,
Naoaki KUJI and Yasunori YOSHIMURA

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

Abstract: Complete cell lysis is essential for accurate and efficient polymerase chain reaction (PCR) based-preimplantation genetic diagnosis (PGD). While the methods in current use are efficient, a simpler method would lower the risk of DNA contamination. We therefore sought to develop a simplified technique of single-cell analysis. Single amniocytes and unfertilized oocytes were isolated under a microscope. Twenty cells of each type were individually lysed in buffer containing proteinase K and Tween20, and 20 cells were lysed in buffer containing Tween20 alone. The X chromosome-specific repeat sequence, DXZ1, was subsequently amplified in each cell by PCR. The amplification success rates of individual amniocytes and oocytes lysed in Tween20 were equal to those of the same cell types lysed in Proteinase K+Tween20. The simplified method of cell lysis described here was as efficient as the method currently in use. By reducing the number of manipulations, our method may reduce the possibility of DNA contamination and may be better suited to clinical PGD.

Key words: cell lysis; DXZ1; PCR; preimplantation genetic diagnosis.

(Jpn J Fertil Steril 44:253-256 1999)

Introduction

Preimplantation genetic diagnosis (PGD) is used as an alternative to prenatal diagnosis. This methodology enables couples who are at risk for transmitting genetic disorders to select unaffected embryos prior to implantation^{1,2}. Embryos are generated through IVF and allowed to develop to cleavage stage. At that time, one or two blastomeres are biopsied and analyzed to determine if the embryo bears the genetic disorder in question.

Two methods are currently utilized for PGD, one involving the polymerase chain reaction (PCR) and the second involving fluorescent in situ hybridization (FISH). The PCR method, a powerful technique for selective and rapid amplification of target DNA sequences, has been used to determine the sex of embryos as well as to detect single gene disorders. Use of PCR in PGD, however, can result in misdiagnoses

due to contamination of the DNA or amplification failure.

Complete cell lysis has been found to be essential particularly when analyzing the DNA from single cells for efficient PCR amplification. We have utilized a method in which single cells are lysed at 37°C in a buffer containing Tween20, and proteinase K, and the solution is heated at 95°C to inactivate the enzyme prior to PCR. While the method has resulted in efficient amplification (unpublished data), we have sought to simplify our procedure, in order to reduce the chance of DNA contamination. We therefore developed a method in which single cells are lysed in buffer containing Tween20 alone and amplified by PCR. In this report, we compare our newly-developed simplified method of cell lysis with our former method in evaluating the X chromosome-specific repeat sequence; DXZ1, in single amniocytes and unfertilized oocytes.

Materials and Methods

Amniocytes and Unfertilized Oocytes

This study was approved by our institutional ethics committee, and informed consent was obtained from each patient. Amniotic fluid samples were obtained from patients undergoing prenatal karyotyping. Unfertilized oocytes were obtained following intracytoplasmic sperm injection from patients undergoing IVF.

Single amniocytes and single oocytes were isolated under an inverted microscope (Nikon, Tokyo, Japan) equipped with MN-151 micromanipulators (Narishige, Tokyo, Japan). Individual cells were each washed twice in a 3 μ l droplet of distilled water and transferred to a 3 μ l droplet of the lysis buffer. The latter was suctioned into a capillary tube under the inverted microscope.

Cell Lysis Methods

Proteinase K method: Single cells were each incubated at 37°C for 10min in 3 μ l of a lysis buffer consisting of 50mM KCl, 10mM Tris-HCl, pH8.3, 1.5mM MgCl₂, 0.5% Tween20, and 0.1mg/ml Proteinase K, and then heated at 95°C for 10min.

Simplified method: Single cells were each transferred into 3 μ l of a lysis buffer consisting of 50mM KCl, 10mM Tris-HCl, pH8.3, 1.5mM MgCl₂, and 0.5% Tween 20.

PCR

The DXZ1 primer sequences utilized were 5'-AATG TGCAAGTGGCTATTTAGCG-3' (forward) and 5'-TC CATCATAACGAATGTTTCAGCT-3' (reverse), which amplify a 308bp fragment. The PCR cocktail contained 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 10mM Tris-HCl, pH8.3, 1 μ M of each primer, 200 μ M of each four deoxynucleotide triphosphate and 2.5 IU/100 μ l Taq polymerase (Takara, Tokyo, Japan). Ten μ l of this cocktail was added to each capillary tube containing 3 μ l sample, air was then loaded into the end of the tube, and the tip was sealed. The amplification protocol, performed in a Capillary Fast Thermal Sequencer (FTS-1S, A.B. Technology, Mortlake, Australia), consisted of 1 cycle of 10min at 95°C, 1min at 55°C, 1min at 72°C, 1 cycle of 3min at 95°C, 1min at 55°C, 1min at 72°C, 36 cycles of 1min at 95°C, 1min at 55°C, 1min at 72°C, 1 cycle of

1min at 95°C, 1min at 55°C, 3min at 72°C, and 1 cycle of 1min at 95°C, 1min at 55°C, 10min at 72°C. Ten μ l of each PCR product was mixed with 2 μ l of gel loading buffer and electrophoresed on a 2% agarose gel at 100V for 30min. The gel was stained with ethidium bromide, and the bands were visualized under ultraviolet light at 312nm.

Results

Single amniocytes and single unfertilized oocytes were isolated under an inverted microscope. Twenty cells of each type were individually lysed in buffer containing Proteinase K+Tween20, and 20 of each were lysed in buffer containing Tween20 alone. An X chromosome-specific repeat sequence, DXZ1, was then amplified in each cell. Electrophoresis of the amplified products showed that the X-derived amplified fragments were 308bp (Fig 1).

When we compared the amplification success rates in cells lysed in the two buffers, we observed similar amplification of DXZ1 in both the amniocytes and unfertilized oocytes (Table 1). DNA contaminations was not observed in any of these samples.

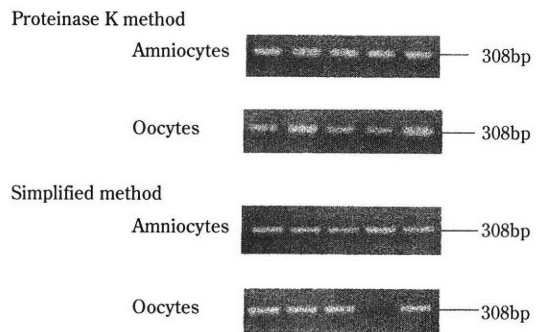


Fig 1. PCR amplification of DXZ1 sequence from a single amniocyte or a single oocyte. Electrophoresis showed that the X-derived amplified fragments were 308bp. One amplification failure was observed in a single oocyte sample.

Table 1. Amplification success rate of DXZ1 in single cells lysed in different buffers

	Lysis buffer	
	Proteinase K-Tween20	Tween20
Single amniocytes	20/20 (100)	20/20 (100)
Single oocytes	18/20 (90)	17/20 (85)

Results expressed as amplified cells/total cells (%)

Discussion

Complete cell lysis is essential for an accurate and efficient PCR amplification of DNA from a single cell. We developed the earlier method of cell lysis, utilizing Proteinase K, to prepare samples for PGD, since we found that some cleavage-stage blastomeres were resistant to lysis in distilled water. While this method yielded high amplification rates of both repeat sequences and single copy genes (unpublished data), the heating process is time-consuming, requires additional steps and evaporates the DNA-containing samples, thus increasing the risk of DNA contamination.

The simplified cell lysis we described resulted in an efficient amplification of DNA sequences from single amniocytes and oocytes. While the amplification success rate of this method was not better than that of the cell lysis method previously utilized in our laboratory, this simplified method did entail fewer manipulations and shortened the analysis time. By reducing the possibility of DNA contamination, this newly developed method may be better suited for PGD.

Our newly developed cell lysis method appears to be simpler than other methods for cell lysis currently in use. A method involving freezing and boiling is now the standard cell lysis method for cleavage-stage PGD: the freezing and thawing steps destroy the cell membranes, while the final heating step uncovers the nuclear chromatin and denatures the double stranded DNA³⁻⁸. More recently, a two-step protocol, involving lysis in potassium hydroxide and dithiothreitol at 65°C followed by neutralization, has been reported to result in a more efficient amplification of both repeat and single copy DNA sequences than does the freezing and boiling protocol^{9, 10}. This method, however, entails more manipulations than does our simplified method of cell lysis, thus increasing the risk of DNA contamination. The consistently good amplification efficiencies obtained by our method, together with the decreased risk of DNA contaminations, suggests that

this protocol may be the method of choice for PGD.

References

- 1) Delhanty JDA (1994) Preimplantation diagnosis. *Prenat Diagn* 14:1217-1227
- 2) Verlinsky Y, Handyside A, Grifo J, et al. (1994) Preimplantation diagnosis of genetic and chromosomal disorders. *J Assist Reprod Genet* 11: 236-243
- 3) Handyside AH, Pattinson JK, Penketh RJA, et al. (1989) Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. *Lancet* 383: 347-349
- 4) Handyside AH, Lesko JG, Tarin JJ, et al. (1992) Birth of a normal girl after in vitro fertilization and preimplantation diagnostic testing for cystic fibrosis. *New Engl J Med* 327: 905-909
- 5) Chong SS, Kristjansson K, Cota J, et al. (1993) Preimplantation prevention of X-linked disease: reliable and rapid sex determination of single human cells by restriction analysis of simultaneously amplified ZFX and ZFY sequences. *Hum Mol Genet* 2:1187-1191
- 6) Strom CM, Rechitsky S and Verlinsky Y (1991) Reliability of gender determination using the polymerase chain reaction (PCR) for single cells. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 8: 225-229
- 7) Liu J, Lissens W, Devroey P, et al. (1994) Amplification of X- and Y-chromosome-specific regions from single human blastomeres by polymerase chain reaction for sexing of preimplantation embryos. *Hum Reprod* 9: 716-720
- 8) Grifo JA, Tang YX, Munne S, et al. (1994) Healthy deliveries from biopsied human embryos. *Hum Reprod* 9: 912-916
- 9) Gitlin SA, Lanzendorf SE and Gibbons WE (1996) Polymerase chain reaction amplification specificity: incidence of allele dropout using different DNA preparation methods for heterozygous single cells. *J Assist Reprod Genet* 13: 107-111
- 10) Kontogianni EH, Griffin DK and Handyside AH (1996) Identifying the sex of human preimplantation embryos in X-linked disease: amplification efficiency of a Y-specific aliphoid repeat from single blastomeres with two lysis protocols. *J Assist Reprod Genet* 13:125-132

(Received April 30, 1999)

(Accepted May 31, 1999)

着床前遺伝子診断のための簡便なDNA抽出法の検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

橋場剛士, 末岡 浩, 黒島正子, 浅田弘法,

久慈直昭, 吉村泰典

Polymerase chain reaction (PCR) を用いた着床前遺伝子診断は、単一細胞から確実にDNAを抽出する技術が必須である。分析時間の短縮とコンタミネーションを防止するため、より簡便なDNA抽出法を考案し、その診断成功率を従来の方法と比較した。マイクロマニピュレーターを用いて単一羊水細胞・未受精卵を採取し、以下の方法でDNA抽出を行った。(A)法: 3 μ lのPCR buffer (50mM KCl, 10mM Tris-HCl, 1.5mM MgCl₂) + 0.5% Tween20 + 0.1mg/ml Proteinase K 内に細胞を37°C, 10分間インキュベートし、95°C, 10分加熱・遠心した。(B)法: 3 μ lのPCR buffer + 0.5% Tween20 内に細胞を採取しそのままPCR用検体とした。20個の単一羊水細胞から各方法でDNA抽出を行い、DXZ1領域をPCR法にて増幅した。(A)法, (B)法の増幅成功率は、100% (20/20), 100% (20/20)であった。40個の未受精卵の(A)法, (B)法の増幅成功率は、90% (18/20), 85% (17/20)であった。簡便なDNA抽出法は、作業ステップが少なく、分析時間を短縮させることが可能で、増幅成功率も従来の方法と変わりなかった。

キーワード: cell lysis; DXZ1; PCR; preimplantation genetic diagnosis.

(日不妊会誌 44:253-256 1999)

若年男性における精液所見の変化

The Change of Semen Quality among Young Men

東邦大学医学部泌尿器科学第1講座

中居 敏明 三浦 一陽 石井 祝江

Toshiaki NAKAI

Kazukiyo MIURA

Norie ISHII

吉田 淳

永尾 光一

Atushi YOSHIDA

Kouichi NAGAO

原 啓

石井 延久

Hiroshi HARA

Nobuhisa ISHII

First Department of Urology, Toho University School of Medicine,

Tokyo 143-8541, Japan

東邦大学医学部産婦人科学第1講座

上山 讓

Mamoru UEYAMA

First Department of Obstetrics and Gynecology, Toho University School of Medicine,

Tokyo 143-8541, Japan

最近、内分泌攪乱物質の生体における影響が深刻な問題となっている。

その中でもヒトでの精液性状における影響が指摘されてきている。この影響を調査すべく、我々は1987年から1989年の83名と1997年から1998年のそれぞれの健常男性の精液性状を比較検討した。

精子濃度、精子形態、精子運動率、精子運動能指数、東邦大式スコアの5項目に関し検討した。

精子運動率と東邦大式スコアにて10年前の群に精液所見の悪化が認められた。

今回の調査により早急に内分泌攪乱物質に関する問題のさらなる研究、解明が必要と思われた。

キーワード：内分泌攪乱物質、造精機能障害、男性不妊症

(日不妊会誌 44:257-261 1999)

緒 言

最近、内分泌攪乱物質の生体に対する影響が危惧されており、そのひとつに男性における精液所見の変化が指摘され、マスメディア等で毎日のように報じられ各方面で論じられている。そこで我々も10年前に入手した若年男性ボランティアの精液所見と、最近入手した若年男性の精液を比較検討したので、その結果と若干の文献的考察を行った。

対象および方法

対象は1987年より1989年に入手した若年男性ボランティア83名(19歳～27歳、平均20.7歳)のA群と、1997年より1998年に入手した137名(20歳～24歳、平均20.8歳)のB群の未婚若年男性における精子濃度、精子形態、精子運動率、精子直進運動率を表す精子運動能指数(sperm motile efficiency index以下SMEI^①と略)、東邦大式score^②の5項目で検討した。検定方法はMann-Whitney testを使用した。

Sperm Density ($10^6/ml$)	Score	Sperm Morphology (% normal)	Score
≥ 60	0	≥ 60	0
40-59	1	50-59	1
20-39	3	40-49	3
< 20	10	< 40	10
Sperm Motility (%)	Score	Sperm Motile Efficiency Index	Score
≥ 60	0	≥ 70	0
50-59	1	50-69	1
31-49	3	31-49	3
≤ 30	10	≤ 30	10
Strong Agglutination	3		

≤1: 正常 2-4: 異常が疑われる 5-10: 病的 ≥11: 高度の病的状態

図1 東邦大法 (Eliasson Scoreの変法)

東邦大法scoreはEliasson score³⁾の変法で、精子濃度、精子形態、精子運動率、精子運動能指数、精子凝集をそれぞれロガリズムでscore化したものの総計である。この方法は当院リプロダクションセンターおよび関連施設において精液の総合判定基準法として使用し有用な結果を得ている。

精液採取は3日から5日の禁欲期間を持つよう口頭にて指導し、原則として院内採取、用手法 (masturbation) にて行った。なお、精液検査は本来ならば複数回の平均値を原則としているが、今回は若年男性ボランティアのため精液採取は1回しか施行できなかった。また、精液検査を施行した検査者がA群とB群で異なり、この2点で多少の誤差が生じると考えられた。

結 果

精子濃度では、10年前のA群の平均値 $55.3 \times 10^6/ml$ より最近のB群の平均値 $64.1 \times 10^6/ml$ と高値であったが統計学的に有意差は認めなかった。

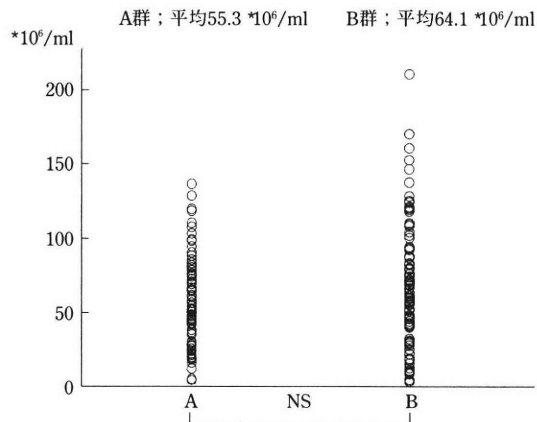


図2 精子濃度

正常精子形態では10年前のA群の平均値は71.1%、最近のB群の平均値73.9%とわずかに高い傾向が見られたがやはり有意差は認められなかった。

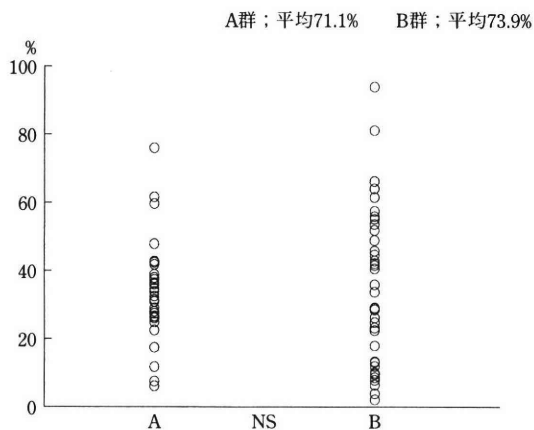


図3 正常精子形態

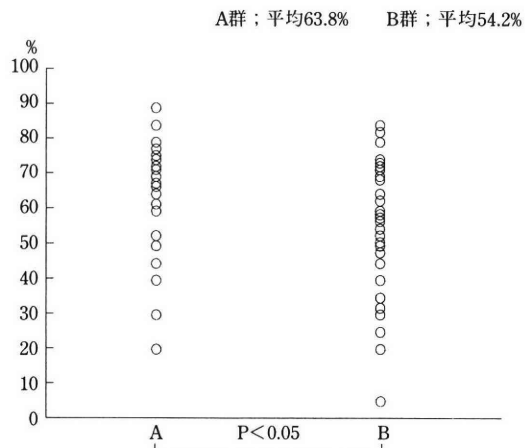


図4 精子運動率

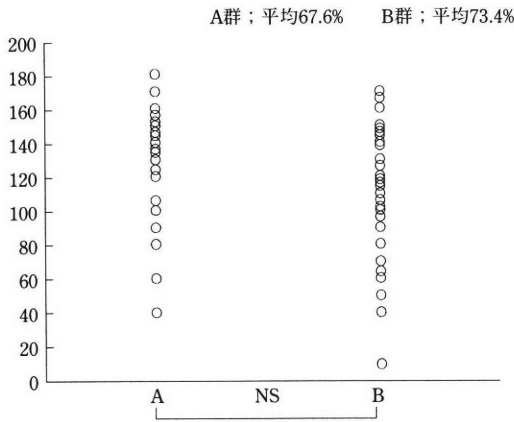


図5 精子運動能指数

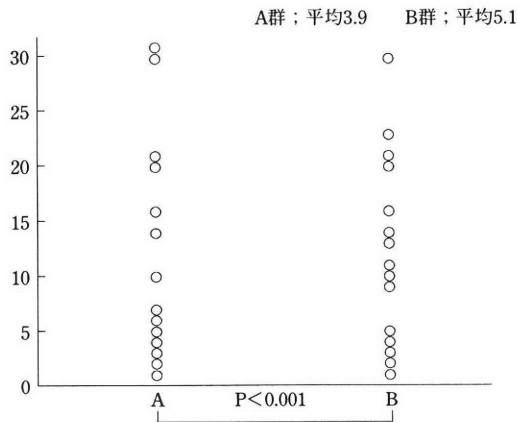


図6 東邦大法Score

精子運動率ではA群の平均値63.8%，B群が54.2%と統計学的にも明らかな有意差を認め(P<0.05)B群で低下していた。

精子の直進運動をみる妊娠と最も関係があると言われている精子運動能指数；SMEIではA群の平均値が67.6，B群の平均値73.4とB群で高い傾向がみられたが有意差を示さなかった。

東邦大法scoreではA群の平均値3.9，B群の平均値5.1と有意差を示し(P<0.001)，B群で低下つまり精液所見の悪化を示していた。

考 察

生体内でホルモン類似作用をもち内分泌系を攪乱させる化学物質は内分泌攪乱物質；Endocrine-Disrupting Chemicalsといわれ、1996年“*Our Stolen Future*”⁷⁾出版以後、急速にその生体への影響を危惧

する声が大きくなってきており、中でもとくにヒト精子所見の変化を示唆する報告が多い。

海外では数年前より精液所見の悪化を指摘している報告が多い⁵⁻¹²⁾。また、1981年と1991年に死亡した中年男性の精巣組織像の比較により造精機能の低下を示す割合が増加していたという報告もある¹³⁾。

我々の若年男性精液所見の10年前と現在の比較では、運動率、精液の総合判定基準法で最近の若年男性に有意な低下がみられたが、本邦においては精子数、精子運動率の低下を認めたという報告¹⁴⁾。非配偶者間人工授精用精液6048例の28年間の調査にて、最初の10年間で精子数が 65×10^6 /mlだったものが最近の9年間では 57×10^6 /mlと統計学的有意差をもって減少を認めたが、精子運動率の変化は認めなかった¹⁵⁾等の報告がある。

内分泌攪乱物質の精子および精子形成に与える影響の証左としては動物において妊娠中に胎児体内でエストロゲン濃度が高まるとセルトリ細胞増殖が抑制され成長後、精子数が減少する^{16, 17)}エストロゲン・レセプターが機能しないマウスにおいて精子形成障害により精子数の減少が認められた¹⁸⁾等がある。また、ダイオキシン¹⁹⁾、PCB²⁰⁾、DDT²¹⁾はそれぞれ実験動物における精子形成障害が明らかになっている。

精液所見悪化に否定的な意見もあり、未だ疫学的調査が不十分である。本邦でも、ヒト胎児臍帯における内分泌攪乱化学物質の濃度調査の試みや²²⁾、環境庁、厚生省、通産省が内分泌攪乱物質に関する研究班を設置し大々的な調査が始まっている。そのような研究成果においてさらなる疫学的調査、環境化学物質の毒性発現機序解明など基礎的研究およびスクリーニング法の確立など早急な対処が必要である。

本論文の要旨は第43回日本不妊学会総会において発表した

文 献

- 1) 三浦一陽, 白井将文 (1984) ベッドサイドで役に立つ検査技術 精液検査. *メディカルコンパニオン*4:1984-1986
- 2) 三浦一陽 (1981) ヒト精液の評価. *臨牀*35:452-454
- 3) Eliasson R (1975) Analysis of semen. In: *Progress in infertility*. ed. by Behrman, S.J. & Kistner RW, Parameters of male fertility. E. S. E. Hafez & T.N. Evans eds. Human reproduction, Conception and contraception. Harper & Row Publishers Inc. New

- York: 39
- 4) Colborn T, Dunanoski D and Myers JP (1996) *Our Stolen Future*, A Dutton Book, New York, p307.
 - 5) Leto S and Frensilli FJ (1981) Changing parameters of donor semen, *Fertil Steril* 36: 766-770
 - 6) Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, et al. (1992) Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Br Med J* 305: 609-613
 - 7) Ginsburg J, Okolo S, Prelevic G, et al. (1994) Residence in the London area and sperm density. *Lancet* 343:230
 - 8) Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, et al. (1995) Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *New Engl J Med* 332: 281-285
 - 9) Irvine S, Cawood E, Richardson D, et al. (1996) Evidence of deteriorating semen quality in the United Kingdom ; birth cohort study in 577 men in Scotland over 11 years. *Br Med J* 312: 467-471
 - 10) Joffe M (1996) Reanalysis of international data finds sharp decline in sperm density. *Environ Health Perspect* 105:1228-1232
 - 11) Van Waelegem K, De Clercq N, Vermeulen L, et al. (1996) Deterioration of sperm quality in young healthy Belgian men. *Hum Reprod* 11: 325-329
 - 12) Swan SH, Elkin EP and Fenster L (1997) Have sperm densities declined? A Reanalysis of global trend data. *Environ Health Perspect* 105:1228-1232
 - 13) Pajarinen J, Laippala P, Penttila A, et al. (1997) Incidence of disorders of spermatogenesis in middle aged Finnish men, *Br Med J* 314: 13-18
 - 14) 遠山裕一 (1998) 第3回Testis Workshop精子形成・精巣毒性研究会抄録集：p8
 - 15) 篠原雅美, 末岡 浩, 土屋慎一 他 (1998) 本邦における精液所見の変化と環境汚染物質の影響に関する示唆. *日不妊会誌* 43: 495
 - 16) Sharpe RM and Skakkebaek NE (1993) Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet* 341: 1392-1395
 - 17) Newbold RR, Bullock BC, McLachlan JA, et al. (1985) Diethylstilbestrol associated defects in murine genital tract development. In McLachlan JA (eds), *Estrogens in the Environment, II :Influences on Development*, Elsevier Science pp288-318
 - 18) Eddy EM, Washburn TF, Bunch DO, et al. (1996) Targeted disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility, *Endocrinology* 137: 4796-4805
 - 19) Mably TA, Moore RW and Goy RW (1992) In utero and locational exposure of male rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. 3. Effects on spermatogenesis and reproductive capability. *Toxicol Appl Pharmacol* 114: 118-126
 - 20) Gray LE Jr, Ostby JS, Kelce WR, et al. (1993) Reproductive and thyroid effects of low-level polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) exposure. *Funda Appl Toxicol* 20:288-294
 - 21) Linder RE, Strader LF, Slott VL, et al. (1992) Endpoints of spermatotoxicity in the rat after short duration exposure to fourteen reproductive toxicants. *Reprod Toxicol* 6: 491-505
 - 22) 森 千里 (1998) 環境ホルモンの健康影響, 精子への影響について, *公衆衛生* 62: 473-477
(受付: 1999年 4月30日)
(受理: 1999年 5月31日)

The Change of Semen Quality among Young Men

Toshiaki Nakai Kazukiyo Miura Norie Ishii Atsushi Yoshida
Kouichi Nagao Hiroshi Hara Nobuhisa Ishii

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

Mamoru Ueyama

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

Recently, serious concern has emerged about the influence of endocrine-disrupting chemicals on the body.

One suggested influence on men is change in the characteristics of the seminal fluid. In order to carry out a detailed analysis of this effect, we comparatively evaluated the seminal fluid collected from 83 healthy young men between 1987 and 1989 and from 137 similar subjects between 1997 and 1998. The five items investigated were sperm density, sperm morphology, sperm motility, sperm motile efficiency index and the Toho University score.

Significant differences were observed between the two groups in sperm motility and the Toho University score. The seminal fluid of young men was found to have worsened over the period of about 10 years, particularly in respect of sperm motility.

This result point to the urgent need for further study in order to elucidate this phenomenon more clearly.

Key words: endocrine-disrupting chemicals, germ cell failure, spermatotoxicity, male infertility

(Jpn J Fertil Steril 44:257-261 1999)

Pregnancy Rate Following Operative Laparoscopy in Infertile Patients with Endometriosis

Yasushi KURIBAYASHI, Bunpei ISHIZUKA, Juichiro SAITO,
Takuhiko SHIROTA, Ichiro SUGAWARA and Akira AMEMIYA

Department of Obstetrics and Gynecology, St. Marianna University School of Medicine,
Kawasaki 216-8511, Japan

Abstract: The rate of pregnancy after laparoscopic surgery was retrospectively studied in 149 infertile women with endometriosis. The extent of endometriosis was laparoscopically evaluated according to R-AFS scoring system, then patients underwent laparoscopic surgery. Electrocautery of peritoneal implants alone was performed in cases without endometrioma (group A). In cases with endometrioma either excision (group B), aspiration (group C), or aspiration plus ablation (group D) was performed. The pelvic cavity was washed and patency of the fallopian tubes was tested following surgical procedure. Patients were followed up for 2 years during which the pregnancy rate was evaluated. The pregnancy rate for different disease stages was 35% in stage I, 36% in stage II, 35% in stage III and 32% in stage IV (n.s.). The pregnancy rates of groups A, B, C and D were 32%, 21%, 33% and 49%, respectively. The pregnancy rate was significantly ($p < 0.05$) greater in group D than in group B.

The present study demonstrated that among laparoscopic treatments of endometriosis, the highest pregnancy rate was obtained following aspiration plus ablation of endometriomas.

Key words: endometriosis, endometrioma, laparoscopy, infertility, pregnancy rate

(Jpn J Fertil Steril 44:263-267 1999)

Introduction

It is estimated that 25-50% of infertile women show evidence of endometriosis, and 30-50% of women with endometriosis are infertile^{1,2)}. Although a causative relationship between pelvic endometriosis and infertility has been well established, the most efficacious treatment for infertile patients with endometriosis has been difficult to ascertain. There is no consensus as to which treatment modality provides the best result, despite reports on the use of various treatments for endometriosis i.e. medical therapy, laparoscopic cauterization and conservative surgery³⁻⁸⁾.

The advantage of laparoscopic surgery is obvious, since intended meaning unclear laparoscopic diagnosis and surgery can be performed simultaneously. Laparoscopic resection or ablation of endometriotic lesions has been performed frequently, but its ability to improve fertility has not been evaluated.

In the present study, we examined the effects of various laparoscopic treatments on the reproductive outcome of patients with different stages of endometriosis and with or without endometriomas.

Methods

We retrospectively studied 149 infertile women who underwent laparoscopy for diagnosis and treatment of endometriosis between 1990 and 1996. Endometriosis had been diagnosed in all patients by transvaginal ultrasonography and serum CA-125 measurement prior to laparoscopy. In accordance with the guidelines of Adamson⁹⁾, MRI or CT scan, and measurement of other tumor markers including alpha-fetoprotein, carcinoma embryonic antigen were done prior to laparoscopy to rule out malignancy. The patients with endometrioma were informed of the risk of ovarian cancer. An inclusion criteria was endometriotic cyst with a diameter of at least 3cm confirmed by laparoscopy.

All laparoscopic procedures were performed under general anesthesia. The patients were placed in a 20° Trendelenburg position and in low dorsolithotomy position with both legs supported by padded stirrups. A multiple trocar technique was used for laparoscopic surgery with video camera and monitor. Initial laparoscopic observation included careful inspection of the pelvic cavity and upper abdomen. Excrescence and suspicious areas, they were biopsied and diagnosis of endometriosis was retrospectively confirmed by histological examination.

A laparoscopic evaluation of the extent of endometriosis was made according to the revised American Fertility Society (R-AFS) classification¹⁰⁾. In cases without endometrioma (group A, n=69), electrocautery of pelvic implants was performed during the laparoscopic procedure. Excision (group B, n=24), aspiration (group C, n=15) or aspiration plus ablation (group D, n=41) was performed in cases with endometrioma.

Endometriosis on the peritoneum in group A, was removed by spoon electrode diathermy which is capable of both cutting and coagulating. All visible lesions and scarred areas were removed under the assumption that the lesions were active endometriosis implants. Endometriomas in group B were incised under laparoscopic control, and cleavage planes were sought. The cyst wall was then separated from the ovarian cortex by two grasping forceps alone or in combination with the aquadissection technique. The capsule of the endometrioma was placed in an endobag and removed through one of the trocars. An incision was made in the endometriomas of group C patients by electrode diathermy and the chocolate-colored fluid contents were aspirated. In group D, the capsule of the endometrioma was extended following aspiration

and the inside wall was ablated by electrode diathermy. Electrocoagulation in group D was carefully performed by coagulating superficial capsule of the inside wall with cautery (less than 40 watts), to avoid damaging of ovarian function. Patients with endometrioma were randomly divided into 3 groups (group B, C and D).

Tubal patency was tested by chromotubation with dilute methylene blue solution and the pelvic cavity was washed with saline immediately after surgery. Only patients with patency of at least one tube demonstrated by laparoscopy and without male factors were included in the study.

Patients were followed up for 2 years during which the pregnancy rate was evaluated. Student's t-test was used for comparison of continuous variables. The Chi-squared test was used to compare the pregnancy rate and the recurrence rate of endometrioma between groups and disease stage over the two years following the laparoscopic surgery. A value of $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

The mean age (\pm SD) and the duration (\pm SD) of infertility of the 149 women were 31.2 ± 4.0 and 3.4 ± 2.5 years, respectively. Mean serum levels of CA-125 prior to laparoscopy were not significantly different between pregnancy and non-pregnancy group (Table 1). Pregnancy rates did not differ significantly among disease stages (stage I, 35%; stage II, 36%; stage III, 35% and stage IV 32%, n.s.) (Table 2). The mean age and duration of infertility and were not significantly different between the groups; group A 31.5 ± 4.5 , 3.2 ± 2.0 years, group B 32.1 ± 3.7 , 3.6 ± 2.0 years, group C 30.6 ± 4.2 , 2.5 ± 1.2 years, group D 31.4 ± 3.9 , 3.6 ± 2.9 years. The mean size of cyst and R-AFS score

Table 1. Characteristics in patients with endometriosis after laparoscopic surgery between pregnancy and non-pregnancy group

	Pregnancy group (n=52)	Non-pregnancy group (n=97)	
Age (years)	29.7 ± 3.5	31.9 ± 5.6	NS
Duration of infertility (years)	2.8 ± 1.2	3.2 ± 3.2	NS
Serum CA-125 (U/ml)	86 ± 93	86 ± 190	NS

Values are means \pm SD. Pregnancy rates were evaluated for two years after 2-years following laparoscopic surgery.

Age: age at the time of laparoscopic surgery

Duration of infertility: duration at the time of laparoscopic surgery

Serum CA-125: levels before the laparoscopic surgery

NS: not significant

Table 2. Pregnancy rate between different stages (R-AFS) following laparoscopic surgery

R-AFS classification	Pregnancy rate
Stage I	35 % (12/34)
Stage II	36 % (12/33)
Stage III	35 % (18/51)
Stage IV	32 % (10/31)
Total	35 % (52/149)

R-AFS denotes the American Fertility Society revised classification of endometriosis. There are no significant differences among stages.

Table 3. Characteristics in patients with endometriosis on different laparoscopic surgery

	Group A (n=69)	Group B (n=24)	Group C (n=15)	Group D (n= 41)	
Age (years)	31.1 ± 5.5	32.0 ± 3.9	32.6 ± 3.9	31.0 ± 3.7	NS
Duration of infertility (years)	3.2 ± 2.0	3.5 ± 2.0	2.5 ± 1.2	3.5 ± 3.0	NS
Cyst size (mm)	—	49.9 ± 19.9	50.8 ± 16.6	49.4 ± 18.2	NS
R-AFR score	11.4 ± 15.8	46.4 ± 14.4	46.5 ± 15.4	44.2 ± 14.1	NS

group A : pelvic endometriosis without endometriomas, group B, C and D: pelvic endometriosis with endometriomas. Values are means ± SD. Age: age at the time of laparoscopic surgery
Duration of infertility: duration at the time of laparoscopic surgery
NS: not significant

Table 4. Pregnancy rate after different laparoscopic surgery

Different treatment	Pregnancy rate
Group A	32% (22/69)
Group B excision (cystectomy)	21% (5/24)
Group C aspiration only	33% (5/15)
Group D aspiration and ablation	49% (20/41) *

group A : pelvic endometriosis without endometriomas,
group B, C and D: pelvic endometriosis with endometriomas.
* p<0.05, compared to treatment groups B and C.

were not significantly different among group B, C and D; group B 49.9 ± 19.9 mm, 46.4 ± 14.4 points, group C 50.8 ± 16.6 mm, 46.5 ± 15.4 points and group D 49.4 ± 18.2 mm, 44.2 ± 14.1 points (Table 3). The recurrence rate of endometrioma for the two years after laparoscopic surgery was 14% in group B, 29% in group C and 31% in group D. The recurrence rate of endometrioma did not significantly differ among the groups. The pregnancy rate for the two years after laparoscopic surgery was 32% in group A, 21% in group B, 33% in group C and 49% in group D (Table 4). The pregnancy rate was significantly higher (p<0.05) in group D as compared with that in group B.

Discussion

The present study demonstrated that the highest

pregnancy rate was obtained by laparoscopic surgery to infertile patients with endometriosis when aspiration and ablation of endometrioma was performed. It has been shown in the literature that surgical treatment, accomplished via excision⁴⁾, electrocautery¹¹⁾, or with the CO₂ laser¹²⁾ for destruction or excision of endometriotic implants, is associated with a higher pregnancy rate than medical treatment or no treatment at all⁹⁾. The probability of conception 2 years after laparoscopic treatment is 3-fold higher than expectant management¹³⁾.

The R-AFS classification system¹⁰⁾ is based on the size and depth of ovarian and peritoneal endometrial implants as determined by laparoscopy, rather than on the symptoms such as severity of algomenorrhea. Discrepancy between R-AFS classification staging and

outcome of infertility has been reported⁶⁾, because the conditions for recording the visual documentation to classify the patient's disease stage are impossible to standardize in general. In fact, the blinded reviewer was limited by the quality of the visual documentation and details recorded by each of the participating investigators. According to R-AFS classification, our study did not exhibit significant differences in pregnancy rates between different stages of the disease (Table 2).

There were no significant differences in levels of circulating CA-125 between fertile and infertile group after laparoscopy in our study (Table 1). However, this test is reported to have poor sensitivity in detecting minimal and mild endometriosis¹⁴⁾. The present results suggested that CA-125 levels are not able to predict the fertility outcome of infertile patients undergoing laparoscopic surgery.

The results of our study demonstrated that pregnancy rate after laparoscopic aspiration plus ablation of inside wall of endometriomas were significantly higher than that after excision or aspiration alone of endometriomas in cases of > 30mm (Table 4).

Ablation of the inside wall of endometriomas is associated with higher pregnancy rates than excision since excision of the cyst including the capsule results in removal of ovarian cortex and loss of follicles¹⁵⁾. Simple puncture and drainage of endometriomas fails to result in pregnancy in approximately two third of the cases. It was suggested that drainage alone is completely ineffective in the management of large endometrioma¹⁶⁾. As pointed out by Keye et al.¹⁷⁾ and Kojima et al.¹⁸⁾, a more successful approach than aspiration alone involves drainage of the cyst followed by electrosurgical or laser ablation of the cyst wall. Although ablation of the inside wall of endometriomas obtained higher pregnancy rates, this procedure also resulted in recurrence at a rate of 31% endometrioma after surgery within 2 years. The high rate of pregnancy and recurrence following ablation of the inside wall of endometriomas may indicate that this procedure remains ovarian function well.

Endometriosis-associated infertility is often confounded by additional factors and variables, which include age, duration of infertility, multiple factor infertility and prior history of pregnancy. If endometrio-

sis is determined to be the only factor causing infertility, laparoscopic treatment is the best choice. The Agency for Health Care Policy and Research process evaluated that for endometriosis, medical treatment did not improve pregnancy rates, and surgery appeared superior to others⁷⁾. However, a recurrence or persistence rate following laparoscopic excision of endometrioma was around 20% at 5 years¹⁹⁾ and the median interval between laparoscopic excision and conception was 13.3 months²⁰⁾. Adamson and Paster⁷⁾ demonstrated that surgical result by laparoscopy showed 70% of moderate and severe disease endometriosis-only patients were pregnant at 2 years⁷⁾. These reports suggest that endometriosis-associated infertility may require an additional treatment if conception does not occur within 2 years.

When laparoscopic surgery is performed for infertile patients with endometrioma, aspiration, extent of the cyst, and ablation of the inside wall of the cyst is indicated.

References

- 1) Mahomood TA and Templeton A (1990) Pathophysiology of mild endometriosis: review of literature. *Hum Reprod* 5 : 756-784
- 2) Christman GM and Halme JK (1992) Pathophysiology of endometriosis-associated symptoms. *Infertil Reprod Clin N Am* 3 : 551-564
- 3) Hull ME, Moghissi KS and Magyar DF (1987) Comparison of different treatment modalities of endometriosis in infertile women. *Fertil Steril* 47 : 40-44
- 4) Fayez JA, Collazo LM and Vernon C (1988) Comparison of different modalities for minimal and mild endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 159 : 927-932
- 5) Chong AP, Keene ME and Thornton NL (1990) Comparison of three modes of treatment for infertility patients with minimal pelvic endometriosis. *Fertil Steril* 53 : 407-410
- 6) Paulson JD, Asmar P and Saffan DS (1991) Mild and moderate endometriosis: comparison of treatment modalities for infertile couple. *J Reprod Med* 36 : 151-155
- 7) Adamson GD and Pasta DJ (1994) Surgical treatment of endometriosis-associated infertility: Meta-analysis compared with survival analysis. *Am J Obstet Gynecol* 171 : 1488-1506
- 8) Marcoux S, Maheux R and Berube S, The Canadian collaboration group on endometriosis (1997)

- Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. *N Engl J Med* 337 : 217-222
- 9) Adamson GD (1993) Advantages of laparoscopic and laser surgery. *Infertil Reprod Clin N Am* 4 : 239-254
 - 10) Buttram VC Jr (1985) Evolution of the revised American Fertility Society classification of endometriosis. *Fertil Steril* 43 : 347
 - 11) Hasson HM (1982) Laparoscopic management of ovarian cysts. *J Reprod Med* 35 : 863-867
 - 12) Daniell JF, Kurtz BR and Gurley LD (1991) Laser laparoscopic management of large endometriosis. *Fertil Steril* 55 : 692-695
 - 13) Tulandi T and Mouchawar M (1991) Treatment-dependent and treatment-independent pregnancy in women with minimal and mild endometriosis. *Fertil Steril* 56 : 790-791
 - 14) Pittaway DE, Rondinone D, Miller KA, et al. (1995) Clinical evaluation of CA-125 concentration as a prognostic factor for pregnancy in infertile women with surgically treated endometriosis. *Fertil Steril* 64 : 321-324
 - 15) Brosens IA, Ballaer PV, Puttemans P, et al. (1996) Reconstruction of the ovary containing large endometriosis by an extraovarian endosurgical technique. *Fertil Steril* 4 : 517-521
 - 16) Donnez J, Anaf V, Nisolle M, et al. (1994) Ovarian endometrial cysts: the role of gonadotropin-releasing hormone agonist and/or grainage. *Fertil Steril* 62 : 63-66
 - 17) Keye WR Jr, Hansen LW, Astin M, et al. (1987) Argon laser therapy of endometrioma: A review of 92 consecutive patients. *Fertil Steril* 47 : 208
 - 18) Kojima E, Morita M, Otaka K, et al. (1990) Nd: YAG laser laparoscopy for ovarian endometrioma. *J Reprod Med* 35 : 592-596
 - 19) Redwine DB (1991) Conservative laparoscopic excision of endometriosis by sharp dissection: life table analysis of reoperation and persistent or recurrent disease. *Fertil Steril* 56 : 628-634
 - 20) Taulandi T and Al-Took S (1998) Reproductive outcome after treatment of mild endometriosis with laparoscopic excision and electrocoagulation. *Fertil Steril* 69 : 229-231

(Received April 30, 1999)

(Accepted May 31, 1999)

子宮内膜症を伴う不妊症における腹腔鏡下手術後の妊娠率についての検討

聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室

栗林 靖, 石塚文平, 斎藤寿一郎, 代田琢彦
菅原一朗, 雨宮 章

腹腔鏡により子宮内膜症と診断し同時に腹腔鏡下に治療を行った149名の不妊症患者を対象とし術後2年までの妊娠の有無について検討した。腹腔鏡による子宮内膜症の評価は、R-AFSの分類に従って行った。腹腔鏡下の治療方法は、骨盤腔内の腹膜内膜症しか認めなかったものには、電気凝固を施行し(group A)、子宮内膜症性卵巣嚢腫を伴うものに対しては、嚢腫核出術(group B)、穿刺吸引のみ(group C)、穿刺吸引後嚢腫内電気凝固(group D)のいずれかを行った。また、術直後に卵管疎通性確認のため卵管色素注水とその後腹腔内洗浄を全例に施行した。AFSの分類別の妊娠率は、Ⅰ期35%、Ⅱ期36%、Ⅲ期35%、Ⅳ期32%と各病期期間に有意な差は認めなかった。腹腔鏡下手術における手術法別の妊娠率は、group A 32%、group B 21%、group C 33%、group D 49%であり、group Bとgroup D間に有意差を認めた ($p < 0.05$)。

今回の我々の検討により、子宮内膜症性卵巣嚢腫に対する腹腔鏡下手術として嚢腫内容吸引後の嚢腫被膜への電気凝固が、高い妊娠率を得ることが出来ることが示唆された。

キーワード：子宮内膜症, チョコレート嚢腫, 不妊症, 腹腔鏡, 妊娠率

(日不妊会誌 44:263-266 1999)

HMG/ テストステロン療法にて造精機能発現に成功した Kallmann 症候群の 1 例

Spermatogenesis was Induced by hMG/Testosterone Therapy in Kallmann's Syndrome : A Case Report

慶應義塾大学医学部泌尿器科学教室

宮 地 系 典 村 井 勝
Keisuke MIYAJI Masaru MURAI

Department of Urology, Keio University, School of Medicine,
Tokyo 160-8582, Japan

東京歯科大学市川総合病院泌尿器科

青 柳 貞一郎 早 川 邦 弘
Teichiro AOYAGI Kunihiro HAYAKAWA

石 川 博 通 畠 亮
Hiromichi ISHIKAWA Makoto HATA

Department of Urology, Tokyo Dental College, Ichikawa General Hospital,
Chiba 272-8513, Japan

国立大蔵病院泌尿器科

大 橋 正 和
Masakazu OOHASHI

Department of Urology, Ookura National Hospital,
Tokyo 157-0074, Japan

けいゆう病院泌尿器科

井 沢 明
Akira IZAWA

Department of Urology, Keiyu Hospital,
Yokohama 220-0012, Japan

症例は32歳男性で不妊を主訴として当科を受診した。性欲、勃起、オルガスムスは正常であるが、射精を認めたことがなかった。精巣容量は両側とも3mlで、陰茎は矮小、陰毛はTanner 2度であった。内分泌学的検査ではLH、FSH、テストステロン基礎値はすべて低値であり、LH-RH負荷試験、hCG負荷試験はいずれも低反応を呈した。嗅覚試験のアリナミンテストは陰性で、嗅覚低下が認められた。以上よりKallmann症候群と診断した。最初にhCG/hMG療法を6カ月施行したが、テストステロン値の上昇が得られず、症状も改善しなかった。そこでhMG/テストステロン療法へと変更したところ6カ月後に射精を認めた。hCG/hMG療法で造精機能が発現困難な本症では、hMG/テストステロン療法は有用な治療法の一つと考えられた。

キーワード：Kallmann症候群、hMG/テストステロン療法

(日不妊会誌 44:269-272 1999)

緒 言

嗅覚異常を伴う低ゴナドトロピン性性腺機能不全症はKallmann症候群と呼ばれる。本症の原因は視床下部の先天性発育異常にあり、視床下部からのLH-RH分泌不全により下垂体からのLH、FSHの分泌が低下し、第2次性徴、造精機能の発現が障害される。治療としてはhCG/hMG療法、LH-RH間欠的投与方法が施行されており、治療開始年齢が高いほど治療効果は悪いといわれている。今回我々は、不妊を主訴としたKallmann症候群に対し、hMG/テストステロン療法を試み造精機能発現に成功したので報告する。

症 例

患者；32歳、男性。

主訴；不妊(結婚生活1年間)

家族歴、既往歴；特記すべきことはない。

現病歴； 7月不妊を主訴として当科を受診した。性欲、勃起、オルガスムスは正常であるが、通常の射精を認めたことがなかった。スーパーマーケットの鮮魚売り場に勤務していたが、臭いがよくわからず職場を代えられたことがあった。

現症；身長159cm、体重65kgで指極長は162cmであった。陰毛はTanner 2度、陰茎は矮小であった。精巣容量は両側とも3mlであった。直腸診上前立腺はほとんど触知できなかった。

血中ホルモン検査；テストステロン 0.5ng/ml、LH 0.5mIU/ml、FSH 0.6mIU/ml、プロラクチン1.1ng/mlと血中ホルモン基礎値はすべて低値であった。

LH-RHテスト、hCGテスト；いずれも低反応であった(図1)。

嗅覚試験；アリナミンテスト、アルコールテストともに陰性で嗅覚低下が認められた。

染色体検査；46XYと正常男性の核型であった。
精液検査；オルガスムは感じるが射精できないため検査は不可能であった。オルガスム後の尿中にも精子を認めなかった。

頭部CT；下垂体萎縮が認められた。

尿検査、IVP、UG；尿路に異常所見は認められなかった。

以上よりKallmann症候群と診断した。

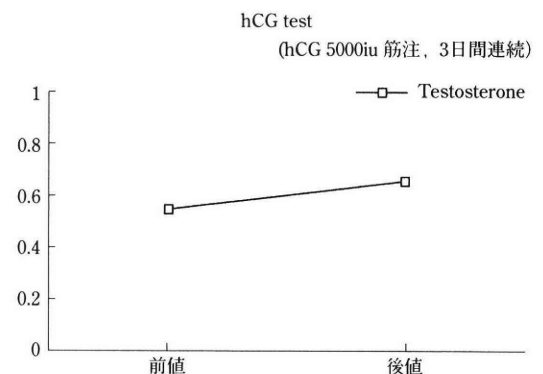
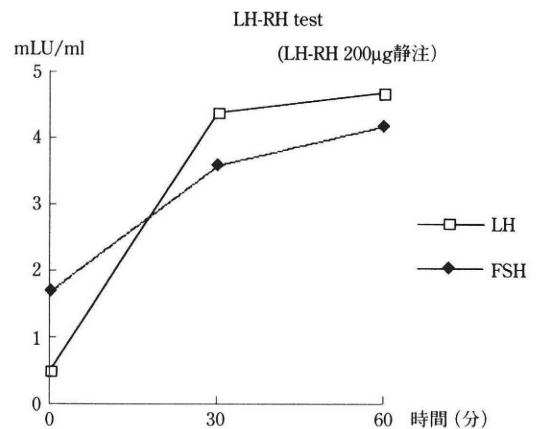


図1 LH-RH test およびhCG test

治療および経過

最初にLH,FSH補充療法としてhCG 5000単位/hMG 75単位週1回筋注を6カ月間施行したが、テストステロン値の上昇が得られなかったため、hMG75単位/testosterone enanthate(以下TE)125mg 週1回筋注へ変更とした。その結果6カ月後にテストステロン値は13.6ng/mlへ上昇し、無精子症ではあるものの通常の射精を認めるようになった(精液量1.0ml)。さらにhMG75単位毎週筋注、TEの隔週筋注を6カ月行ったら精液量は2.0mlと増加し、精巢容量は6mlになった。また陰茎も発達し、陰毛もTanner4度となった。この時点での血中テストステロン値は9.6ng/mlであった。以後はhMG75単位毎週筋注を続け、TEの投与間隔を3週毎とし、この方法を6カ月間続けた。hMG/テストステロン療法開始18カ月後に、精液中(3.0ml)に精子が認められるようになった(精子濃度 2×10^6 /ml, 運動率 10%)。

考 察

嗅覚障害を伴う低ゴナドトロピン性性腺不全症であるKallmann症候群は1944年に報告された¹⁾。本症の頻度は男子では約1万人に1人、女子では約5万人に1人で、男子に多い疾患である²⁾。本症候群は先天的な視床下部の発育不全に起因するLH-RH分泌不全により発症するものであるが、視床下部に隣接する嗅覚神経の発育不全も合併するために嗅覚障害を生ずる。PetitとBallabioらがXp22,3領域にある関連遺伝子を同定し、それぞれのグループがADMLX 遺伝子、KALIG遺伝子と命名した⁷⁻¹¹⁾。GeorgopolousらによるとKallmann症候群は66%が散発性で家族性は34%であり、そのうちX染色体連鎖性は18%である^{13,14)}。合併症には嗅覚異常の他に、口蓋裂、難聴、色覚異常、知能障害などがあり、男性では停留精巣、女性化乳房を伴うこともある。本症の初診時の平均年齢は男子が25.0歳、女子が24.1歳であり、多くが第2次性徴の発現年齢を超えているため、主訴は第2次性徴の遅延よりもむしろ外陰部の異常、不妊が多い。また、染色体検査は正常核型を示すものがほとんどである⁴⁾。LH-RHテストおよびhCGテストの成績はほとんどの症例でいずれも正常～低反応を示す。治療は男性では第2次性徴の発現および造精機能の発現を目的とするため、テストステロンおよびFSHの補充療法が主体となる⁵⁾。従って一般的な治療法はLH作用を持つhCGと、FSH作用をもつhMGの併用療法である。我々もまず6カ月間hCG5000単

位/hMG75単位を週1回投与したが、テストステロン値の上昇が得られなかった。造精機能発現にはFSHとともにテストステロンが必須であることから次にhMG75単位/TE125mgの併用療法を試みた。ここで用いたテストステロン療法に関してはその効果に関して議論の多いところである。すなわち過剰のテストステロンで不可逆性造精機能障害を起こす可能性があることは古くから知られており、布施ら⁶⁾も精液中に精子をみた低ゴナドトロピン性性腺機能不全症に対するテストステロンの補充療法で無精子症となった症例を報告している。一方、Burgerら¹²⁾はテストステロン投与後でもゴナドトロピンの補充で造精機能回復が期待できると報告しており、Baranetskyら¹⁵⁾も、後天性の低ゴナドトロピン性性腺不全症がテストステロンの補充で造精機能が維持されたと報告している。またLeyら¹⁶⁾はアンドロゲン投与後、hCGを投与し、最後にhMG投与によって、全例に精子出現を見た報告している。以上より、現在までの報告例では、外因性テストステロンの投与は造精機能障害を起こす可能性はあるが、その後のゴナドトロピン投与などで回復可能であるとの考え方が多い。そこで我々は後者の知見に準じてテストステロン併用療法を施行することとした。血中テストステロン値を観察しながら正常値の範囲を超えないように投与したことが造精機能発現に有用であったと考えているが、テストステロン投与の是非については今後の検討を要するものと思われる。また、このことに関連してKallmann症候群の治療にあたってはホルモン剤の種類、投与量、投与期間などを1例ごとに設定すると同時に基本となる治療指針を考案する必要があると考えられた。

文 献

- 1) Kallmann FJ, Schoenfeld WA, Barre SF, et al. (1944) The genetic aspects of primary eunuchoidism. *Am J Ment Defic* 48:203-236
- 2) Jones JR and Kemmann E (1976) Olfacto-genital dysplasia in the female. *Obste Gynecol Annu* 5:443-466
- 3) 大西毅尚, 小林一昭, 亀田晃司 他(1993) Kallmann症候群の1例. *西日泌* 55:282-285
- 4) 近藤福次, 藤井敬三, 岡村廉晴 他(1986) Kallmann症候群の2例. *泌尿紀要* 32:129-134
- 5) Steinberger E(1971) Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Phiol Rev* 1-22
- 6) 布施秀樹, 高原正信, 石井弘之 他(1989) Kallmann症候群. *日不妊会誌* 34:142-147

- 7) 高橋弘昭(1997) Kallmann症候群. 小児内科 29 : 529-530
- 8) Ballbio A, Parent G, Tippett P, et al. (1986) X-linked ichthyosis, due to steroid sulphatase deficiency, associated with Kallmann syndrome (hypogonadotropic hypogonadism and anosmia): linkage relationship with Xg and cloned DNA sequences from the distal short arm of the X chromosome. *Hum Genet* 72:237-240
- 9) Hardelin J-P, Levilliers J, del Castillo I, et al. (1992) X chromosome linked Kallmann syndrome: Stop mutation validate the candidate gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 89 : 8190-8194
- 10) Legouis R, Lievre CA, Leibovich M, et al. (1993) Expression of the KAL gene in multiple neuronal sites during chicken development. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:2461-2465
- 11) Parenti G, Rizzolo MG, Ghezzi M, et al. (1995) Variable penetrance of hypogonadism in a sibship with Kallmann syndrome due to a deletion of the KAL gene. *Am J Med Genet* 57:476-478
- 12) Berger HG, Dekretser DM, Hudsins B, et al. (1981) Effects of preceding androgen therapy on testicular response to human pituitary gonadotropin in hypogonadotropic hypogonadism: A study of three patients. *Fertil Steril* 35:64-68
- 13) 中井義勝(1997) Kallmann症候群. 別冊医学のあゆみ. 赤沼安夫編, 28巻, 医歯薬出版, 東京, pp336-338
- 14) Georgopolous NA (1997) Genetic heterogeneity evidenced by low incidence of KAL-1 gene mutations in sporadic cases of gonadotropin releasing hormone deficiency: *J Clin Endocrinol Metab* 81:213-217
- 15) Barantsky NG and Carlson HE (1980) Persistence of spermatogenesis in hypogonadotropic hypogonadism treated with testosterone: *Fertil Steril* 34: 477-482
- 16) Ley SB and Leonad JM (1985) Male hypogonadotropic hypogonadism: Factors influencing response to human chorionic gonadotropin and human menopausal gonadotropin, including prior exogenous androgen: *J Clin Endocrinol Metab* 61:746-752

(受付: 1999年4月8日)

(受理: 1999年5月26日)

Spermatogenesis was Induced by hMG/Testosterone Therapy Kallmann's Syndrome : A Case Report

Keisuke Miyaji and Masaru Murai

Department of Urology, Keio University, School of Medicine,
Tokyo 160-8582, Japan

Teiichiro Aoyagi, Kunihiro Hayakawa, Hiromichi Ishikawa and Makoto Hata

Department of Urology, Tokyo Dental College, Ichikawa General Hospital,
Chiba 272-8513, Japan

Masakazu Oohashi

Department of Urology, Ookura National Hospital, Tokyo 157-0074, Japan

Akira Izawa

Department of Urology, Keiyu Hospital, Yokohama 220-0012, Japan

Abstract: A 32-year-old male patient consulted our hospital with the chief complaint of infertility. He had libido, erection and orgasmus but had no ejaculation. He had a small penis with a prepubertal appearance of Tanner 2 and testicular volumes of 3 ml. Endocrinological evaluations revealed low levels of plasma LH, FSH, and testosterone. Both of LH-RH loading test and hCG loading test produced poor reactions. He had anosmia by olfactometry. He was diagnosed to have Kallmann's syndrome. For 6 months gonadotropin therapy (hCG and hMG) had been performed with no improvement in symptoms. The plasma testosterone level was not increased. Therefore the treatment was changed to hMG and testosterone therapy. He became able to ejaculate and spermatogenesis was induced after the treatment. hMG and testosterone therapy is suggested to be effective for a present case.

Key words: Kallmann's syndrome, hMG and testosterone therapy

採卵後に遅発型骨盤内感染症を来した2例

Two Cases of Late Manifestation of Pelvic Inflammatory Disease (PID) after Oocyte Retrieval

横浜労災病院産婦人科

町田 稔文	紙谷 節夫	鈴木 理絵
Toshifumi MACHIDA	Takao KAMIYA	Rie SUZUKI
松本 加代	菊地 紫津子	草場 徳雄
Kayo MATSUMOTO	Shizuko KIKUCHI	Tokuo KUSABA

Department of Obstetrics and Gynecology, Yokohama Rosai Hospital,
Yokohama 222-0036, Japan

アモルクリニック

児島 孝久
Takahisa KOJIMA

Amor Clinic, Yokohama 222-0033, Japan

採卵術後2週間以上経過し、腹膜炎および卵巣留膿腫を来し、開腹術を施行した2症例を経験した。症例1は、35歳で診断は原発性不妊症。子宮筋腫核出術既往(33歳)有。平成9年9月15日採卵、9月17日、胚移植を施行したが9月30日より月経が認められた。基礎体温高温相持続(約37°C)したが、妊娠反応陰性であった。平成9年10月21日右下腹痛出現、骨盤腹膜炎の診断で緊急腹腔内ドレナージを施行した。さらに、左卵巣留膿腫の診断で平成10年1月28日左卵巣部分切除を施行した。症例2は30歳で診断は原発性不妊症、子宮内膜症(r-AFS stage III)。平成8年3月腹腔鏡下チョコレート嚢腫アルコール固定術を施行した。平成10年9月8日採卵、9月10日、胚移植を施行した。9月23日より下腹痛、発熱が認められ、汎発性腹膜炎、急性付属器炎、卵巣留膿腫の診断で、右付属器切除術を施行した。アモルクリニックにおける採卵後の骨盤内膿瘍の発生率は0.11%だった。文献的には、0.2~0.6%との報告があるが、自験例のような遅発型の発症はさらに稀との報告もある。採卵後2週間以上経過しても、腹膜炎、卵巣留膿腫などが発症する可能性を考慮し、フォローアップの必要性が示唆された。

キーワード：体外受精胚移植、採卵術、骨盤腹膜炎、卵巣留膿腫

(日不妊誌 44:273-277 1999)

緒言

体外受精胚移植(IVF-ET)における採卵法として経腔超音波ガイド下卵胞穿刺法は、多くの施設で施行され採卵法として定着している。しかし、本法に伴う合併症、後遺症等の発症率などの報告はあまり多くはない。合併症の中でも骨盤内感染症は比較的稀であり、その多くが採卵後1週間以内の急性発症であ

る。しかし、今回我々は採卵後2週間以上経過し、月経が認められた後に骨盤内感染症として発症した2症例を経験したので報告する。

症例1

35歳、女性。既往歴および家族歴に特記事項はない。妊娠分娩歴は、0回経妊0回経産。月経歴は順調、30日型、持続8日間であり、月経障害は認めら

れない。現病歴では、6カ月の不妊を主訴にして近医受診後、平成5年12月13日当科を紹介初診した。初診時、内診所見は子宮体部は正常大で、子宮右側に鶏卵大腫瘤を触知した。超音波断層法では充実性を示し、CTでは子宮漿膜下筋腫を示す所見であった。以上より、子宮漿膜下筋腫、原発性不妊症の診断となった。月経困難症、過多月経などの症状もなく、また不妊期間が6カ月であり患者も不妊症の原因検索をすぐには希望しなかったため、しばらく基礎体温などによるタイミング法のみで自然経過とした。平成6年10月妊娠に至らず一般不妊検査を開始したが、子宮卵管造影、LH-RHテスト、TRHテスト、精液検査、ヒューナーテスト、クラミジア抗原および抗体検査のいずれにも異常は認められなかった。子宮漿膜下筋腫以外一般不妊検査では異常は認められず、原因不明不妊として当帰芍薬散の投薬を開始した。さらに、平成6年12月よりclomid+hCG療法、平成7年6月よりhMG+hCG療法を施行したが、妊娠には至らなかった。平成7年10月下旬腹痛が認められ子宮筋腫の変性所見が疑われたため、平成7年11月15日子宮筋腫核出術および通色素試験を施行した。術中所見としては、子宮体部より鶏卵大の子宮漿膜下筋腫が認められたが、両側付属器は正常だった。腹膜、付属器などに子宮内膜症所見は認められず、また付属器癒着も認められなかった。術後診断は子宮漿膜下筋腫で、術後自然経過観察となった。その後も妊娠に至らず本人の希望もあり、平成8年5月31日アモルクリニックで紹介受診し、以後同クリニックで不妊治療を施行した。

平成8年7月より原因不明不妊としてIVF-ETを開始した。平成8年8月1回目のIVF-ETを施行したが妊娠には至らなかった。平成9年9月2日を最終月経として2回目のIVF-ET施行目的で、酢酸ブセレリン(スプレキュア®)900 μ g/day投与を開始した。平成9年9月3日(day2)よりhMG(ヒュメゴン®)150IU/dayの連日投与を開始した。9月10日(day9) estradiol(E₂):1848 pg/ml, progesterone(P₄):0.8ng/ml, 9月13日(day12) hMG(ヒュメゴン®)150IU/day11回終了、主次席卵胞径23 \times 24mm, 22 \times 28mm, 血中E₂:4210pg/ml, P₄:1.4ng/ml, となり、同日午後11時hCG5000IUを投与した。9月15日午前10時静脈麻酔下で採卵(採卵数4)を施行した。術中および術後は出血や疼痛などは通常の採卵時と同様であった。なお、卵胞と思われたものの一つはチョコレート嚢胞であった。媒精に使用した原精液は、精子濃度57 \times 10⁶/ml, 運動率53.4%, 奇形率14.0%であり、MS管を使用した

スィムアップダウン法で処理して媒精用の精子浮遊液とした。9月17日胚移植施行し、9月17日, 19日, 21日にそれぞれhCG2000IUを投与したが、9月30日より月経が認められ尿妊娠反応は陰性であった。基礎体温は約37 $^{\circ}$ Cで高温相が持続したが、10月9日血中E₂:44pg/ml, P₄:0.5ng/mlと妊娠は否定的だった。その後は下腹痛や明らかな発熱などは認められなかった。10月20日採卵後高温相が4週間以上継続した時点でもとくに自覚症状は認められず、超音波所見では左卵巣に32 \times 33mmの嚢胞が認められたが内診上圧痛は認められなかった。

10月21日強度の右下腹痛出現し当院救急外来を受診した。白血球数は13400/mm³, CRP2+, 体温は36.9 $^{\circ}$ Cであった。CT(図1)および超音波所見で骨盤腹膜炎が認められ、また左卵巣の腫大(図2)が認められたが採卵後の影響と考え、右下腹痛が主訴であることや理学所見、臨床症状等より骨盤腹膜炎および急性虫垂炎の診断で、当院外科にて緊急手術(虫垂切除術、腹腔内ドレナージ)を施行した。術中所見で虫垂および右付属器の癒着、左卵巣の腫大が認められた。なお両側とも卵管の腫大は認められなかった。摘出した虫垂の内部には炎症所見は認め

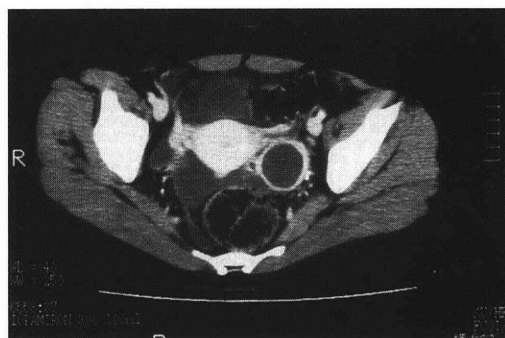


図1 症例1 腹部CT所見

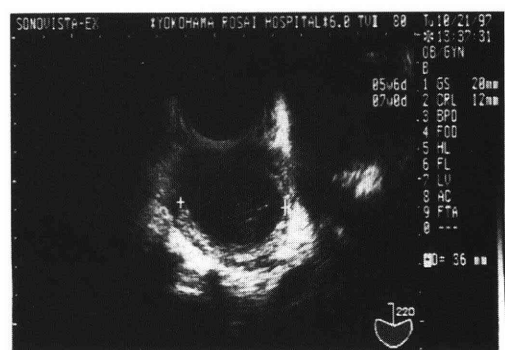


図2 症例1 経膈超音波断層法所見

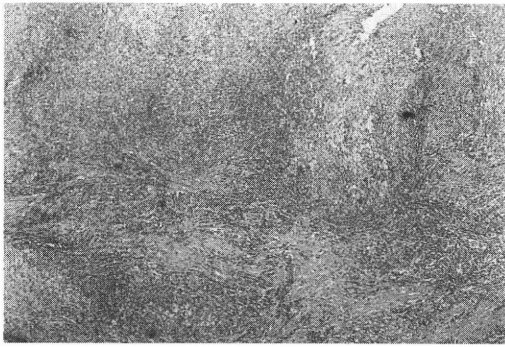


図3 症例1 部分切除した左卵巣組織像(HE染色)

られず急性虫垂炎は否定的で、術後診断は骨盤腹膜炎、両側付属器炎であった。術中採取した検体による細菌学的検索では、起炎菌は同定できなかった。術後は、セフェム系抗生剤点滴5日間、さらにペニシリン系経口抗生剤およびセフェム系経口抗生剤をそれぞれ2週間投与し、産婦人科で経過観察した。平成9年11月12日クラミジア抗体IgA, IgGおよび抗原検査ではいずれも陰性、白血球数4800/mm³, CRP2+, 12月10日白血球数4700/mm³, CRP(-)であり、経過観察中明らかな発熱は認められなかった。しかし、左卵巣の腫大および圧痛の間欠的な継続が認められ、左慢性卵巣留膿腫の診断で平成10年1月28日左卵巣部分切除を施行した。術中所見では左卵巣が約5cmに腫大し淡黄色の内溶液が約10ml認められた。細菌学的検索は施行されなかった。両側卵管の腫大はなく術中通水試験で疎通性良好であり、右卵巣は正常大であった。部分切除した卵巣の病理学的検索では、リンパ球が多数で慢性炎症所見が認められた(図3)。

症例2

30歳、女性。既往歴に横隔膜ヘルニア手術(3歳)があるが、家族歴、妊娠歴に特記事項はない。月経歴は順調で、28日型、過多月経および月経困難症を認めた。他院にて子宮内膜症の診断で平成7年12月まで6カ月間酢酸ブセレリン(スプレキュア®)を使用していた。その後、腹腔鏡検査を希望して平成8年2月22日当科を初診した。初診時内診所見は子宮は正常大、右付属器は正常、左付属器は鶏卵大の腫瘤を触知した。超音波断層法では左卵巣がチョコレート嚢腫の所見を示し、血中CA125は18 U/mlで、初診時診断は左チョコレート嚢腫、原発性不妊症であった。一般不妊検査は前医で施行しており、とくに異常は認められなかった。平成8年3月腹腔鏡下チョコレート

ト嚢腫アルコール固定術および卵管通水通色素検査を施行した。r-AFS分類でstageⅢ, Beecham分類ではstageⅡであった。以後、自然経過となったが妊娠に至らず、平成8年9月アモルクリニック受診し不妊治療を開始した。同クリニック初診時のCA125は12U/ml、クラミジア抗原は陰性、抗精子抗体は陰性であった。平成9年3月より人工授精を開始し、平成9年9月までに6回施行、平成9年11月1回目のIVF-ETを平成10年5月2回目のIVF-ETを施行するも妊娠に至らなかった。3回目のIVF-ET目的で平成10年8月26日を最終月経として8月27日(day 2)より酢酸ブセレリン(スプレキュア®)およびhMG(ヒュメゴン®) 300IU/dayの投与を開始した。9月5日(day 11)主次席卵胞径26×24mm, 18×17mm, 血中E₂: 3160pg/ml, P₄: 1.4 ng/mlとなり9月6日午後10時、hCG 5000IUを投与し、9月8日午前10時、静脈麻酔下で採卵を施行(採卵数10)した。術中および術後は、とくに出血や疼痛などは認められなかった。媒精に使用した原精液は、精子濃度38×10⁶/ml, 運動率55.2%, 奇形率7.8%であり、MS管を使用したスイムアップダウン法で処理して媒精用の精子浮遊液とした。9月10日胚移植を施行し、9月10日, 13日, 17日にそれぞれhCG 2000IUを投与した。9月23日より月経が認められ、同日夜に下腹痛、下痢および38℃の発熱を認めたため、9月24日同クリニック受診した。尿妊娠反応は陰性、血中E₂: 158pg/ml, P₄: 2.5ng/mlと妊娠は否定的で、下痢を随伴していたため腸炎の診断で抗生物質を投与したが症状がさらに悪化し当院救急外来を受診した。臨床症状、理学的所見、CT(図4)および超音波所見(図5)等より汎発性腹膜炎、急性付属器炎、卵巣留膿腫と診断し緊急手術を施行した。術中所見では腹腔内に膿汁が広がっており、右卵巣留膿腫の破裂が認められた。右卵管は腫大等の異常は認められず、左付属器は正常だった。以上の所見よ

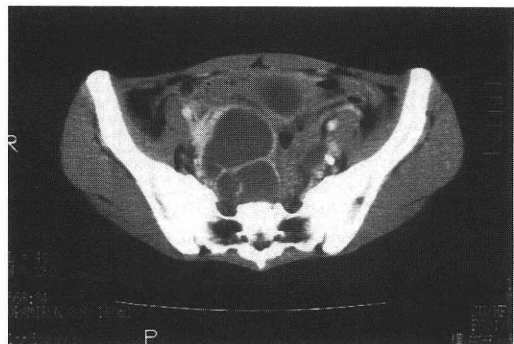
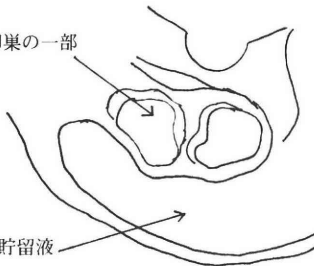


図4 症例2 腹部CT所見



破裂した右卵巢の一部



ダグラス窩貯留液

図5 症例2 経膈超音波断層法

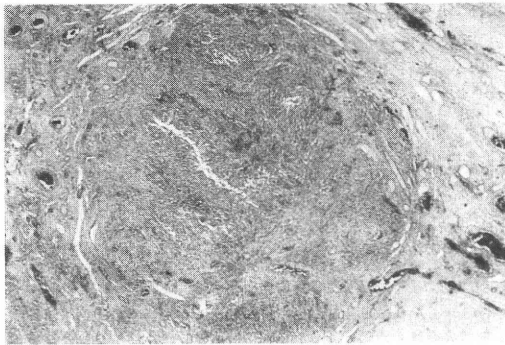


図6 症例2 切除した右卵巢組織像(HE染色)

り、汎発性腹膜炎、右卵巢留膿腫破裂と診断し、右付属器切除術、腹腔内ドレナージを施行した。なお、細菌学的検索は施行されなかった。病理学的検索では、好中球が多数認められ急性炎症を示す所見が認められた(図6)。

考 察

腹腔鏡または開腹術により腹腔内を観察した既往のある症例に対し、採卵術後に発生した汎発性腹膜炎または骨盤腹膜炎を伴う卵巢留膿腫を経験した。アモルクリニック開設以来約1800件の採卵で本報告の遅発型骨盤腹膜炎の2例が認められ、発症率は0.11%であった。この間に、採卵後1週間以内に発症す

る急性型の骨盤腹膜炎等の発症は認められなかった。なお、同クリニックでは、採卵時の感染予防として、外陰部および腔内を生理食塩水にて頻回に洗浄し、採卵当日セフェム系抗生剤の点滴および3日間の経口抗生剤を投与している。文献的には採卵後の骨盤内膿瘍の発生率は0.2%~0.6%との報告^{1,2)}が見られるが、その多くが採卵後1週間以内の急性発症であり、本報告のように採卵後2ないし4週間後の遅発性発症はさらに稀と思われる。Ashkenaziらは、採卵後1週間以内に発症した28例の骨盤内感染症について報告している。それによると採卵当たりの発症率は0.58%であり、対照群に比較し採卵数、受精率などは悪く、とくに対照群では胚移植当たり30%の妊娠率なのに対し骨盤内感染発症群では妊娠率は0%であった。従って胚移植の前に骨盤内感染が発症した場合は、胚を凍結するなどして胚移植を延期することを推奨している¹⁾。採卵後の骨盤内感染の発症の報告は採卵後1週間以内の急性発症の場合が多いが、Younisらは採卵後3週間以上経過しての遅発性発症例を3例報告している。これらの症例はいずれも子宮内膜症性の卵巢嚢胞を有しており、子宮内膜症性嚢胞が細菌の培養環境に適しているため嚢胞内に微量の起炎菌が混入しても細菌が増殖してしまう可能性を挙げ、さらに、内膜症性嚢胞は血流が認められず抗生剤が移行しないことにより膿瘍が発生しやすいことを指摘し、このことが遅発性発症の要因であると推論している³⁾。Younisらの報告と同様に自験例の2症例ともに子宮内膜症またはその既往が認められ、症例1は、発症までに基礎体温高温相程度の微熱の持続が認められ、Younisらの推論のように内膜症性嚢胞内で細菌が増殖し、ゆっくりと炎症が進行していった可能性が考えられる。Howeらは採卵後に発生した骨盤内膿瘍の3例のうち3例とも高度な骨盤内癒着があり、2例が肥満であったことより、骨盤内癒着や肥満などの要因が認められる患者に発症のリスクが高いとしている⁴⁾。さらに、Friedlerらは採卵を伴わない凍結周期の胚移植の後にでさえ骨盤内感染の発症が認められたと報告している⁵⁾。また、Sauerらは早発閉経の既往のために採卵歴のない患者が、胚移植後約72時間で付属器炎が発症し片側の付属器切除が施行された症例を報告している⁶⁾。このように、凍結周期での胚移植やoocyte donationによる胚移植後など採卵を伴わない胚移植のみによっても骨盤内膿瘍の発生の報告もあり、自験例も採卵による影響か胚移植によるためかは断定できないとも言える。

採卵、胚移植に伴う合併症、後遺症についての報告はあまり多くは認められない。採卵に伴う重篤な腹膜炎などの発症はかなり頻度が低く一般に極めて稀とされているが、文献的に諸家の報告をみると一定の割合で発症していることが推定され、採卵にあたりとくに子宮内膜症合併症例では無菌的操作の厳守および採卵後の骨盤腹膜炎などの発症を考慮して、月経が認められた後も全身状態ならびに卵巣の経過観察が肝要と思われた。

以上のように、採卵術後に発生した汎発性腹膜炎および骨盤腹膜炎を伴う卵巣留膿腫を経験した。採卵後2週間以上経過して月経が認められた後にも、稀ではあるが腹膜炎、卵巣留膿腫などが発症する可能性を考慮したフォローアップの必要性が示唆された。

なお、本論文の要旨は、第119回日本不妊学会関東地方部会で報告した。

文 献

- 1) Ashkenazi J, Farhi J, Dicker D, et al. (1994) Acute pelvic inflammatory disease after oocyte retrieval: adverse effects on the results of implantation. *Fertil Steril* 61: 526-528
- 2) Curtis P, Amso N, Keith E, et al. (1992) Evaluation of the risk of pelvic infection following transvaginal oocyte recovery. *Hum Reprod* 7: 625-626
- 3) Younis JS, Ezra Y, Laufer N, et al. (1997) Late manifestation of pelvic abscess following oocyte retrieval, for *in vitro* fertilization, in patients with severe endometriosis and ovarian endometriomata. *J Assist Reprod Genet* 14: 343-346
- 4) Howe RS, Wheeler C, Mastroianni L, et al. (1988) Pelvic infection after transvaginal ultrasound-guided ovum retrieval. *Fertil Steril* 49: 726-728
- 5) Friedler S, Ben-Shachar I, Abramov Y, et al. (1996) Ruptured tubo-ovarian abscess complicating transcervical cryopreserved embryo transfer. *Fertil Steril* 65: 1065-1066
- 6) Sauer MV and Paulson RJ. (1992) Pelvic abscess complicating transcervical embryo transfer. *Am J Obstet Gynecol* 166: 148-149

(受付: 1999年4月28日)

(受理: 1999年5月29日)

Two Cases of Late Manifestation of Pelvic Inflammatory Disease (PID) after Oocyte Retrieval

Toshifumi Machida, Takao Kamiya, Rie Suzuki,
Kayo Matsumoto, Shizuko Kikuchi and Tokuo Kusaba

Department of Obstetrics and Gynecology,
Yokohama Rosai Hospital, Yokohama 222-0036, Japan

Takahisa Kojima
Amor Clinic, Yokohama 222-0033, Japan

We have encountered two cases of late manifestation of severe PID following ovum pick-up (OPU) for *in vitro* fertilization. Patient 1 was a 35-year-old gravida 0 woman who had undergone a myomectomy two years ago. The oocyte retrieval for IVF-ET was performed on September 15, 1997. After 48 hours, embryos were transferred. She was found to have a pelvic abscess with acute symptoms of severe PID one month after OPU, at which time an emergency laparotomy and drainage was performed. Partial resection of the left ovary, diagnosed as the site of an ovarian abscess, was required after three months. Patient 2 was a 30-year-old gravida 0 woman with endometriosis as diagnosed by laparoscopy. The oocyte retrieval was performed on September 8, 1998. After 48 hours, embryos were transferred. After 13 days, she had a fever and lower abdominal pain. She was diagnosed as having a ruptured ovarian abscess, requiring right tubo-oophorectomy and drainage.

The incidence of PID after OPU in the Amor clinic is 0.11%. The reported incidence of pelvic infection after OPU is 0.2%-0.6% per cycle. It is suggested that follow-up is necessary for more than two weeks after OPU even if the patient does not conceive.

Key words: *in vitro* fertilization-embryo transfer (IVF-ET), ovum pick-up, pelvic inflammatory disease (PID), ovarian abscess

Klinefelter 症候群に発生した精巣類表皮嚢胞の一例

Epidermoid Cyst of the Testis in a Patient with Klinefelter Syndrome

大阪大学医学部泌尿器科学教室

東田 章 Akira TOHDA	中村 吉宏 Yoshihiro NAKAMURA	坪庭 直樹 Naoki TSUBONIWA
山中 幹基 Masaki YAMANAKA	古賀 実 Minoru KOGA	三浦 秀信 Hidenobu MIURA
西村 憲二 Kenji NISHIMURA	内田 欽也 Kinya UCHIDA	北村 雅哉 Masaya KITAMURA
松宮 清美 Kiyomi MATSUMIYA		奥山 明彦 Akihiko OKUYAMA

Department of Urology, Osaka University Medical School,
Osaka 565-0871, Japan

岡本クリニック

辻 敏徳 Toshinori TSUJI	岡本 吉夫 Yoshio OKAMOTO
-------------------------	-------------------------

Okamoto Clinic, Osaka 558-0004, Japan

症例は33歳男性。不妊を主訴に岡本クリニックを受診した。身長180cm、体重65kg。触診で左精巣は硬く23mlに腫大、右精巣は1mlと萎縮しており、左精巣腫瘍の診断にて当科紹介となった。術前精液検査で高度の乏精子症を認め、内分泌学的には血清LH、FSHの上昇を認めた。染色体は47,XXYであった。AFP、CEA、 β -hCGは上昇を認めなかった。Klinefelter症候群に発生した精巣腫瘍の診断で根治的
精巣摘除術を施行した。病理組織学的には精巣類表皮嚢胞であった。

キーワード：Klinefelter症候群、類表皮嚢胞、精巣腫瘍

(日不妊会誌 44:279-282 1999)

緒 言

Klinefelter症候群は出生男児の約0.2%を占める比較的多い染色体異常であり¹⁾、造血系腫瘍²⁾、乳癌³⁾、germ cell tumor⁴⁾などの発生頻度が高いとされている。今回我々はKlinefelter症候群症例に発生した精巣類表皮嚢胞の1例を経験したので報告する。

症 例

症 例：33歳の男性。

主 訴：挙児希望、左陰囊内容腫大。

既往歴、家族歴：特記すべきことなし。

現病歴：結婚後4年間の不妊で岡本クリニックを受診した際に、左精巣の無痛性腫大を指摘され、左精巣腫瘍の診断で8月24日当科に紹介され入院となった。

入院時現症：身長180cm, 体重65kg. 左精巣容積は23mlで硬く, 右精巣容積は1mlと萎縮していた. 女性化乳房は認めず, 表リンパ節は触知しなかった.

入院時検査成績：精液検査; 精液量1.1ml, 精子数2/all ejaculateと高度の乏精子症を認めた.

染色体検査；47,XXY(20/20).

内分泌学的検査；LH 25.1mIU/ml, FSH 44.2mIU/ml, 血清テストステロン6.0ng/ml.

腫瘍マーカー；LDH 302 IU/l, AFP <5ng/ml, β -hCG <0.1ng/ml, CEA 3ng/ml.

超音波断層像：腫瘍は直径約4cmで低エコー像を示し, 内部は不均一であった. 精巣実質は高度の萎縮をきたしており, 腫瘍に圧迫されていた(図1).

以上の所見からKlinefelter症候群に発生した精巣類表皮嚢胞も疑われたが, その他の精巣腫瘍を否定できず, また, 精巣実質がきわめて小さいため腫瘍核出術は困難であると判断し, 8月28日に左根治的精巣摘除術を施行した.

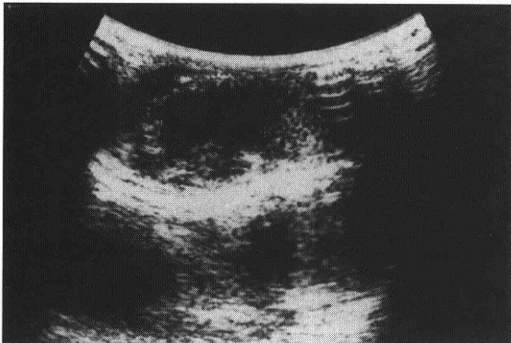


図1 左陰嚢内容の超音波断層層像

腫瘍は不均一な低エコー像を示した. 精巣実質は高度に萎縮し圧迫されていた.

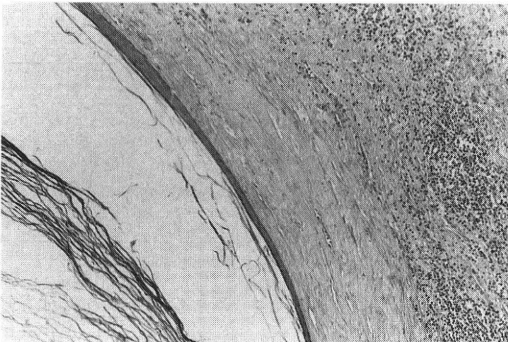


図2 嚢胞の病理組織像(HE染色, $\times 200$)

嚢胞壁は内腔側の扁平上皮とそれを取り囲む繊維性結合織よりなり, 嚢胞内は角化物で満たされていた.

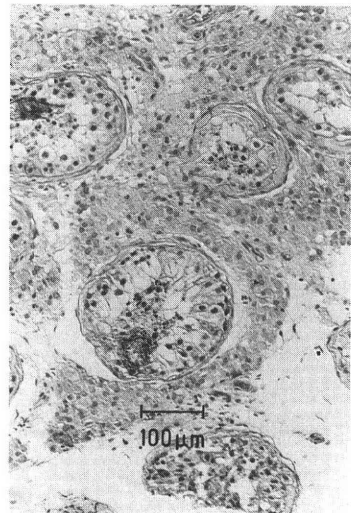


図3 精細管の組織像(HE染色)

精細管は極度に萎縮変性し, Leydig細胞の増生を認めた. わずかに精子形成を認める部分も存在した.

摘出標本：肉眼的には, 腫瘍は直径3.5cm, 灰白色球形であり, 断面は層状で萎縮した精巣実質とは明瞭に区別された. 病理組織学的には嚢胞壁は内腔側の扁平上皮とそれを取り囲む線維性結合織よりなり, 奇形腫の要素や汗腺, 毛嚢は認められなかった. 嚢胞内は角化物で満たされており, 悪性所見は認められなかった(図2).

精巣組織の所見としては精細管は極度に萎縮変性していたが, わずかに精子形成を認める部位は存在した. また, Leydig細胞の増生を認めた(図3).

以上よりKlinefelter症候群に発生した精巣類表皮嚢胞と診断した. 術後6カ月を経過した現在, 腫瘍の再発所見は認めない. LH, FSH, テストステロン値は術前と著変なく, 精液所見は依然高度の乏精子症を呈している. 1999年3月3日, 射出精子を用いたICSIを施行し, 受精はしたものの妊娠には至っていない. 今後もICSIを施行する予定である.

考 察

Klinefelter症候群は出生男児の0.2%を占める染色体異常で¹⁾, 造血系腫瘍²⁾, 乳癌³⁾, 精巣間質性腫瘍⁵⁾, germ cell tumor⁴⁾などの発生が報告されている. これらの腫瘍のうち乳癌や精巣間質性腫瘍の成因としてはゴナドトロピンやエストロゲンの上昇の影響が考えられている⁶⁾. 一方, germ cell tumorの発生部位としては精巣外原発のものが多く, そのなかでも縦隔内が最も多いとされており⁴⁾, その他, 頭蓋内や後腹膜の報告もある^{6,7)}. 組織学的にはほとんどが奇形

腫を中心とするnon-seminomaで、一般の精巣germ cell tumorとは異なっている。

一方、精巣類表皮嚢胞は精巣腫瘍全体の1%をしめる比較的まれな疾患である。その位置付けについては腫瘍とは別のものとして考えるとの意見もあり一定していないが、発生学的にtotipotentialな原始胚細胞が分化の過程で3胚葉成分のうち外胚葉の表皮因子のみが発育したと考えられており、その意味で奇形腫の一つの特殊型と考えられる⁸⁾。精巣類表皮嚢胞の診断基準は1969年にPriceによって提唱されており⁹⁾、奇形腫の要素や皮膚付属器が存在しないことが診断確定に必要である。我々の検索した範囲内では文献上、Klinefelter症候群と類表皮嚢胞の合併の報告は認められなかった。

Klinefelter症候群に発生した精巣のgerm cell tumorの報告は我々の調べ得た範囲では自験例を含めて10例であった^{10,11)}。年齢は生後6週から64歳で中央値は32歳、小児例は3例であった。成人例では30代が5例と最も多く、20代、60代が各1例であった。患側は右が4例、左が3例、両側が3例で明らかな左右差は認めなかった。染色体分析では評価可能な9例全例が47,XXYであった。主訴としては陰嚢内容の腫大を主訴としたものが5例と最も多く見られたが、不妊などの他疾患の精査中に陰嚢内容の腫大が発見された症例も3例認められた。病理組織学的には類表皮嚢胞を広義の奇形腫と考えれば7例が奇形腫で、そのうち成熟奇形腫が5例、未熟奇形腫が1例であった。その他、胎児性癌が2例でseminomaは1例のみであった。予後に関しては長期予後について記載された報告はほとんどなく、短期的な予後は通常の精巣germ cell tumorととくに差はないと思われる。

Klinefelter症候群とgerm cell tumorの因果関係についてははっきりしないが、腫瘍細胞の染色体分析では47,XXYであると報告されており^{12,13)}、減数分裂前の原生殖細胞がoriginであると考えられているが、奇形腫や胎児性癌は減数分裂後のhaploidのgerm cellからも発生しうるとの説もある¹⁴⁾。また、seminomaが少ない原因としては過剰のX染色体がseminomaの増殖に抑制的に働くとの考え⁴⁾もある。

一般にnon-mosaicのKlinefelter症候群においては精液所見は無精子症を呈するとされているが、本症例は精液中にごくわずかながらも精子を認めた。文献上もまれに精液中に精子を認めることが報告されており¹⁵⁾、最近ではICSIにより妊娠、出産例も報告されている^{16,17)}。本症例は一側の精巣摘除後もわ

ずかながら射出精子を認めており、ICSIを施行したのが受精はしたものの現在のところ妊娠には至っていない。

文 献

- 1) Gerald PS (1976) Sex chromosome disorders. *New Engl J Med* 294: 706-708.
- 2) Geraedts JPM, Mol A, Briet E, et al. (1980) Klinefelter syndrome; predisposition to acute non-lymphocytic leukemia? *Lancet* 1: 774.
- 3) Jackson AW, Muldal S and Ockey CH (1965) Carcinoma of the male breast in association with the Klinefelter syndrome. *Br Med J* 1: 223-225.
- 4) Dexeus FH, Logothetis CJ, Chong C, et al. (1988) Genetic abnormalities in men with germ cell tumors. *J Urol* 140: 80-84.
- 5) Dodge OG, Path MC, Jackson AW, et al. (1969) Breast cancer and interstitial-cell tumor in a patient with Klinefelter's syndrome. *Cancer* 24, 1027-1032.
- 6) Casalone R, Righi R, Granata P, et al. (1994) Cerebral germ cell tumor and XXY karyotype. *Cancer Genet Cytogenet* 74: 24-29.
- 7) Hachimi-Idrissi S, Desmyttere A, Goossens A, et al. (1995) Retroperitoneal teratoma as first sign of Klinefelter's syndrome. *Arch Dis Child* 72: 163-164.
- 8) 布施春樹, 長野賢一, 徳永周二 他 (1989) 睾丸類表皮嚢胞の1例. *西日泌尿* 51: 1293-1296.
- 9) Price EB (1969) Epidermoid cysts of the testis. A clinical and pathological analysis of 69 cases from the testicular tumor registry. *J Urol* 102: 708-713.
- 10) 多田 実, 瀧本至得, 岸本 孝 (1990) Klinefelter症候群に合併した精巣未熟型奇形腫の1例. *泌尿紀要* 36: 1471-1474.
- 11) Stevens MJ, Jameson CF and Hendry WF (1993) Bilateral testicular teratoma in Klinefelter's syndrome. *Br J Urol* 72: 384-385.
- 12) Mann BD, Sparkes RS, Kern DH, et al. (1983) Chromosomal abnormalities of a mediastinal embryonal cell carcinoma in a patient with 47, XXY Klinefelter syndrome: evidence for the premeiotic origin of a germ cell tumor. *Cancer Genet Cytogenet* 8: 191-196.
- 13) Gustavson KH, Gamstorp I, Meurling S (1975) Bilateral teratoma of testis in two brothers with 47, XXY Klinefelter's syndrome. *Clin Genet* 8: 5-9.
- 14) Theiss EA, Ashley DJB and Mostofi FK (1960) Nuclear sex of testicular tumors and some related ovarian and extragonadal neoplasms. *Cancer* 13: 323-327.
- 15) Foss GL and Lewis FJ (1971) A study of our cases with Klinefelter's syndrome showing motile sper-

- matozoa in their ejaculates. *J Reprod Fertil* 25: 401-408.
- 16) Hinny B, Guttenbach M and Schmid M (1997) Pregnancy after intra-cytoplasmic sperm injection with sperm from a man with a 47,XXY Klinefelter's karyotype. *Fertil Steril* 68:718-720.
- 17) Bourne H, Stern K, Clarke G, et al. (1998) Delivery of normal twins following the intracytoplasmic injection of spermatozoa from a patient with 47,XXY Klinefelter's syndrome. *Hum Reprod* 12: 2447-2450.
(受付 : 1999年 4 月28日)
(受理 : 1999年 5 月31日)

Epidermoid Cyst of the Testis in a Patient with Klinefelter Syndrome

Akira Tohda, Yoshihiro Nakamura, Naoki Tsuboniwa, Masaki Yamanaka,
Minoru Koga, Hidenobu Miura, Kenji Nishimura, Kinya Uchida,
Masaya Kitamura, Kiyomi Matsumiya and Akihiko Okuyama

Department of Urology, Osaka University Medical School,
Osaka 565-0871, Japan

Toshinori Tsuji and Yoshio Okamoto

Okamoto Clinic, Osaka 558-0004, Japan

A 33-year-old man visited Okamoto clinic. His height was 180cm and body weight was 60kg. His left scrotal contents was swollen (23ml) and hard in consistency, although his right testis was atrophic (1ml). He was referred to our hospital with the diagnosis of left testicular tumor. Preoperative semen analysis showed severe oligozoospermia and serum LH and FSH was elevated. The chromosome analysis revealed 47,XXY. Serum AFP, CEA, β -hCG was not elevated. Left radical orchiectomy was performed under the diagnosis of left testicular tumor. Histopathological diagnosis was epidermoid cyst of the testis.

Key words: klinefelter syndrome, epidermoid cyst, testicular tumor

(*Jpn J Fertil Steril* 44:279-282 1999)

地方部会講演抄録

1998年日本不妊学会北陸支部学術総会

日時：平成9年6月6日(土)

午後4時～

場所：金沢大学医学部十全講堂(金沢市)

1. 体外受精・胚移植における多胎妊娠防止について 3

○高塚亮三, 山崎裕行, 道倉康仁
加藤 修

(永遠幸マタニティクリニック)

【目的】1996年以来体外受精・胚移植で移植胚数が原則3個以内に制限されているが、低着床率が予想される体外受精・胚移植反復失敗症例に対して治療の期間を短縮するためには4ヶ胚移植周期も必要であるように思われる。本研究において4ヶ胚移植周期で要胎妊娠の発生を防止する条件について要胎回避算定式を用いてシュミレーションを行い、検討したので報告する。【方法】1996年と1997年に当院で実施した体外受精・胚移植周期のうち、妻年齢が36歳以下の4ヶ胚移植周期を対象とした。1996年には239周期中78周期で妊娠が認められ、うち2周期が要胎妊娠であった。1997年には124周期中38周期で妊娠が認められたが、要胎妊娠は発生しなかった。要胎回避算定式は $N(4) \times PR(4) \times QR \times F(4) \times S(4) < 1$: $N(4)$: 予定4ヶ胚移植周期数, $PR(4)$: 予想着床率に対する理論的妊娠率, QR : 予想着床率に対する理論的要胎率, $F(4)$: 過去の実要胎率と理論値との乖離倍率, $S(4)$: 安全倍率(=継続して要胎妊娠が発生しない累積4ヶ胚移植周期数/予定4ヶ胚移植周期数)で定義した。【結果】1996年の4ヶ胚移植周期数 : $N(4) = 239$ の着床率は12.9%で $PR(4) = 41.9\%$, $QR = 0.062\%$ であり、実要胎率は2.5%であったため、 $F(4) = 40$ となった。1997年の4ヶ胚移植周期 : $N(4) = 124$ では要胎妊娠が認められず、着床率は9.7%で $PR(4) = 33.5\%$, $QR = 0.026\%$, $F(4)$ として1996年の値 : 40を用い、 $S(4) (= 124/124) = 1$ とすると、要胎回避算定式の値は0.43であり、1以下となって1997年に要胎妊娠が発生しなかったこととよく一致した。もし1997年に1996年と同様240周期程度の4ヶ胚移植を実施していたならば、要胎回避算定式の値は1に近い値となり、要胎妊娠の可能性が予想された。【結語】4ヶ胚移植を実施

するに当り要胎回避算定式を用いてシュミレーションを行うことは要胎妊娠を防止する条件を検討する上で有効であると思われた。

2. 永遠幸マタニティクリニックにおけるホルモン補充による凍結融解胚移植について

○山崎裕行, 藤波隆一, 豊北美穂
道倉康仁

(永遠幸マタニティクリニック)

【目的】ARTを行う際、余剰胚がある場合や、自然周期でも子宮内膜が胚移植に適さないとおもわれる場合には、胚を凍結保存している。しかし、PCOやPOFに近い症例では凍結胚移植をしようとしても自然排卵は難しい。このような症例に当院でもホルモン補充(HR)周期による凍結胚移植を行っている。当院におけるHR周期での凍結胚移植について検討した。【対象と方法】平成8年1月から平成9年12月までに行った凍結胚移植を対象とし、このうち同周期に採卵した胚を移植した症例は除外した。原則として自然周期において外因性にhCGを投与し、排卵を促して凍結胚移植を行ったものを排卵周期(285周期)とし、月経周期3~4日からプレマリン等を用いて排卵を抑制し凍結胚移植を行ったものをHR周期(115周期)とした。【結果】排卵周期では285周期中89症例93周期で妊娠、うち24例は流産し、妊娠率32.6%、流産率25.8%であった。HR周期では115周期中29周期で妊娠、うち17例流産し、妊娠率25.2%、流産率58.6%だった。排卵周期では月経初日から胚移植まで18±4日、30日以上かかった周期が5例、HR周期では胚移植まで18±5日、30日以上は3例みられた。胚移植時の子宮内膜厚は、排卵周期で11±2mm、HR周期で10±2mmであったが、7mmまでの症例も2例みられた。【結論】凍結胚移植においてHR法においても、排卵周期に近い妊娠率が得られ、HR法は自然周期では排卵の困難なPCOの症例や、排卵周期では十分な子宮内膜厚が得られない症例等に有効な方法と考えられる。

3. 体外受精における卵巣過剰刺激症候群(OHSS)の予防法としてのprolonged coasting法の有用性について

○道又敏彦, 津田 博, 齋藤 滋

(富山医薬大産婦)

【目的】体外受精・胚移植にて, PCOS・重症OHSSの既往のあるOHSS発症のhigh risk症例に対して, prolonged coasting法を用い, 卵の質的低下を来さずに, 重症OHSSの発症を予防できるかを検討した。
【対象と方法】1998年1月から5月までの4カ月間に, 当科にてIVFを行った, PCOSおよび重症OHSSの既往がある3症例, 重症OHSSを発症した前回周期をControl周期として比較検討した。【結果】3症例ともに, Coasting周期の血中E₂の最大値は6000pg/ml以上, FSH投与終了後より24~48時間以内に最大となり, その後, 低下傾向を示した。Coasting期間は, 3~5日間で, 平均4日間。対象3症例中, 1症例は重症OHSSを発症した。残念ながら, 重症OHSSを発症した症例はchemical abortionで終わり, ほかの2例も妊娠には至らなかった。Coastingを行った周期と前回重症OHSSを発症したControl周期を比較し, 受精個数および受精率で差は認めず, 4細胞期胚でのVeeckの分類においても, Coasting周期とControl周期で, 受精卵の形態学的差は認めなかった。Coastingにて, 卵の質的低下が懸念されたが, Control周期との比較において, 受精率に差はみられず, Veeckの分類にも差はないことより, 卵の質的低下は問題ないと考えられた。【まとめ】対象3症例中, 1例以外は, 重症OHSSの発症を予防することができたことより, prolonged coasting法は, 卵の質的低下を来さずに, 重症OHSS発症の予防法として有効であると考えられた。

4. 顆粒膜・莢膜細胞間相互作用による卵胞発育調節: 発育過程での細胞増殖とホルモン産生能とゴナドトロピンの影響について

○矢田敬二, 田嶋久久, 仙田 享

細川久美子, 後藤健次, 小辻文和

(福井医大産婦)

【目的】コラーゲン膜の両面に顆粒膜(G)細胞と莢膜(T)細胞を培養する実験系を用い, 両細胞の相互作用により, これらの細胞のホルモン産生と増殖が, 卵胞発育過程でどのように変化するかを観察した。

【方法】卵胞細胞はウシ卵巣の小卵胞(3~5mm)およ

び大卵胞(>15mm)から採取した。コラーゲン膜の一侧にT細胞, 反対側にG細胞を培養し, 対照として膜の一侧にTもしくはG細胞を単独に培養した。①G細胞のEstradiol(E), Progesterone(P), Inhibin(I)産生, ②T細胞のAndrostenedione(A)産生, ③これらの細胞の増殖を, 共培養群と単独培養群とで比較した。【成績】A. 小卵胞の結果: ①G細胞のE,P,I産生は, T細胞の存在により42±5, 86±5, 35±3%に減少した。G細胞の増殖は, 無血清条件ではT細胞の影響を受けず, 血清を加えるとT細胞の存在により280±50%に亢進した。②T細胞のA産生と増殖は, 無血清条件でも, G細胞の存在により1290±200, 250±43%に亢進した。B. 大卵胞の結果: ①G細胞のE, P, I産生は, T細胞の存在により, 259±25, 128±11, 235±31%に増加した。G細胞の増殖能は, T細胞の影響を受けなかった。②T細胞のA産生と増殖は, 無血清条件でも, G細胞の存在により各々882±96, 184±1%に亢進した。【結論】顆粒膜・莢膜細胞間相互作用の役割は卵胞発育の過程で変化する。即ち, ①T細胞は, 初期にはG細胞の機能分化を抑制し増殖を亢進させる。後期には逆に分化を促進する。②T細胞の機能分化と増殖は, 卵胞発育の初期後期ともに, G細胞の存在により亢進する。③T細胞のG細胞増殖作用には血清成分を必要とするが, G細胞によるT細胞増殖作用には血清成分を必要としない。

5. 47,XYYの一例

○野田 透, 高 栄哲, 金谷二郎

並木幹夫

(金沢大泌尿)

47,XYY症候群は1961年にSandbergらによって発見された疾患であり, 男子新生児約1000人に1人の発生率があるといわれている。端らは本症候群の特徴的所見として長身, 軽度の知能低下, 攻撃的性格を三徴としてあげているが近年染色体型以外には明らかな異常を認めないものもあることが知られている。今回我々は47,XYYの一例を経験したので報告する。症例は23歳男性, 糖尿病にて内科加療中に施行された染色体検査で47,XYYであり当科紹介となった。本例は身長152.6cm, 体重65.3kgと低身長であったが血中GH, およびその反応性にも異常はなく低身長の原因および染色体異常との関連は不明である。知能検査ではIQは境界領域であった。性格は近年正常な社会性を持つ症例が多く報告されており, 本例においても明らかな攻撃性はみられていない。

精液検査を施行したところ精液量0.5ml, 精子数は1ml中10万個と著明な乏精子症を認めた。身体所見は精巣が右2.1ml, 左3.2mlと萎縮しているがその他にはあきらかな異常所見は見られず第二次性徴の発現等も正常である。内分泌検査にてテストステロン214ng/dl, LH2.2mIU/ml, FSH20mIU/mlと明らかな異常を認めていない。

現在外来的に経過観察中である。

6. 精索静脈瘤におけるアクロビーズテストの有用性

○岩崎雅志, 太田昌一郎, 池原葉子
布施秀樹 (富山医薬大泌尿)

不妊を主訴とする精索静脈瘤患者において手術前後で通常の精液検査, アクロビーズテストおよびその他の精子機能検査を施行し, その変動を検討するとともに, 妊孕性との関係についても検討した。対象は1993年1月~1997年12月までに不妊を主訴として当科を受診して精索静脈瘤が認められ, 手術適応があったとした29例。患者の年齢は24歳~44歳で平均32.8歳であった。手術法としては腹腔鏡下内精静脈高位結紮術または開放的内精静脈瘤高位結紮術を施行した。手術前後で通常の精液検査, アクロビーズテストおよび精液自動分析装置(セルソフトシリーズ3000)における解析を施行した。また, その他の精子機能検査としてHypoosmotic swelling test, ベネトラックテストを施行した。アクロビーズ値は術前 2.63 ± 0.82 , 術後 3.04 ± 0.86 と有意に増加($p < 0.05$)がみられた。精子運動率は術後有意な増加($p < 0.01$)がみられたが, その他の精子機能検査の各種パラメーターには術後差はみられなかった。術後20例中7例(35.0%)に妊娠を認めた。妊娠例における手術前後のアクロビーズ値の変動では50%以上の症例で増加がみられ, 平均値では術前 2.50 ± 0.55 が, 術後 3.14 ± 0.69 と有意に増加($p < 0.05$)がみられた。精子運動率も有意に増加がみられたが, その他のパラメーターには差はみられなかった。以上, アクロビーズテストは精索静脈瘤の術後の妊孕性を評価する検査として有用と考えられた。

7. ネコ卵胞, 卵子の相対的成長曲線ならびに成長率曲線について

○泉 徳和, 中村江里, 鳥巢なつ子
(石川農短大生物生産)

【目的】卵胞と卵子の相対的成長に関する研究は, ヒ

ト(Lintern-Mooreら, 1974), ウシ(本間ら, 1959; Miyamotoら, 1986), ヒツジ(Turnbullら, 1977)で各々組織学的な観察を基に報告されている。しかし, ネコに関する報告はない。さらに, 新鮮な卵巣から採取した卵胞, 卵子を観察したIzumiら(1997)は, 卵巣の組織標本から得た測定値が固定, 染色などその過程で, 萎縮することを示唆している。そこで本研究では, ネコの新鮮な卵巣を材料として, 卵胞, 卵子の相対的成長の様子を明らかにしようとした。【材料と方法】1~1歳8カ月齢のネコ由来の卵巣34対を35℃生食液で保存して研究室に持ち帰り, 卵巣摘出後7時間以内に卵子を採取した。卵胞の直径(FDと略)を独立変量に, マイクロメータで計測した卵子の透明帯を含む直径(OD)と含まない直径(ID)を従属変量として各種回帰式を求めた。各式のうち, 最も高い決定係数(R^2)の双曲線回帰式を微分して成長率曲線を求めた。【結果と考察】分析の結果, 卵胞と卵子624対のFDに対するOD, IDの関係は各々, 双曲線, $y = 184.3X / (X + 0.0237)$, $R^2 = 0.985$ と $y = 121.0X / (X + 0.011)$, $R^2 = 0.969$ となった。1卵胞内に卵子1個で, しかも正常な卵子核と顆粒層細胞を有する410対のFDとOD, IDの関係は各々, $y = 182.5X / (X + 0.0237)$, $R^2 = 0.996$ と $y = 121.4X / (X + 0.0158)$, $R^2 = 0.987$ となり当てはまりは最高であった。その際のOD, IDは, 卵胞が各々, 2.1mm, 1.4mm以上で, 成長率が概ねゼロとなり, y軸の切片が各々, 183 μ m, 119 μ mのX軸に平行な直線回帰式となった。ウシでは卵胞が6mmに達するまで卵子が成長するが, ネコではOD, IDは, 卵胞が各々, 2mm以上, 1mm以上で成長を終えた。

8. トロホブラストの浸潤とマトリックスメタロプロテアーゼの活性化の検討

○石井博士, 上野浩久, 井上正樹
(金沢大産婦)

【目的】ヒト胎盤形成は子宮内膜に胎児のトロホブラストが浸潤することにより始まるとされている。トロホブラストの浸潤においては, 細胞外マトリックス分解酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ(以下MMPと略す)の発現とそのインヒビターの発現が重要な役割を果たしていると考えられている。このうち, MMP2はゼラチナーゼAとも呼ばれるcollagenaseであり, 基底膜の4型コラーゲンを分解する酵素であり, また, 最近クローニングされた膜貫通型MMPであるMT1-MMPは, 潜在型MMP2を活性化

するはたらきを持っている。今回我々は、ヒト胎盤絨毛において、1. 潜在型MMP2の産生とその活性化、2. MT1-MMPの発現、3. MT1-MMPと潜在型MMP2の活性化率との相関関係についての検討を行った。【対象と方法】対象は、1st trimester, 3rd trimester, abortionの絨毛組織、各20例とした。それぞれにつき、潜在型MMP-2の発現量をSandwich Enzyme Immunoassay法で、潜在型MMP-2の活性化をGelatin Zymographyで、MT1-MMPのmRNAの発現量をNorthern blottingで比較検討を行った。【結果】1. 潜在型MMP2の含有量とその活性化率は1st trimesterの絨毛組織で有意に高値を示した。2. MT1-MMPは1st trimesterの95%に発現を認めた。3. 1st trimesterにおける潜在型MMP2の活性化率とMT1-MMPの発現量は正の相関関係を示した。【結論】初期の絨毛組織において、潜在型MMP2の過剰発現があり、その活性化にMT1-MMPが重要なはたらきをしていると考えられた。

第41回日本不妊学会北海道地方部会

日時：平成11年3月6日(土)

午後1時～5時

場所：ムトウ会議室(札幌市)

1. 黄体機能調節におけるMn-SODとNOの相互作用について

○千 立志, 青野亜美, 樋谷恵子
小森春美, 堀川道晴, 石郷岡哲郎
碁石勝利, 岡田力哉, 高岡康男
玉手健一, 千石一雄, 石川睦男

(旭川医大産婦)

黄体において活性酸素消去酵素の一種であるMn-SODが黄体促進作用を、またNOも黄体機能に関連していることが各々明らかになりつつある。今回我々はラット黄体機能調節におけるMn-SODとNOの相互作用に関し検討した。過排卵及び妊娠黄体におけるMn-SOD, eNOS, iNOS各々のmRNA動態を確認し、培養顆粒膜細胞にNO供与剤(SNAP)及びONOO⁻供与剤(SIN-1)を添加、またMn-SODを追加添加し、上清中P₄濃度と培養細胞におけるアポトーシスの有無についてDNA ラダー法にて検討した。さらにSNAP, SIN-1添加のMn-SODmRNA発現に対する影響を検討した。SNAP, SIN-1添加によってP₄産

生は用量依存的に抑制され、DNA ラダーが認められた。またMn-SOD追加投与によってP₄抑制作用は減弱し、DNAラダーは消失した。またMn-SODmRNAは無添加のコントロールと比較してSNAP-1では1.5倍、SIN-1では1.2倍に増加した。以上よりMn-SODはNOやONOO⁻のluteolytic作用に対し抑制的効果を、またNOとONOO⁻はMn-SOD誘導作用を有しており、Mn-SODとNOは量的、時間的差によって黄体機能調節に関与していることを明らかにした。

2. Luteinizing Hormone Stimulates the Local Release of Endothelin from the Bovine Mature Follicles *In Vitro* : Interrelationships among Endothelin-1, Atrial Natriuretic Peptide and Angiotensin II

○Tomas J. Acosta, Akio Miyamoto,
Kunitada Sato
(Laboratory of Theriogenology Obihiro
University of Agriculture and Veterinary
Medicine)

Recent evidence indicates that Angiotensin II (Ang II), Endothelin-1 (ET-1), and atrial natriuretic peptide (ANP) act at the ovarian level in autocrine and paracrine manner. To observe a direct effect of luteinizing hormone (LH) on the local release of Ang II, ET-1 and ANP, and a possible interrelationships among these vasoactive peptides, a microdialysis system (MDS) was implanted into the theca layer of preovulatory bovine follicles. Each preovulatory follicle (selected based on the concentrations of steroids and prostaglandins) was dissected from surrounding stromal tissue, and implanted with 4 capillary membranes into the theca layer. They were then incubated in organ culture chambers, and perfused with Ringer's solution for 12h following pre-perfusion for 2h. The stimulation with infusion into the MDS of the different substances was carried out between 4-8h. The stimulation with LH (5µg/ml) increased the release of ET-1, but not for Ang II and ANP release. The infusion of ET-1 (250ng/ml) stimulated the release of ANP. The infusion of ANP (300ng/ml) stimulated the release of Ang II and ET-1. The infusion of Ang II (10µg/ml) inhibited ANP release, but stimulated the release of ET-1. These results confirm a local increase in ET-1 release in the theca layer of mature follicle by

the LH stimulation *in vitro*, and suggest a role for each vasoactive peptide in the regional modulation of the blood flow in the bovine mature follicle during preovulatory period.

3. PCOラットの卵巣におけるVEGF, lysyl oxidase発現について

○逸見博文, 遠藤俊明, 岩崎雅宏
後藤妙恵子, 北島義盛, 木谷 保
西川 鑑, 真名瀬賢吾, 金谷美加
工藤隆一 (札幌医大産婦)

Vasclar endothelial growth factor (VEGF)は黄体新生過程や卵巣過剰刺激症候群(OHSS)で強く発現する事が知られている。我々は多嚢胞性卵巣症候群(PCO)とOHSSの関係を明らかにする目的で、今回ラットPCOモデルを用い、卵巣におけるVEGFの発現を検討した。またlysyl oxidase (LOX)はcollagenをcross linkする酵素でこの強発現はタンパク分解酵素に抵抗性を示す事になるためPCOの排卵障害に関与していると考え、同様に検討した。黄体新生期に相当するcontrolでVEGF発現が認められたが、PCOラットの卵巣でもそれに匹敵する強いVEGFの発現が認められた。またLOXの発現はcontrolに比べてPCOラットの卵巣で強く発現していた。PCOラットの卵巣で、過排卵ラットの新生黄体に相当するVEGFの発現が認められた事からPCOがOHSSの発生環境を有している事が推察された。また、LOXの発現がPCOラットの卵巣で認められた事はこれが排卵障害の原因となっている可能性が示唆された。

4. ウサギ卵巣過剰刺激症候群モデルにおけるテストステロンおよびインスリンの腹水産生および卵巣での血管内皮増殖因子およびインターロイキン-2産生におよぼす効果

○片桐成二 (北大大学院獣医研繁殖)

本研究の目的は、卵巣過剰刺激症候群(OHSS)が多発する傾向にある多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)に伴う内分泌異常が、OHSSによる腹水産生におよぼす影響を検討することである。ウサギを用いたOHSSモデルにおいてインスリンおよびテストステロンを卵巣動脈中に連続注入し、腹水産生量および卵巣での血管内皮増殖因子(VEGF)およびインターロイキン-2(IL-2)の産生量におよぼす影響を検討した。インスリン処理は腹水産生量、卵巣でのVEGF産生量および腹水中VEGF濃度を増加させたが、IL-

2産生には影響をおよぼさなかった。インスリンと同時に抗VEGF抗体を投与したウサギでは、腹水の産生量が対照群とインスリン処置群の中間値を示した。テストステロン処置は、腹水産生量およびサイトカイン産生に対して効果が認められなかった。以上の結果から、インスリンOHSS発症時にVEGF産生増加を介して腹水産生量を増加させるものと考えられた。

5. 重症卵巣過剰刺激症候群のための腹水濾過濃縮再静注法を4回施行した1症例

○真名瀬賢吾, 逸見博文, 後藤妙恵子
北島義盛, 木谷 保, 金谷美加
藤井美穂, 遠藤俊明, 工藤隆一
(札幌医大産婦)

卵巣過剰刺激症候群(OHSS)はその重症例では著明な腹水貯留、胸水貯留、血液濃縮、肝機能障害、乏尿、血栓形成など生命予後にもかかわる疾患である。腹水濾過濃縮再静注法は重症OHSSに対して非常に有効な治療法として期待されている。本症例は卵管性不妊のため体外受精・胚移植を施行し、胚移植後10日目頃より腹水貯留が著明となり、ヘマトクリットも最高で50%を越えた。低タンパク血症にはアルブミン製剤の投与、乏尿には低用量ドーパミンを投与したが強度の腹水は改善せず、胸水貯留も認められた。そこで腹水濾過濃縮再静注法を施行したところ症状は一時的に改善した。しかし再度腹水が増加し完全寛解まで計4回同処置を施行した。後に双胎妊娠であることが判明した。OHSS改善後は妊娠経過は異常なく最近帝王切開で分娩した。本症例の臨床経過の詳細を報告する。

6. 胞胚期移植について

○東口篤司, 金沢朋扇, 林 巧
野田雅也, 高階俊光 (斗南病院産婦)

卵は卵管膨大部で受精、5~7日間卵管内で分割を繰り返し、胞胚期に子宮腔に達して子宮内膜に着床する。従って胞胚期まで*in vitro*で培養し、子宮内に移植することは生理学的であり、最近、胞胚期用の培養液を使用した胞胚期移植によって高い妊娠率、移植率が報告されている。当科でも、頻回の胚移植で妊娠に至らない難治性の7症例に対して、前核期で凍結してあった胚を溶解し、胞胚期まで培養、移植して、3例の妊娠例を得た。現在、各国で胞胚期培養が行われているが、ほとんどは新鮮胚を胞胚まで培

養, 余剰の胞胚を凍結する方法である。しかし, 胞胚期培養が導入される以前はほとんどが前核期凍結であり, 凍結胚数が多く, しかも難治性の症例には凍結胚溶解後の胞胚期培養が今後適応を広げていくものと考えられる。

7. 体外受精における経膈超音波ガイド下経頸管的胚移植の有用性について

○日下 剛, 和田真一郎, 首藤聡子
佐藤 修, 工藤正尊, 藤本征一郎
(北大医学部産婦)

体外受精における経頸管的胚移植はカテーテルの先端の位置が悪い時に, 確実な移植が行われず, 胚をlostする可能性がある。今回我々は, 経膈超音波ガイド下に経頸管胚移植を行い, その有用性を検討したので報告する。対象は平成9年1月より平成10年12月までに当科で胚移植を行った172症例, 258周期とした。平成9年1月~12月に超音波ガイド無しで胚移植を施行した116周期をA群, 平成10年1月~12月に経膈超音波ガイド下により子宮底から10mm前後内腔より胚移植を行った142周期をB群とし, 両群間で妊娠率, 着床率, 子宮外妊娠発症率を検討した。妊娠率はA群27.6%, B群31.0%, 着床率は両群とも15.7%, 子宮外妊娠発症率はA群3.13%, B群9.09%でおのおの両群間における有意差は認められなかった。

8. 子宮内膜症症例の体外受精の検討

○堀川道晴, 青野亜美, 樋谷恵子
小森春美, 石郷岡哲郎, 碁石勝利
岡田力哉, 高岡康男, 玉手健一
千石一雄, 石川睦男 (旭川医大産婦)

【目的】今回我々は子宮内膜症の体外受精時への影響についてretrospectiveに検討した。【対象】1989年10月から1997年12月までの8年間に当科にて腹腔鏡検査を受けた不妊症患者のうち, その後体外受精治療を受けた105症例を対象とした。腹腔鏡検査にて子宮内膜症の見られなかった者を対象とし, 子宮内膜症群と対象群における体外受精時の総hMG量, 採卵数, 受精率, 妊娠率等について検討した。また同様に, 子宮内膜症症例のうち, チョコレート嚢腫核出群と非核出群における体外受精時の結果についても検討した。【結果】子宮内膜症群と対象群の間に体外受精時の総hMG量, 採卵数, 受精率, 妊娠率の差は認められなかった。また, 核出群と非核出群の間に

総hMG量, 受精率, 妊娠率の差は認められなかったが, 採卵数は核出群 6.7 ± 5.5 個, 非核出群 10.8 ± 5.1 個と有意な差が認められた。

9. 体外成熟培地へのIGF-Iの添加がウシ卵子の体外成熟とその後の体外受精におよぼす影響

○松井基純, 高橋芳幸
(北大大学院獣医研繁殖)

哺乳動物の卵胞発育に関与するIGF-Iが, ウシ卵子の体外成熟およびその後の体外受精におよぼす影響を調べた。IGF-Iの成熟培地への添加により, 減数分裂の再開が促進され<実験1>, 卵丘-卵子複合体(COC)として媒精した場合, 正常受精率は増加した<実験2>。IGF-I添加あるいは無添加培地で成熟培養したCOCを卵丘細胞と卵子に分離し, 添加あるいは無添加培地由来の卵丘細胞および裸化卵子を組み合わせ4つの試験区を作り媒精を行った結果, 受精率は卵子の由来によって影響されず, IGF-I添加培地由来の卵丘細胞が存在した場合に高い正常受精率が得られた<実験3>。成熟培養後に卵丘細胞裸化卵子を媒精した結果, 成熟培地へのIGF-Iの添加による受精率への影響は認められなかった<実験4>。以上の結果から, 体外成熟培地へのIGF-Iの添加は, ウシ卵子の体外成熟を促進するとともに, 卵丘細胞に作用して体外受精率を増加させることが明らかになった。

10. Equine Embryo Frozen by Vitrification Using Ethylene Glycol and Dimethylsulfoxide as Cryoprotectants

○A.Y.Kojima, N.Oguri, T.J.Acosta
M.Takagi, K.Miyazawa, K.Sato
(Laboratory of Theriogenology Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine)

Previous reports on bovine embryo indicated that satisfactory survival rate were obtained adding dimethylsulfoxide (DMSO) and ethylene glycol (EG) as cryoprotectants. Thus, this study aimed to examine the effect of DMSO and EG on the equine embryos after vitrification. Twenty-three Hokkaido-native mares were used as embryo donors. During estrous, mares were daily examined by rectal palpation and mated with fertile stallion with 2 days intervals until ovulation was confirmed. The ovulation day was considered Day 0. Embryo recovery was performed at Day

6 by transcervical uterine flushing with Ringer solution. A total of 13 blastocysts were collected and subjected to vitrification within 2 hours. The vitrification solution was TCM-199 supplemented with 25% EG and 25% DMSO. Blastocysts were loaded individually in vitrification solution into the 0.25ml plastic straws, placed on the nitrogen vapor, immersed and stored in liquid nitrogen. Four embryos were thawed (two good) were transferred to two recipient mares. Ultrasound was used at Day 14 but no pregnancy was obtained. The present result demonstrated that addition of DMSO was unable to improve the pregnancy rate of vitrified equine embryos compared with our previous result using EG and Ficoll as cryoprotectants.

11. 人工授精後に多胎性大型卵胞嚢腫を発症しながら妊娠した雌豚の1例

○大滝忠利, 森好政晴, 野津手麻貴子
菊川幸子, 中田 健, 中尾敏彦
(酪農学園大獣医獣学部医臨床繁殖)

豚多胎性大型卵胞嚢腫(MLC)は一時的あるいは永続的な不妊を伴うとされている。今回, 人工授精(AI)後にMLCを発症したにもかかわらず妊娠していた雌豚の1症例を経験した。本例は超音波検査によりAI後7日目に嚢腫卵胞(CF)が左右卵巣に2~3個認められ, その後CFは増数し, 卵巣は大鶏卵大を示しMLCと診断した。治療のため牛APG製剤を投与(AI後22日目)した後, 18日目で卵巣の大きさはほぼ正常に回復した。ところが, MLC治療後も発情が回帰せず, AI後72日に発情誘起の目的でPGF_{2α}を投与したところ胎子2頭を流産した。血中P₄濃度はAI後やや低値で推移したが, APG投与後に急激に上昇しその濃度を維持した。血中E₂濃度はAI後, 高値を維持したが, APG投与後急激に減少し低値で推移した。以上のことから, 着床前後にMLCが発症し, 高E₂下であっても妊娠する可能性があることが示唆された。

12. 習慣流産に対するガンマグロブリン大量療法の試み

○平山恵美, 山田秀人, 蝦名康彦
岸田達朗, 藤本征一郎
(北大医学部産婦)

【目的】原因不明の, または自己免疫疾患や抗リン脂質抗体症候群による習慣流産に対するガンマグロブリン大量療法の有効性を調べることを目的とした。

【方法】対象は, 流産を4回以上(平均4.5週)繰り返した原因不明の習慣流産患者10症例の12妊娠(Group I)と生児の分娩歴がなく流産を2回以上繰り返した自己免疫疾患や抗リン脂質抗体症候群による習慣流産3症例である(Group II)。本人ならびに家族の同意を得て, ガンマグロブリン大量療法(20g/日, 5日間, 合計100g)を妊娠4~7週(Group I)と6~13週(Group II)に行った。【結果】Group Iでは12例中10例が生児を分娩(妊娠30~39週)した。2例は稽留流産に至ったが, 2例とも胎児染色体異常が確認された。Group IIでは3例とも生児を分娩(妊36~39週)した。母体に蕁麻疹が1例で認められた以外, ガンマグロブリン大量療法に伴う副作用は観察されなかった。

13. 健康成人男子に精子数は減少しているのか —札幌市における20年間の検討—

○伊藤直樹, 高木誠次, 塚本泰司
(札幌医大泌尿)
田付二郎 (自衛隊札幌病院泌尿)

1992年のCarlsenらの報告以来, 健康成人男子の精子数減少は環境ホルモンとの関連性から大きな問題となっている。しかし, 精子数の研究は様々なbiasの問題があり信頼できるデータが少ないのが現状である。今回札幌市において大規模な精液検査を施行し, 20年前の結果と比較したので報告する。対象は健康男子ボランティア457名, 平均年齢24.2歳であった。3日以上禁欲期間後に精液を採取し精子数を測定した。年齢と測定方法は20年前(254名)と同様である。平均精子数($\times 10^6/ml$)は 79.6 ± 49.3 と20年前の 70.9 ± 47.3 との間に有意差は認められなかった。年齢と精子数との間にも相関はなかった。以上の結果から札幌市において精子数減少は認められなかったが, 地域差の問題があり, 我が国の現状を述べるためには今後対象症例, 測定方法等のbiasを可能な限り少なくしたprospective studyを日本国内数カ所で行う必要がある。

14. ピエゾ・マニピュレーターを用いたウシの卵細胞質内精子注入法: 卵子活性化および精子処理が精子頭部の脱凝縮におよぼす影響

○黒川 学, 片桐成二, 高橋芳幸
(北大大学院獣医研繁殖)

卵細胞質内精子注入法(ICSI)による体外受精はヒトの不妊治療に広く用いられているが, ウシでは受精率が極めて低く, 受精率に影響する要因の検討が

必要である。本実験では、ウシのICSIにおけるピエゾ・マニピュレーター(ピエゾ)を用いた精子注入法の有用性と卵子活性化および精子の処理が注入された精子頭部の脱凝縮におよぼす影響を検討した。その結果、頭部の脱凝縮した精子を有する卵子の割合は、ピエゾによる成績(約75%)の方が従来のマニュアル操作の成績(約10%)に比べ高い値を示した。また、ピエゾを用いたICSIにおける卵子のカルシウム・イオノフォアA23187処理および精子の凍結融解処理は、精子の脱凝縮に影響のないことが明らかになった。以上の成績から、ウシのICSIにピエゾを用いた場合、卵子活性化および精子の凍結処理を行わなくとも高い受精率の得られることが示唆された。

15. 哺乳動物の異種間体外受精卵における精子核脱凝縮のタイミングと染色体異常の関連性

○立野裕幸, 上口勇次郎

(旭川医大生物)

ゴールデンハムスター卵とチャイニーズハムスター精子の異種間体外受精では、卵は正常に活性化し、第2減数分裂を完了した卵核は雌性前核に発達する。これに対して、精子核の多くは脱凝縮を失敗し、雄性前核にまで発達するものはわずか11%ほどにすぎない。今回、媒精後に卵を紡錘糸形成阻害剤であるノコダゾル(0.1 μ g/ml)で1時間および2時間処理して第2減数分裂の再開を一時的に阻止し、その間に精子核の脱凝縮を誘導させることによって、雄性前核の形成を改善できることが明らかになった(1時間処理, 79.4%; 2時間処理, 74.2%)。この方法で作製した受精卵の雄性前核染色体を分析した結果、

構造的染色体異常率は1時間処理(48.8%)に比べて2時間処理(14.4%)で有意に低下していた。この結果は、受精後の卵の発達に対する精子核の発達(脱凝縮～前核形成)の遅れが精子由来染色体の構造異常形成に関わっていることを示唆している。

16. マウス卵へのICSI法を用いたヒト精子染色体分析法の確立および卵子の加齢と精子染色体異常の関連性の検討

○渡邊誠二, 立野裕幸, 上口勇次郎

(旭川医大生物)

我々は、ICSI(卵細胞質内精子注入)法によるヒト精子の染色体研究を目指しており、まず実験系の確立を行った。我々の方法でICSIした190卵の発生は良好で、78.4%が第一卵割中期に到達した(残りの16.8%および2.6%は膨化精子期および二前核期で発生を停止した卵)。また、核型分析できた140精子のうち構造異常と異数性の頻度は7.9%および0.7%であった。本法では過排卵卵子(約50分卵)へのICSIに2~3時間を要するので、この間に起こる卵子の加齢が胚発生の低下や染色体異常を招く可能性がある。そこで、ICSIまでの卵子保存時間(30分間隔)をもとに上記データを5群に分けて比較した結果、第一卵割中期到達率(73.9~87%)に差はなかった。構造的染色体異常出現率(2.6, 16.1, 4.2, 6.7, 12.5%)と卵子の加齢の関連性ははっきりしないので、今後、更に分析例数を増す必要がある。今回は、凍結保存精子を用いて研究したが、現在、新鮮精子でも同様の実験を行い、両者の比較を試みている。

日本医学会だより

JAMS News

1999年5月 No.21

第25回日本医学会総会

第25回日本医学会総会は東京において、開会式に天皇、皇后両陛下の行幸行啓を仰ぎ、高久麿会頭の下、「社会とともにあゆむ医学—開かれた医療の世紀へ—」をメインテーマに、学術講演会を平成11年4月2日から4日まで、医学展示・博覧会、生命(いのち)の博覧会を3月30日から4月8日まで開催した。

開会式は簡素でしかも厳かに粛々で行われた。ご臨席の天皇陛下のお言葉は、「この百年の間にわが国の医学はめざましい進歩を遂げた。今世紀後半の医学は、科学技術の発達とあいまって病気の早期発見や有効な治療法の開発を可能にした。今後、さらなる進歩とともにもたらされ得る危険に対しても、これを予見し、常に注意深く対応していくことが、医学界および関係行政にとっての大きな課題となり、責任となっていくことと思う。

医療関係者には常に人間と社会に対する深い洞察力と広い総合的視野をもつことが求められてきている。力を尽くして進まれることを切に希望する」と述べられ、拝聴する参加者に深い感銘をあたえた。

開会講演は「医学の新たな枠組みを求めて」と題し伊藤正男氏(理研)が、閉会講演は「医学の人間化と非人間化」と題して、立花隆氏が行った。

医学展示・博覧会、生命(いのち)の博覧会は、参加者数31万人を越す盛況ぶり、名実共に社会に開かれた場となった。

第66回日本医学会定例評議員会

標記評議員会を平成11年2月23日(火)に開催した。席上、森医学会長の挨拶として、「比較的順調な1年を過ごしてきた。地味な活動ではあるが、皆様方のご努力の結果として、社会から頼りにされているものと自負している。一例では医学用語について、医学会からの意見を国内の医学用語制定の中核にしたいという動きがある。また4月開催の第25回日本医学会総会の準備が着々と進んでいる」と述べた。

引き続き、第25回日本医学会総会の高久史麿会頭ならびに矢崎義雄準備委員長から準備状況の報告があり、今総会が本格的に社会に向かって公開されるものであるとともに、医師の生涯教育の場としても活用されることの説明があった。総会を記念して「医

の現在」が岩波書店から刊行され、また「日本医学会総会百年のあゆみ」が総会記念委員会から発行された。「百年のあゆみ」は、310円(切手)を添えて日本医学会に申し込めば、先着順に謹呈する。ただし、残りの部数には限りがある。

第113回日本医学会シンポジウム

平成11年6月17日(木10:00~17:00)、日本医師会館において「中高年の生活の質改善のための医療」をテーマにシンポジウムを開催する。組織委員は、田中平三、武谷雄二、藤井克之、溝口秀昭の各氏、参加希望者は、日本医学会に郵便はがきで申し込まれたい。参加費無料。

プログラムの概要は下記のとおり。

I. 生活の質(quality of life)

1. 高齢者における生活の質の意義/田中平三(東京医歯大・難治疾患研), 2. 生活の質の概念とその変遷/杉山みち子(国立健康・栄養研究所)

II. 性ホルモンと生活の質

3. 概説—性ホルモンの生活の質へのかかわり—/麻生武志(東京医歯大・産婦人科), 4. エストロゲンと脳機能/大藏健義(獨協医大・越谷病院・産婦人科), 5. エストロゲンと心血管/秋下雅弘(東大・老年病科), 6. エストロゲンと骨粗鬆症/太田博明(慶應大・産婦人科), 7. 中高年男性とアンドロゲン/箕和田 滋(東大・泌尿器科)

III. 骨・関節と生活の質

8. 骨粗鬆症による傷害とその予防・治療/串田一博(浜松医大・整形外科), 9. 膝痛の予防と治療/黒澤 尚(順天堂大・整形外科), 10. スポーツによる傷害とその予防/石井清一(札幌医大・整形外科)

IV. 皮膚・感覚器と生活の質

11. 皮膚科領域における生活の質改善のための医療/渡辺晋一(帝京大・皮膚科), 12. 眼科領域における生活の質改善のための医療/所 敬(東京医歯大名誉教授), 13. 耳鼻科領域における生活の質改善のための医療—鼻閉, いびき, 睡眠時無呼吸—/長谷川 誠(杏林大・耳鼻科)

日本医学会の加盟申請

平成11年度の申請に関する公示は、平成11年5月15日に行い、7月31日で申請を締め切る予定であ

る。

加盟申請書は、日本医学会あて請求されたい。

医学用語管理事業

医学用語管理委員会では、9名の委員により、「日本医学会医学用語辞典－英和－」第2版の出版作業の一部である編集上の最終校正が目下行われている。刊行は、平成13(2001)年3月を目指している。

医学賞・医学研究助成費

平成11年度の医学賞・医学研究助成費の候補者の推薦依頼を日本医学会各文科会長、全国大学医学部長・医科大学長、その他関係機関長あて5月上旬に送付した。選考は日本医学会が日本医師会から委任されて行うこととなっている。

各要項の概要は、下記のとおり。

医学賞要項 1. 日本医師会医学賞は、日本医師会会員で、医学上重要な業績をあげたものに授与する。2. 本賞は、毎年1回、基礎医学・社会医学・臨

床医学を通じ計3名に授与する(副賞は1名500万円)。

医学研究助成費要項 1. 日本医師会医学研究助成費は、日本医師会会員で、医学上将来性に富む研究を行っているものに授与する。2. 本助成費は、毎年1回、基礎医学・社会医学・臨床医学を通じ15件に授与する(1件150万円)。

各機関長からの推薦は、医学賞は各部門1名、助成費は各部門を通じ3件以内。

認定医についての三者懇談会

第21回標記懇談会が平成10年11月9日(月)に開催された。

学会認定医制協議会から現況の説明が行われた。基本領域診療科(外科系)に脳神経外科を追加することの提案があり、三者懇談会の席上で承認された。

今後の三者懇談会の活動としては、学会認定医制協議会からの説明を受けながら各学問における認定・専門医制度のさらなる整合性を図ることが考えられている。

投稿規定

(1997年12月20日改定)

1. 本誌掲載の論文は、原則として会員のものに限る。
2. 投稿論文は、本会の目的に関連のある原著、総説、論説、臨床報告、その他で、他誌に未掲載のものに限る。
3. 臨床例（もしくは臨床材料）または動物を対象とした実験的研究においては倫理面を考慮すること。なお、被験者からインフォームド・コンセントを得た場合は論文内にその旨を記載する。
4. 投稿論文は編集委員会が依頼する複数の審査委員の審査を受け、採否、掲載順位、その他の編集に関する事項は編集会議でこれを決定する。掲載は原則として受理順とする。
5. 1論文は、原則として刷り上がり6ページ以内とし、超過は4ページ（計10ページ）までを認める。なお超過ページならびに費用を要する図、表、写真、カラー印刷は実費を著者負担とする。
6. 投稿原稿はB5版横書き400字詰のものを使用し清書する。なお、ワープロ使用の場合もこれに準じ、文書フロッピー（MS-DOS、テキストファイル出力）を添付し、機種名とソフト名を明記する。原稿は原本1部に査読用コピー2部を添える。写真は原稿を含めて3部とする。
7. 原著、総説、論説、臨床報告などには、必ず600字以内の和文抄録ならびに、200words以内の英文抄録（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られた場合は、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巢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、必ずクリアー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

日本不妊学会誌の第44巻3号をお届けします。

現在は平川編集委員長の多大なる努力で各号の発行日もきちんと守られ、特に、学会抄録号も一カ月前には会員の皆様へ届くようになりました。

思えば、私の教室で担当した平成9年の第42回総会では、直前まで編集を行っていた日本不妊学会事務局の都合で学会抄録号が発行できず、会員の皆様にはご迷惑をおかけしましたが、それ以上に白井将文会長や私も含めた教室の担当者は大変不愉快な気分で総会を迎えました。その後は平川編集委員長の教室(東邦大学第一産婦人科)に編集事務局を移され順調に発行されております。

皆様もご存知のこととは思いますが、近々日本不妊学会の事務局が変わる予定ですが、いまだはっきりと決まっておりません。しかし学会誌の投稿受付は、事務局が決まって落ち着くまで、しばらくは現在の東邦大学第一産婦人科内の編集事務局にお世話になりますので、なお一層の投稿をお願い申し上げます。

(編集委員 三浦一陽)

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3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6月25日印刷
1999年7月1日発行