

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



Vol. 45 No. 4 October 2000
第45巻 第4号 平成12年10月1日

第46回日本不妊学会総会および学術講演会 (第1回予告)

日本不妊学会総会および学術講演会を下記の要領にて開催いたしますので、奮ってご参加頂きますようお願い申し上げます。

記

期 日：平成13年11月7日（水）幹事会，理事会

8日（木）学術講演会，評議員会，総会，総懇親会

9日（金）学術講演会，新理事会，各種フォーラム

会 場：京王プラザホテル

〒160-0023 新宿区西新宿2丁目2-1

TEL：03-3344-0111

学術講演会

特別講演

竹内 一夫（杏林大学名誉教授）

招請講演

Suheil J. Muasher（Eastern Virginia 大学教授）

Linda C. Giudice（Stanford 大学教授）

教育講演 4題

シンポジウム 2題

ワークショップ 3題

一般演題

すべて口演とする予定

申込締切 平成13年6月1日（金）（当日消印有効）

総懇親会	11月8日(木)
ランチョンセミナー	11月8日(木), 9日(金)
機器展示	11月8日(木), 9日(金)
アートフォーラム	11月9日(金)

演題募集要項, 特別講演, シンポジウム, ワークショップ, その他詳細につきましては次号(46巻1号, 平成13年1月発行)でお知らせいたします。

平成12年9月

第46回日本不妊学会

会長 中村 幸雄

連絡先: 〒181-8611 東京都三鷹市新川2丁目25-6

杏林大学産婦人科教室内

第46回日本不妊学会事務局

(担当: 高橋康一, 安藤 索, 葉梨秀樹)

TEL: 0422-47-5511 (内線 2538)

FAX: 0422-47-3177

日本不妊学会雑誌

第45巻 第4号

平成12年10月1日

—目 次—

依 頼 稿

機能性不妊症 その病態と対策 精子機能異常と機能性不妊

..... 笠井 剛, 星 和彦, 平田修司, 小川恵吾
水野薫子, 永井聖一郎, 正田朋子, 内田雄三
大田昌治, 岩本豪紀, 山中智哉 1

卵・卵胞の発育からみた機能性不妊

..... 齊藤隆和, 金子智子, 戸屋真由美
吉田雅人, 清野朝史, 高橋俊文
河内谷 敏, 齊藤英和, 廣井正彦 7

配偶子免疫と機能性不妊

..... 繁田 実 13

機能性不妊症一病態とその対策— 着床率からみた機能性不妊治療の解析

..... 松浦講平 17

男性不妊症における精索静脈瘤手術の意義

..... 奥野 博, 中村英二郎, 大西裕之
七里泰正, 筧 善行, 小川 修 23

MESA, PESA, TESE の実際と医療連携

..... 近藤宣幸, 島 博基 29

男性不妊 —産婦人科と泌尿器科の役割分担—

..... 辰巳賢一, 渡辺政信, 金井裕子, 濱崎祐希
小山栄三郎, 坂本英雄, 吉田英機 33

原 著

ウサギ胎盤で発現する新規の塩基性タンパク質をコードする遺伝子 (英文)

..... 宮本裕史, 松本和也, 細井美彦
佐伯和弘, 松代愛三, 入谷 明 37

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, 藤間芳郎, 岩崎信爾
矢内原 敦, 小田 力, 矢内原 巧
岡井 崇, 九島巳樹 41

男性不妊症における医療連携

..... 柳田 薫, 片寄治男, 矢澤浩之, 木村康之
林 章太郎, 佐藤 章, 鈴木孝行
萩原雅彦, 柳田知彦, 山口 脩 47

症例報告

交叉性精管精管吻合術後, 非吻合側造精機能障害精巣に発生した精巣腫瘍の1例
..... 野澤英雄, 永尾光一, 原 啓
石井延久, 三浦一陽 53

第 45 回日本不妊学会学術講演会抄録 59

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 45, No. 4, 2000)

Japan Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Request paper

Assesment of Sperm Function

- *T. Kasai, K. Hoshi, S. Hirata, K. Ogawa*
K. Mizuno, S. Nagai, T. Shoda, Y. Uchida
S. Ohta, H. Iwamoto & T. Yamanaka 1

Clinical Significance of Varicocelelectomy for Male Infertility

- *T. Saito, T. Kaneko, M. Toya*
M. Yoshida, T. Seino, T. Takahashi
S. Kawachiya, H. Saito & M. Hiroi 7

Gamete Immunity and Unexplained Infertility

- *M. Shigeta* 13

Analysis of the Treatment for Unexplained Infertility from the Viewpoint of the Implantation Rate

- *K. Matsuura* 17

Clinical Significance of Varicocelelectomy for Male Infertility

- *H. Okuno, E. Nakamura, H. Onishi*
Y. Shichiri, Y. Kakehi & O. Ogawa 23

MESA, PESA and TESE in the Co-working of Medical Care

- *N. Kondoh & H. Shima* 29

The Effects of the Tie-up between Gynecologists and Urologists in the Treatment of Male Infertility

- *K. Tatsumi, M. Watanabe, Y. Kanai, Y. Hamazaki*
E. Koyama, H. Sakamoto & H. Yoshida 33

Originals

Sequence of a cDNA Encoding a Novel Basic Protein Expressed in Rabbit Placenta

- *H. Miyamoto, K. Matsumoto, Y. Hosoi*
K. Saeki, A. Matsushiro & A. Iritani 37

The Role of Steroid Hormones and it's Receptors on Pathophysiological Mechanism of Endometrium in Unexplained Infertility Women.

- *R. Tahara, Y. Toma, S. Iwasaki, A. Yanaihara*
C. Oda, T. Yanaihara, T. Okai & M. Kushima 41

The Co-working of Medical Care in Male Infertility

..... *K. Yanagida, H. Katayose, H. Yazawa, Y. Kimura*

S. Hayashi, A. Sato, T. Suzuki

M. Ogiwara, T. Yanagida & O. Yamaguchi 47

Case report

A Case of Testicular Tumor Arising from the Dysfunctional Testis, Non-anastomosed

Side of a Crossed Vasovasostomy

..... *E. Nozawa, K. Nagao, H. Hara*

N. Ishii & K. Miura 53

Abstracts 「45th Annual Meeting on Japan Society of Fertility and Sterility」 59

機能性不妊症 その病態と対策 精子機能異常と機能性不妊

Assesment of Sperm Function

笠井 剛

Tsuyoshi KASAI

小川 恵 吾

Keigo OGAWA

正田 朋子

Tomoko SHODA

星 和 彦

Kazuhiko HOSHI

水野 薫 子

Kaoruko MIZUNO

内田 雄 三

Yuzo UCHIDA

平田 修 司

Shuji HIRATA

永井 聖一郎

Seiichiro NAGAI

大田 昌 治

Shoji OHTA

岩本 豪 紀

Hideki IWAMOTO

山中 智 哉

Tomoya YAMANAKA

山梨医科大学産科婦人科学教室

Department of Obstetrics and Gynecology, Yamanashi Medical University,

Yamanashi 409-3898, Japan

緒 言

機能性不妊症とは、不妊症の一連の検査では原因が見つからない不妊症を指し、日常の臨床でも、遭遇することは少なくない。最近の生殖生物学の研究の進歩から、妊娠しない原因がないのではなく、現段階のルーチン検査では妊娠しない原因を特定できない不妊症と理解されるようになってきた。機能性不妊症には、卵子、精子、子宮内膜・着床環境、免疫機構に原因があるものなどが考えられるが、精子の機能に焦点を当てて、男性機能性不妊症の病態の解明について検討した。

精子の機能とは「受精」、すなわち雄の遺伝情報を確実に卵に送り込み次世代の個体を形成することである。精子は受精を完遂するために、極めて多彩な経過をたどる。主として雄の体の中で形態的に成熟し、雌の体の中で機能的に成熟して受精にかかわる。この一連のプロセスのどこか一部分でも障害されると受精能を喪失する。このような観点から眺めてみるとルーチンの精液検査だけでは見えてこない精子の機能を評価することが重要となってくる。

精子の成熟機構

精原細胞が成熟分裂をおこし精母細胞、精子細胞を経て精子になる過程が精子の形態的成熟過程である。この過程では精巣上体における精子核の成熟に注目した。精子の核が体細胞のそれと大きく異なるのは核蛋白である。体細胞の核蛋白はヒストンであるが精子のそれはプロタミンである。前期精子細胞から後期精子細胞へと成熟していく過程で、核蛋白が、ヒストン型からプロタミン型に置換されていく。さらに成熟するに従い、プロタミン分子内のシステインが強固なSS結合を形成し、核クロマチンはより凝縮した構造になる。SS結合に富むプロタミンを含むDNAは酸で処理しても二重鎖の構造が保たれているが、SS結合がない時は、二重鎖構造が失われる。アクリジンオレンジ染色を施すと二重鎖DNAはgreenに、二重鎖構造が失われたDNAはredに蛍光染色される。このように精子を酸で前処理した後にアクリジンオレンジ染色を行うことで、SS結合の有無から精子核の成熟性が判定できる。

体外受精の受精率とアクリジンオレンジ染色によるgreen精子の割合を検討してみるとgreen精子が少

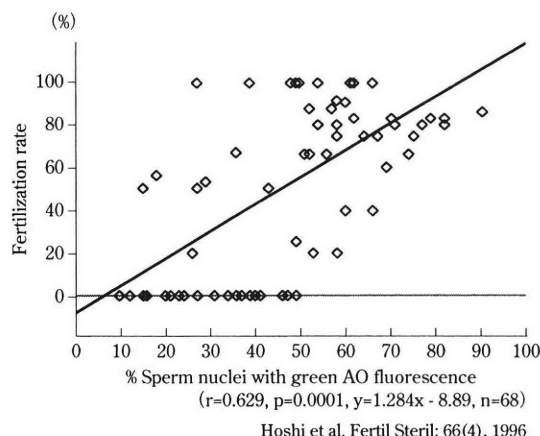


図1 Green精子の割合とIVF-ETの受精率

表1 マウス精子の透明帯接着能

	透明帯接着精子数(個)	
CZB培養液(コントロール)	32.1±15.1(n=30)	* * * NS
GSH添加	5.5±4.4(n=30)	
GSH→CZB培養液	23.5±11.2(n=26)	

(* $P < 0.01$)

ないほど、特にその割合が50%を切ると受精がおこらなくなるのわかる(図1)¹⁾。それではなぜ、核が未熟な精子は受精にくいのであろうか。透明帯に接着した精子を、アクリジンオレンジ染色すると、媒精精子には、red精子が含まれているが、透明帯に付着する精子のほとんどがgreenを呈していることが明らかになった。このことから核が未熟な精子は、透明帯に接着できないことが推定される。また、正常射出精子をアクリジンオレンジ染色するとgreen精子が大部分を占めるが、これを還元型グルタチオン(GSH)で処理すると、核蛋白のSS結合が外れて、SH基となり、精子核がredになる。これらの精子をまた、元の培養液に戻すと、自動的に酸化され再びgreenを呈するようになる。これらの3種類の精子の卵透明帯への接着能をマウスの精子で検討すると、還元されたred精子の透明帯への付着は少なくなることが明らかになった(表1)。GSHにより、透明帯と接着する精子膜表面の抗原に何らかの変化が起こり、精子が接着できなくなることが示唆される。また、核が未熟な精子では、red精子からgreen精子にならないので自動酸化能を持っていないことが示唆される。

以上より、機能的な不妊症の一つに、精子の核が未

熟な症例が存在することが明らかになった。その理由として、透明帯への接着障害が示唆され、このような核が未熟な精子の場合は、通常の受精は困難であり、顕微授精が必要と思われる。

性ホルモンへの反応機構

射精された精子が雌の生殖路に入ってから起こす反応で重要なものは、受精能獲得(capacitation)、先体反応(acrosome reaction)、運動能の活発化(hyperactivation)である。これらは精子の機能的成熟といわれており、これらの反応をしっかりと起こすことが受精に必要な精子側の条件となる。近年、精子の機能的成熟を促進する生理的活性化物質としてプロゲステロン、エストロゲンなどの性ホルモンが注目されている。プロゲステロンに対する反応性が低下している精子、すなわちプロゲステロンで処理しても、精子細胞内カルシウムイオン濃度の上昇しない精子では、妊孕力が低いとの知見が多数報告されている²⁻⁵⁾。

Tesarik⁶⁾のデータが示すように、BSA、FITCを結合させたプロゲステロンを精子に暴露させると、精子頭部が染色される。このプロゲステロンはBSAが結合しているので精子細胞膜内に進入することができない。そのため精子細胞膜にプロゲステロンが接着することが示されている。またその染色性には、精子頭部全体が染色されるものと、赤道領域のみが染色される2つのパターンが認められ、時間経過と共に赤道領域のみが染色される精子が増加してくることから、このような精子は先体反応を起こした精子であることが示唆されている。プロゲステロンが、精子細胞膜に接着し、Caイオンチャネルを開きCaイオンが細胞内に流入し、先体反応が誘発される。これらの反応は、極めて短時間に起こり、この結果から膜

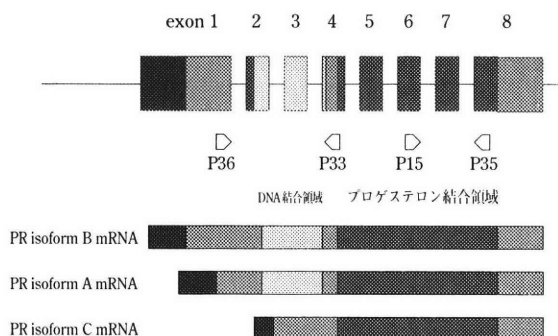


図2 ヒトプロゲステロン受容体(PR)遺伝子構造およびPCR primers

プロゲステロン受容体 (PR) を介した “non-genomic action” であると考えられている。

これまでPRにはいくつかのisoformが報告されている。先行研究から精子細胞膜上にあると考えられるPRは、乳癌細胞などで認められるisoform Cに類似した受容体であることが推測された。そこで、PRのプロゲステロン結合領域とDNA結合領域の二カ所に対するプライマーを用意して(図2)、精子から得られたtotal RNAをRT-PCR-Southern blot 法にて解析した。子宮内膜や子宮筋層では、二つの領域から増幅遺伝子が得られたが、精子では、プロゲステロン結合領域からのみ増幅遺伝子が得られた(図3)。このことから精子細胞膜上にあると考えられるPRは、プロゲステロン結合領域を中心としたもので、DNA結合領域を持たないものであることが明らかになった。

ヒト精巣 cDNA ライブラリーからプロゲステロン結合領域を規定する細胞内型PR cDNAをプローブとしてスクリーニングし、PR isoform S cDNAをクローニングした(図4)。PR isoform S cDNAは、細胞内型PR cDNA のエキソン4~8の上流に新規の配列を有し、この配列は、独立した単一のエキソン (エキソン S) に由来することが明らかとなった(図5)。この

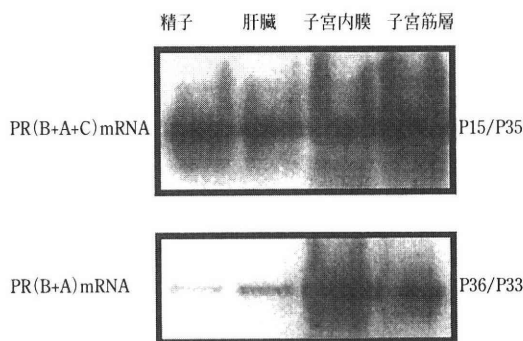


図3 ヒト諸組織におけるプロゲステロン受容体 PR isoforms (B+A+C) および isoforms (B+A) mRNAs の検出

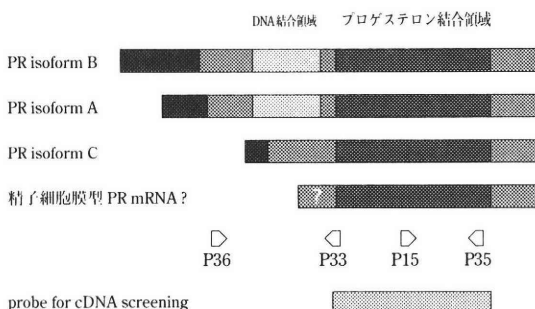


図4 ヒトプロゲステロン受容体 mRNA isoforms

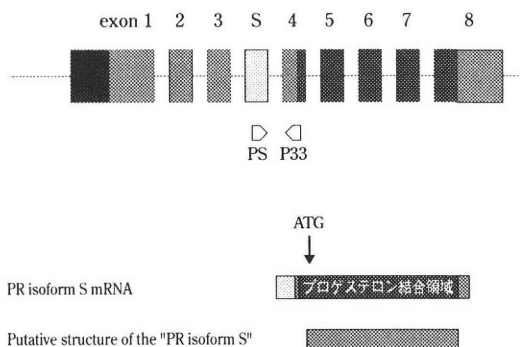


図5 ヒトプロゲステロン受容体 (PR) 遺伝子構造

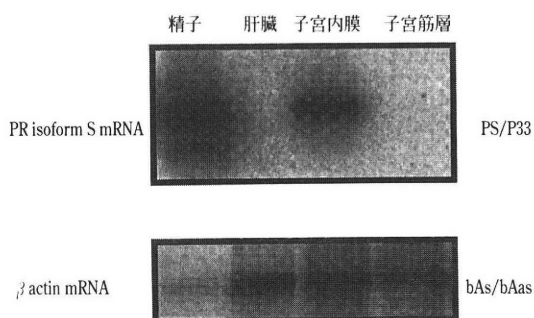
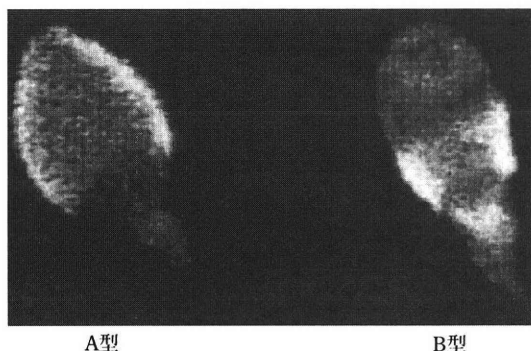
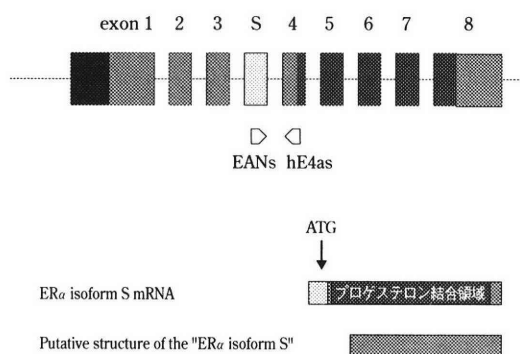


図6 ヒト諸組織におけるプロゲステロン受容体 PR isoform S および β actin mRNAs の検出

結果、ヒトPRの遺伝子は、これまで明らかになっているエキソン1から8に加えて、エキソンSから構成されisoform S mRNAが転写されてくることが明らかとなった。PR isoform S mRNAの精子における存在を検討すると、ヒト射出精子に極めて高レベルで存在し(図6)、この mRNA より翻訳されると推定されるPR isoform S蛋白が、精子「膜PR」と関連を有していることが強く示唆される。

また、エストロゲンは精子形成過程には必要不可欠なホルモンであるが、射出精子に対してもその機能を修飾しているようである。エストロゲンもプロゲステロンと同様に、精子細胞膜に接着し、細胞内カルシウムイオン濃度を上昇させ、精子機能発現機序に関与している。E₂-BSA-FITCの精子頭部への結合を共焦点レーザー顕微鏡で観察すると、プロゲステロンと同様にその接着の仕方に二つのパターンが認められる(図7)。精子には、膜型のエストロゲン受容体(ER)が存在する可能性が示唆されるので、「膜ER」の構造を追求するために、ヒト精巣cDNAライブラリーからエストロゲン結合領域を規定する細胞内型 ER α cDNAをプローブとしてスクリーニングし、

図7 E₂-BSA-FITCの精子頭部への結合図8 ヒトER α 遺伝子構造

陽性クローンの塩基配列を解析した。ER α isoform S cDNAは、PR α isoform S cDNAと同様に、細胞内型ER α cDNAのエキソン4～8の上流に、独立した単一のエキソン(エキソン S)に由来する新規の配列を有することが明らかとなった(図8)。ER α isoform S mRNAの精子における存在を検討してみると、PR isoform S cDNAに比べると、低レベルながら、ヒト

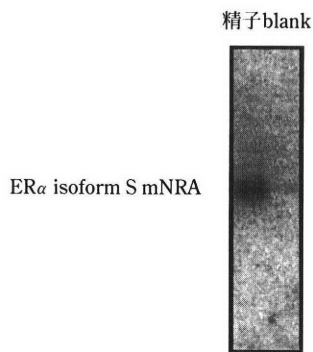
図9 ヒト射出精子におけるER α isoform S mRNAの検出

表2 ヒト精子中の微量元素濃度

	射出精子運動率	
	50%未満 (n=23)	50%以上 (n=65)
Zn(femtogram/個)	5.8 $\pm$ 6.6	17.0 $\pm$ 42.6 (P<0.05)
Se(attogram/個)	19.4 $\pm$ 22.9	38.6 $\pm$ 40.9 (P<0.01)
Cu(attogram/個)	26.1 $\pm$ 29.7	87.2 $\pm$ 218.4 (P<0.05)
Cd(attogram/個)	8.4 $\pm$ 13.8	21.9 $\pm$ 53.1 (NS)

射出精子に存在することが明らかとなった(図9)。

プロゲステロンならびにエストロゲンは精子に直接作用し、受精能獲得過程を調節・修飾するが、これらの精子における一次作用点である「細胞膜受容体」の本態は現在のところ解明されていないが、近い将来、この精子「細胞膜受容体」の解析により新たな精子機能評価が可能になると考えられる。

ミトコンドリア機能の調節機構

次に、運動能の解析として精子ミトコンドリアと微量元素に着目した。ヒト精子中の微量元素濃度を測定したところ、精子運動率が50%未満の症例では、Zn、セレン、銅が低下していることが明らかになった(表2)。とくにセレンが低下しているので、セレンと精子運動能との関係を検討した。セレンが精子の運動率の低下に関係するメカニズムとして、グルタチオン・ペルオキシダーゼの一つのphospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx)の関与が検討されている。精子形成過程における精子核ならびにミトコンドリアの酸化還元反応にPHGPxが関与しているが、成熟精子においてはミトコンドリアPHGPxには酵素活性がなく、これはミトコンドリア外膜の構造蛋白として、ミトコンドリアを安定化させるのに使われている⁷⁾。PHGPxの形成にはセレン(selenocysteine)が不可欠であるため、セレン欠乏症では、PHGPxの低下により精子運動性に支障が生じる可能性がある。

セレン欠乏食を4週間ラットに投与し、血清中のセレン濃度と精子運動率を比較検討した。セレン欠乏食を投与したラットでは、血清中のセレン濃度、精子運動率が共に低下することが明らかになった(図10)。セレンが欠乏すると、精子の運動性が低下するが、この運動能の低下の一因として、精子ミトコンドリアのPHGPx活性の低下が考えられ、精子PHGPx活性の測定によって精子機能を評価できる可能性がある。

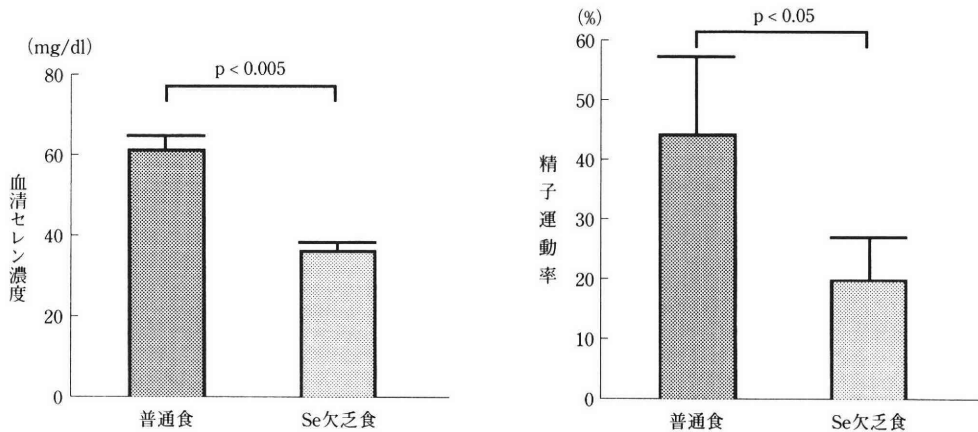


図10 セレン欠乏食(4週間)による血清Se濃度ならびに精子運動率の変化

卵活性化因子

受精に必要な精子側の条件の4つ目として、卵の活性化がある。首尾良く卵に侵入したあとも精子は受精卵の正常な発生のために機能する。卵の活性化の機序として現在二つの説が考えられている(図11)。卵細胞膜上の受容体を介するレセプター説と、精子が持ち込む卵活性化物質が直接、活性化を引き起こすという細胞質因子説である。現在では後者すなわちsperm factor説が有力である。この卵活性化物質の同定は様々な試みがなされているが、まだ決定的なものは見つかっていない。

細胞膜が全く正常な精子、部分的に損傷させた精子、Triton Xで細胞膜を完全に破壊した精子の3種類を用意して、マウスの卵に顕微授精しその後の卵

活性化の状態を経時的に検討したところ、卵活性化の起こり方に差が認められた(図12, 13)。細胞膜が無傷な精子を注入された卵では、細胞膜が損傷された精子を注入された卵に比べて卵の活性化が遅れた。細胞膜が無傷なため卵活性化因子の卵細胞内への放出が遅れてしまうことが考えられる。精子細胞質に存在するsperm factorが細胞膜の間隙を通して卵細胞内に放出されて活性化を惹起することがこの実験からも裏付けられる⁸⁾。

精子を卵子内に侵入させても、受精しない症例が存在するが、その原因として卵活性化因子の欠如もしくはその機能異常が関与している可能性がある。

以上、精子の成熟機構、性ホルモンへの反応機構、ミトコンドリア機能の調節機構、卵活性化因子について概説したが、これらのメカニズムをあきらかにすることが、機能性不妊症の病態の解明に役立つと考えられる。

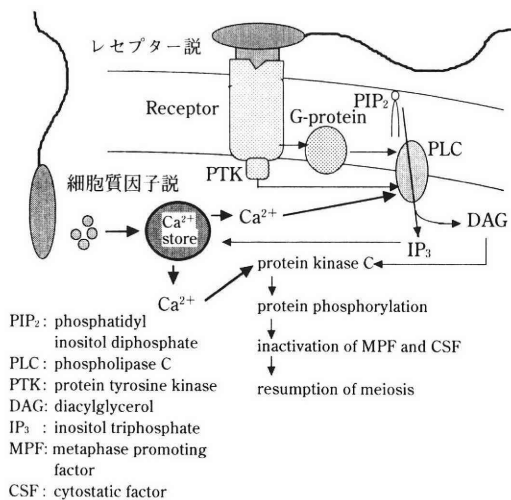


図11 卵活性化の機序

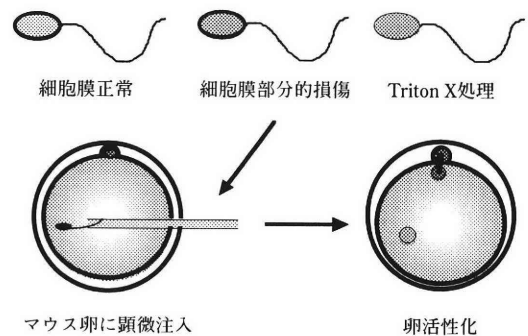


図12 ヒト精子注入実験

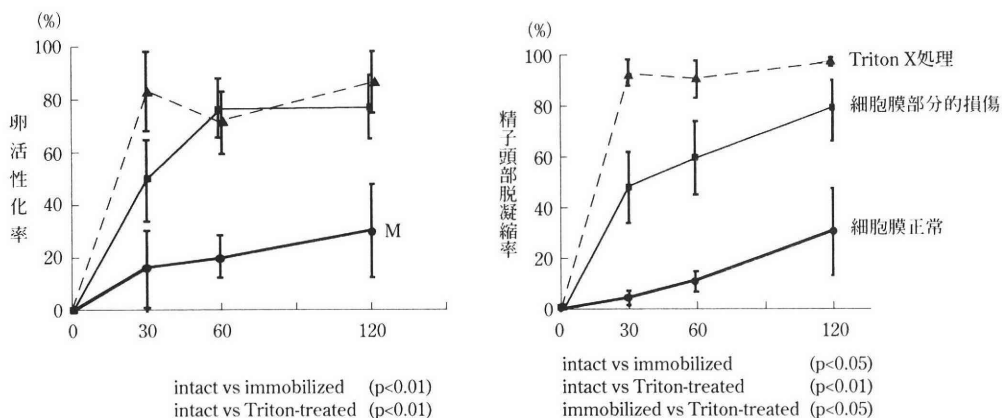


図13 ヒト精子ICSI後の卵活性化率および精子頭部脱凝縮率の推移

本論文の要旨の一部は第44回日本不妊学会(1999年11月、東京)で報告した。

文 献

- 1) Hoshi K, Katayose H, Yanagida K, et al. (1996) The relationship between acridine orange fluorescence of sperm nuclei and the fertilizing ability of human sperm. *Fertil Steril* 66:634-639
- 2) Falsetti C, Baldi E, Krausz C, et al. (1993) Decreased responsiveness to progesterone of spermatozoa in oligozoospermic patients. *J Androl* 14:17-22
- 3) Shimizu Y, Nord EP and Bronson RA (1993) Progesterone-evoked increases in sperm $[Ca^{2+}]_i$ correlate with the egg penetrating ability of sperm from fertile but not infertile men. *Fertil Steril* 60:526-532
- 4) Krausz C, Bonaccorsi L, Luconi M, et al. (1995) Intracellular calcium increase and acrosome reaction in response to progesterone in human spermatozoa are correlated with *in-vitro* fertilization. *Hum Reprod* 10:120-124
- 5) Krausz C, Bonaccorsi L, Maggio P, et al. (1996) Two functional assays of sperm responsiveness to progesterone and their predictive values in *in-vitro* fertilization. *Hum Reprod* 11:1661-1667
- 6) Tesarik J and Mendoza C (1992) Defective function of a nongenomic progesterone receptor as a sole sperm anomaly in infertile patients. *Fertil Steril* 58:793-797
- 7) Ursini F, Heim S, Kiess M, et al. (1999) Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science* 27:285(5432):1393-1396
- 8) Kasai T, Hoshi K and Yanagimachi R (1999) Effect of sperm immobilisation and demembration on the oocyte activation rate in the mouse. *Zygote* 7:187-193

卵・卵胞の発育からみた機能性不妊

Clinical Significance of Varicocelelectomy for Male Infertility

齊 藤 隆 和	金 子 智 子	戸 屋 真由美
Takakazu SAITO	Tomoko KANEKO	Mayumi TOYA
吉 田 雅 人	清 野 朝 史	高 橋 俊 文
Masato YOSHIDA	Tomohumi SEINO	Toshifumi TAKAHASHI
河内谷 敏	齊 藤 英 和	廣 井 正 彦 ¹⁾
Satoshi KAWACHIYA	Hidekazu SAITO	Masahiko HIROI

山形大学産婦人科学教室

Department of Obstetrics and Gynecology,
Yamagata University School of Medicine, Yamagata 990-9585, Japan

¹⁾山形県立保健医療大学

Yamagata School of Health Science,
Yamagata 992-2112, Japan

はじめに

機能性不妊とは通常の不妊検査では原因を特定できない不妊症である。我々は日常の臨床において年齢が高くなると妊孕力が低下することを経験的に実感している。機能的には異常がなくても高齢であるだけで妊娠できないものも機能性不妊の一部と考えられ、今回我々は年齢的な妊孕力低下について卵巣および卵を中心に検討を加えそれに対する対策を検討してみた。

まず当科における体外受精-胚移植法の臨床成績から現状の問題点を再確認し、発育卵胞の評価法の一つとして従来より当科において施行されている顆粒膜細胞のapoptosis細胞出現数について検討する。そして排卵された卵について形態的には優劣がつかないものに機能的な評価を試みた。最後に、過排卵刺激をしても反応性を示さない低反応性の卵巣に対するひとつの過排卵刺激方法としてアルギニンを用いた過排卵刺激法の基礎的検討を紹介する。

1 当科における体外受精-胚移植法

従来卵管性不妊症の治療として誕生した体外受精-胚移植法は、現在機能性不妊症に対する究極の治療に位置付けられている。これまでの当科の体外受精-胚移植法の治療成績を年齢別に評価し問題点の有無を検討してみた。

当科ヒト体外受精-胚移植法における臨床成績であるが、GnRH analogを使用開始した1988年7月より1999年8月までの4784例を対象に解析した。GnRH analogは前周期の黄体中期から併用し、hMG+hCG療法にて過排卵誘発を施行した。発育卵胞数は採卵決定日(hCG切り替えの日)に経腔超音波下に平均卵胞直径15mm以上の卵胞を計測した。採卵数は経腔超音波下に採卵できた数を計測した。子宮内膜厚は採卵決定日における経腔超音波下に測定された子宮内膜厚を用いた。その結果

①発育卵胞数・採卵数ともに高齢化すると数が減少していた。(図1)

②子宮内膜厚は高齢化すると菲薄化していく傾向が認められた。(図2)

③妊娠率は高齢化すると減少していた。(図3)

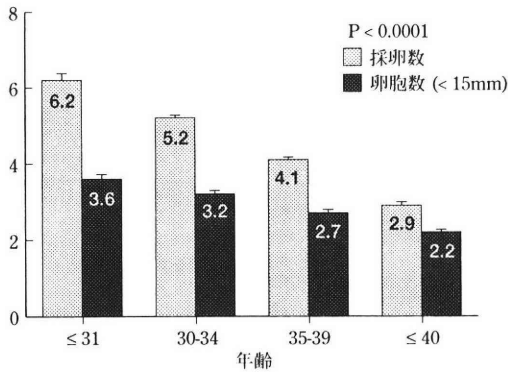


図1 年齢別卵胞数・採卵数

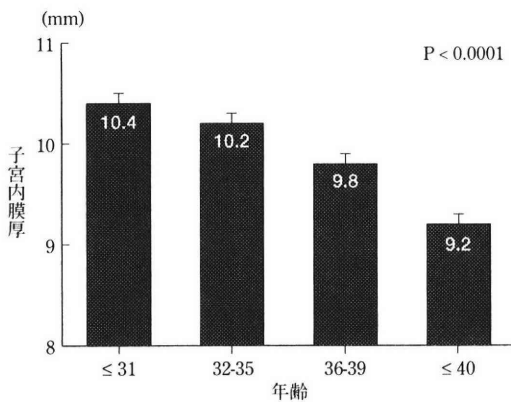


図2 年齢別子宮内膜厚

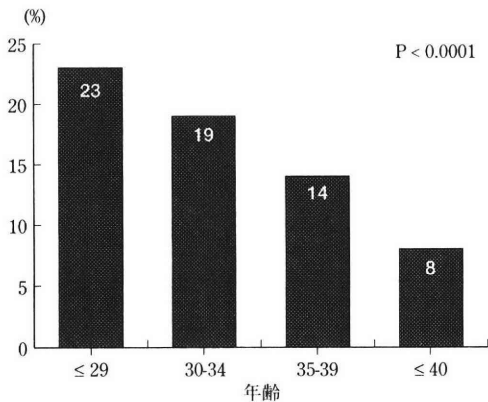


図3 年齢別妊娠率

以上より高齢化すると、卵巣・卵および子宮の機能的な低下が顕著となり妊孕力の低下が認められることがあきらかとなった。

2 卵巣内卵胞発育を評価するためのアポトーシス細胞検出について

体外受精-胚移植法を施行する際、排卵誘発法を使用するのは必然であり、発育した卵胞の評価は尿や血液そして卵胞液のホルモン測定にて評価されてきた。しかし、どれも卵胞の発育環境を詳細に反映するものではなく、また個々の卵胞について評価することは不可能であった。

当科では従来より体外受精-胚移植法における発育卵胞の評価の一つとして、採卵時に得られた顆粒膜細胞を核染色しアポトーシス細胞を計測してきた¹⁾。そこで、この評価法を用いて各年齢別に顆粒膜細胞にみられるアポトーシス細胞を計測するとともに従来の評価法と比較検討してみた²⁾。当科にて体外受精-胚移植法を行った正常月経周期を有し、腹腔内に病変を認めない男性因子不妊患者28人を対象とし年齢別に4群(①31歳以下、②32～35歳、③36～39歳、④40歳以上)に分け、体外受精時の採卵数・成熟卵数、卵胞液中のステロイド測定、およびHoechst 33258の核染色による壁側顆粒膜細胞におけるアポトーシス細胞出現数について解析してみた。

その結果、各年齢別の総採卵数は、先の4784例の解析と同様の傾向を示し、年齢が高くなるにつれて有意に減少していた。アポトーシス細胞の出現率については、年齢が高くなるにつれて増加していた(壁側顆粒膜細胞1000個あたり、31歳以下：3.5±0.6、32～35歳：4.7±0.3、36～39歳：6.1±0.3、40歳以上：6.4±0.5個(平均±平均標準誤差))(図4)。しかしEstradiol, Progesterone, Free testosterone値については、有意な変化はみられなかった(図5)。

以上より、高齢者において卵胞液中のステロイドレベルの変化は認められなくても、壁側顆粒膜細胞

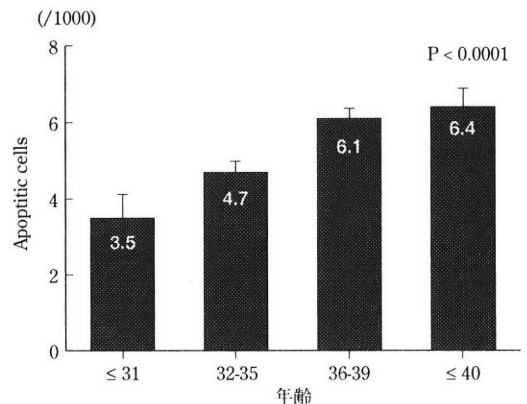


図4 年齢別アポトーシス細胞出現率

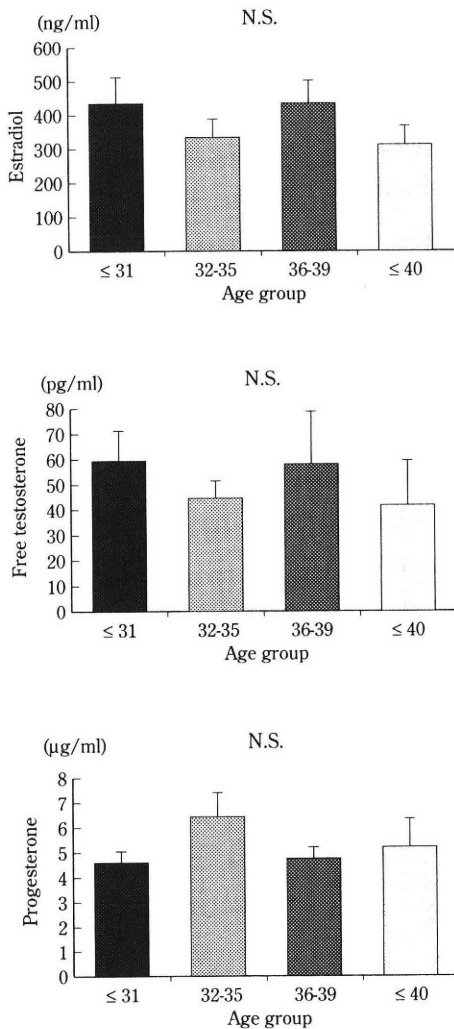


図5 細胞液中の各種ステロイドホルモン値

のアポトーシス細胞は増加していることが判明した。このことより、壁側顆粒膜細胞のアポトーシス細胞を計測する事はステロイドレベルの変化でもとらえられない卵胞内の微小環境の変化をよく反映する事が明白となった²⁾。そして、壁側顆粒膜細胞のアポトーシス細胞出現数を計測することは排卵誘発法の効果判定にも使用できることが明らかとなった。

3 受精現象に関与するカルシウムオシレーション

哺乳動物卵細胞の受精時に見られる細胞内カルシウムの周期的変動は、カルシウムオシレーションと呼ばれており、卵の活性化・表層顆粒の放出・多精子受精の阻害・細胞周期の進行・前核形成・胚発育

に影響をおよぼすと言われている。一方、哺乳動物では、排卵後受精せずに時間が経過(卵の加齢)すると、単位発生の増加、受精率の低下、染色体異常の増加、形態異常胚の増加等を引き起こす。我々は、卵の加齢に伴い、受精時のカルシウムオシレーションが変化することが、これらの異常に関与していると推測し、卵細胞内カルシウム制御機構と卵の加齢について研究を行ってきた。その結果、マウス卵は、卵管内で受精せず加齢することにより、受精時のカルシウムオシレーションが変化(振幅の低下、頻度の増加)することを明らかにした³⁾。さらに、この現象は、小胞体膜カルシウムポンプの機能低下、小胞体カルシウムストアの減少、イノシトール1, 4, 5三リン酸(IP3)誘導性カルシウム放出(IP3 induced Ca²⁺ release, IICR)の低下等の細胞内カルシウム制御機構の変化に起因することを報告した⁴⁾。

以上より、未受精卵の機能的評価として、細胞内カルシウム制御機構に着目し、卵の加齢と受精時のカルシウムオシレーションを解析した。卵の加齢は、母体の加齢(preovulatory aging)と排卵後卵管内での加齢(postovulatory aging)に分類されるが、今回は母体の加齢に着目し検討を加えた。

方法としては、30~40週齢のB6C3F1雌マウス(加齢マウス)を過排卵刺激し、hCG投与後12~13時間に卵を採取した。その後卵丘細胞、透明帯を除去した後、カルシウム蛍光指示薬、fura-PE3 acetoxymethyl esterを負荷し、細胞内カルシウム濃度を測定した。コントロールとして4~6週齢の雌マウスを用いた。媒精は同系の10~14週齢の雄マウスの精巣上体尾部より採取した精子を、前培養したものを用いた。細胞内カルシウム測定は媒精後2時間行い、得られたカルシウムオシレーションの波形を解析した。コントロールマウス、加齢マウスともに受精後速やかに細胞内カルシウム濃度は大きな増加を示し、その後周期的に細胞内カルシウム濃度の増加現象が認められた。カルシウムオシレーションの振幅は、加齢マウスにおいて低い傾向が認められた。またカルシウムオシレーション頻度は、加齢マウスにおいてコントロールと比較し有意に増加していた(図6)。加齢マウスの卵細胞の受精時に見られたカルシウムオシレーションは、これまで我々が報告した加齢卵(postovulatory aging)のものと酷似したものであった。この結果より、形態的に変化を認めない卵細胞でも細胞内カルシウム制御機構の変化といった機能的な変化をきたしていることが明らかとなった。

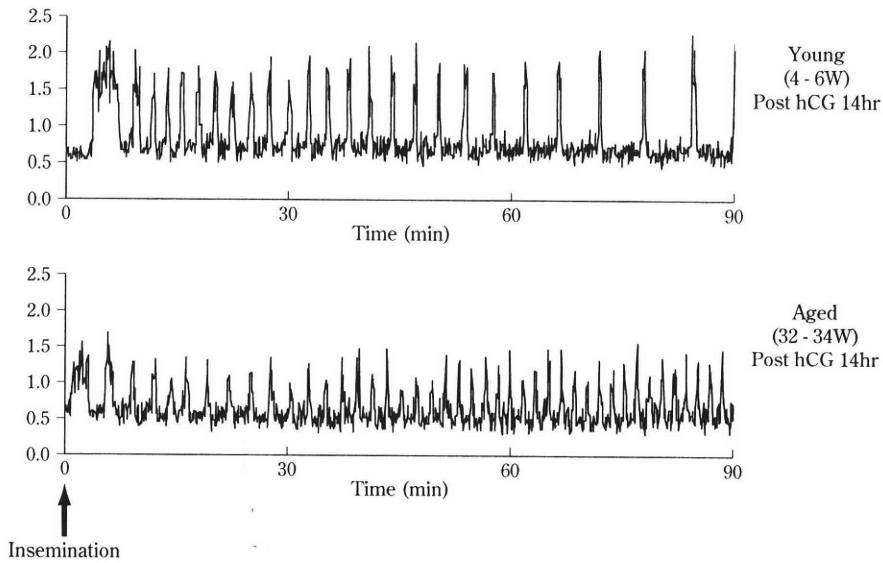


図6 Maternal aging-related changes in Ca^{2+} oscillations

4 排卵周期にかかわるアルギニンの関与

高齢になると排卵誘発刺激に対する反応性の低下から発育卵胞数が減少し、Poor responderと類似の現象が見受けられる。Poor responderに対する排卵誘発の併用薬剤にプレドニン、低容量アスピリン、ビタミン製剤やGH (Growth hormone) が試みられてきている。近年、体外受精-胚移植法においてPoor responderの患者にアルギニンの併用療法が効果を現しているという報告がBattaglia (1999) らにより報告された⁵⁾。そこで当科において臨床応用を念頭に基礎実験としてマウスにおいて検討を加えてみた。

45～48週の加齢マウスを用いて、PMSG+hCG法にて過排卵刺激するとともにアルギニンを付加して投与し、排卵数の検討をした。アルギニンの投与は、過排卵刺激においては12時間毎に10%L-アルギニン溶液を投与した。45～48週加齢マウスではアルギニンを併用しない過排卵刺激では平均1.4個/匹の排卵数であったのに対し、併用することにより平均4.9個/匹と有意な排卵数の増加が認められた。

これらアルギニンを併用して過排卵刺激された卵の質の評価をするために、カルシウム制御機構に大きくかかわると考えられているミトコンドリアに注目し、ミトコンドリアを選択的に染色するJC-1蛍光色素にて卵を染色して検討した。Carbocyanine系蛍光色素であるJC-1は、細胞内ミトコンドリアに特異的に取り込まれ⁶⁾、膜電位が低いと527nm(緑色: G)、膜電位が高いと590nm(赤色: R)に特異的な蛍光吸収を示す性質をもっている。ミトコンドリアに

よるエネルギー代謝の活発な状態は膜電位が高いことが相関する。そこで膜電位の高いミトコンドリアと低いミトコンドリアの蛍光強度による存在比(R/G)を検討した。検討した卵は、幼若マウスより過排卵刺激して採取された卵、高齢マウスより過排卵刺激して採取された卵、そして高齢マウスにアルギニンを併用して過排卵刺激して採取した卵を用いた。その結果、アルギニンを併用して過排卵刺激した高齢マウスの卵の方が、併用しないで過排卵刺激して採取された高齢マウスからの卵より膜電位の異なるミトコンドリアの存在比(R/G)が有意差は認められないが高い傾向を示し、それは幼若マウスに過排卵刺激した卵における存在比と同等の値を示していた。

おわりに

年齢が高くなると妊孕性が低くなる。これには、様々な原因が関与していると考えられるが卵巣・卵胞・卵の点からみると、卵胞発育では顆粒膜細胞におけるアポトーシス細胞の出現増加が、卵では排卵数しかも成熟卵数の減少がみとめられる他、形態的に正常な卵でもカルシウムの制御機構の破綻、およびミトコンドリアの膜電位が低下している可能性が示唆された。高齢における妊孕力の低下をすべて解決できる方法とはいかないが、アルギニンの投与は排卵数の増加に関係すると考えられ、また排卵された卵の質の向上の可能性も示唆された。今後その作用機構を詳細に解明すること、そして本邦において

も臨床的に検討してみる価値のある薬剤と考えられた。

文 献

- 1) Nakahara K, Saito H, Saito T, et al. (1997) Incidence of apoptotic bodies in membrana granulosa of the patients participating in an *in vitro* fertilization program. *Fertil Steril* 67:302-308
- 2) Sadraie SH, Saito H, Kaneko T, et al. (2000) Effects of aging on ovarian fecundity in terms of the incidence of apoptotic granulosa cells. *J Assist Reprod Gen* 17:1168-1173
- 3) Igarashi H, Takahashi E, Hiroi M, et al. (1997) Aging-related changes in calcium oscillations in fertilized mouse oocytes. *Mol Reprod Dev* 48:383-390
- 4) Takahashi T, Takahashi E, Saito H, et al. (2000) Effects of aging on inositol 1, 4, 5-triphosphate-induced Ca release in unfertilized mouse eggs. *Mol Reprod Dev* 55:299-306
- 5) Battaglia C, Salvatori M, Maxia N, et al. (1999) Adjuvant L-arginine treatment for *in-vitro* fertilization in poor responder patients. *Hum Reprod* 14:1690-1697
- 6) 久慈直昭, 高橋 純, 岩橋和裕 他 (1998) 膜電位依存性色素JC-1による卵子ミトコンドリアの機能・局在解析. 日受着床学会 15:186-188

配偶子免疫と機能性不妊

Gamete Immunity and Unexplained Infertility

繁 田 実

Minoru SHIGETA

兵庫医科大学分娩新生児部

Department of Obstetrics and Gynecology, Hyogo college of Medicine,
Nishinomiya 633-8501, Japan

はじめに

生体は自己・非自己を認識し、非自己を排除し恒常性を維持しているが、生殖現象については非自己である抗原を一定期間排除せず維持するような、免疫学的維持機構が働いていると考えられる。例えば、性交渉により精子は女性の腹腔内まで到達し免疫担当細胞であるマクロファージに貪食されるが、通常は病的な意味のある抗精子抗体は産生されず妊娠障害は起きないし、正常妊娠では非自己である胎児や胎盤は子宮内で拒絶されることなく発育する。しかし、ある特定の個体においては、抗精子抗体が検出され妊娠の成立が障害されたり、妊娠早期に拒絶反応とも思える病態を示して流産を繰り返すことがある。これらは不妊症や不育症として臨床的に認められるが、本稿では、とくに配偶子免疫と機能性不妊症について報告する。

1 抗透明帯抗体と機能性不妊

ヒトではpremature ovarian failure (POF) がrheumatoid arthritis (RA)、重症筋無力症、Addison病、自己免疫性甲状腺障害などに関連性があるとする報告など、POFの病態が自己免疫的機序により発症する可能性が示唆されている。一方、ヒトに於いても抗透明帯抗体の産生と不妊症についての報告は古くからあるが、未だにその詳細は明らかではない。しかしながら、最近ではヒト卵透明帯の構成遺伝子が分離同定され遺伝子工学的手法によりヒト卵透明帯抗原が精製できるようになったので¹⁾、これらを応用してヒトの卵透明帯抗原に対する抗体の測定がで

き、抗透明帯抗体と不妊症との関連性について結論を出すことができると期待される。

2 抗精子抗体と機能性不妊

(a) 男性における抗精子抗体

男性性器管の閉塞や外傷は抗精子抗体の産生に関係する。すなわち、精管結紮男性の少なくとも60%には血清中に抗精子抗体が出現する。精巣生検を反復すると抗精子抗体の出現率が高くなるとも言われているが、経皮的生検法を用いれば抗精子抗体の検出率が増えないとの報告もある。抗核抗体、抗甲状腺抗体、リュウマチ因子などの陽性率と抗精子抗体産生は相関することから、非特異的な自己免疫現象の関与も推定されている。現在、男性における精子免疫、すなわち、自己の精子抗原に対する自己免疫応答の調節機序として、①生理的に流出する精子抗原は少量であるため免疫寛容が成立している、②精巣には種々の免疫調節因子が存在している、③自己抗原として暴露される可能性のある精巣上体には、非特異的suppressor Tcellがある、④免疫応答遺伝子により遺伝的に調整されている、⑤精漿中には免疫抑制物質があるために免疫応答が抑制されている、などが提唱されているが、まだ詳細は明らかではない。

(b) 女性における抗精子抗体

女性にとって精子は性交によって初めて接触する非自己であるので、通常は抗精子抗体が産生されるはずである。しかし、実際はある特定の個体にだけ病的な意味のある抗精子抗体が産生され、さらにそのうちでも抗体価の高い者が不妊症を発症する。こ

表1 精子不動化抗体の検出率(血清中)

	陽性数/被検者数(%)
不妊女性	123/2976 (4.1%)
原因不明不妊女性	84/612 (13.7%)
性交後試験不良の不妊女性	13/26 (50.0%)

れは精子抗原に対して存在する何らかの防御機構が、破綻する為に、病的な意味のある抗精子抗体が産生されると考えられている。しかし、まだ、その詳細は明らかではない。抗体の測定法によりその検出率は異なるが、精子不動化抗体は不妊女性の3~5%、原因不明不妊女性の15~20%に認められる。(表1)

(c) 抗精子抗体の測定

男性では血中抗体や精漿中だけでなく、射精精子に結合した抗体も調べる必要があるが、直接射精精子に結合した抗体を検出するためには、MARテストがまた血中または精漿中の抗体の検出にはTray Agglutination Test (TAT) がスクリーニングとして有用と言われている。我々は血中抗体のスクリーニングには精子不動化試験を、精子に結合した抗体を検出するためにはMARテストを実施している。一方、女性では血中抗体のスクリーニングには精子不動化試験やTATを用い、陽性例については定量的試験によって抗体価を測定し、不妊症との相関性を確認している。

(d) 抗精子抗体による不妊症の発症機序

抗精子抗体が認められた場合には、①精子形成の障害②精子不動化や凝集による男性性器管内での精子輸送障害、③精子細胞障害④女性性器管内における精子通過障害⑤女性性器管内での抗体結合精子の捕食⑥Capacitation, Acrosome reactionなどの精子成熟過程の障害⑦受精障害⑧着床障害および流産のような種々の過程における精子機能に影響がおき、結果として不妊症が発症すると考えられる。我々は人工授精後の腹水中から精子を回収する検査の結果から、抗精子抗体陽性婦人のなかには、子宮から受精の場である卵管までの精子通過が阻害される可能性を示した²⁾。さらに、たとえ受精の場に精子が到達しても、抗体によって精子の受精現象における重要な機能であるCapacitationやAcrosome reactionが障害されることなどにより受精障害に陥ることが報告されている³⁾。動物実験では精子免疫による流産率の上昇が明らかとなっているが、ヒトでも抗体価の高い場合には体外受精後のchemical pregnancyが多い結果が得られており、抗体の胚への影響も考えら

れる⁴⁾。

(e) 抗精子抗体による不妊症の治療法

抗体保有男性に対する治療法にはコルチコステロイドによる免疫抑制治療、人工授精(IUI)、体外受精胚移植術(IVF-ET)さらに、顕微授精(ICS: Intracytoplasmic Sperm Injection)による治療の可能性が報告されている。しかし、精子結合抗体を保有する男性不妊患者について通常のコルチコステロイドによる免疫抑制治療は妊孕性の改善にはならず、有効性が考えられた長期間の大量療法では大腿骨骨頭壊死や十二指腸潰瘍などの副作用が認められることから、この治療法の適応は制限されている。抗体陽性患者の約40%にIUI治療で妊娠が成立したとの報告もあり、さらに、IVF-ETも治療法としての有効性が報告されている。しかしながら、受精に必要な精子の大部分に抗体が付着し、たとえIVF-ETであっても良好な受精率を得ることは困難な場合には、顕微授精治療が必要である。

抗精子抗体をもった不妊女性の治療法として、FranklinとDukesは血中精子凝集抗体陽性夫婦に禁欲またはコンドーム使用を命じ、精液との接触を絶ておくことと抗体価は次第に低下し妊娠に成功したと報告した。しかし、精子不動化抗体についてコンドーム療法と抗体価の推移を調べた結果では、抗体価は必ずしも低下せず自然に抗体価が大きく変動していることが明らかになった⁵⁾。従って治療法としてのコンドーム使用は必要ではなく、むしろ抗体価を定期的に測定し、抗体価の低下時期をねらってIUIなどの治療を行うべきと考えられる。血中に抗精子抗体がある場合は高率に頸管粘液中にも抗体が検出されるが、これらの不妊女性では精子の頸管粘液通過性が障害される。従ってこれを克服するために、抗体価の低下時期をねらって夫精液を子宮腔内に注入する。一部の抗精子抗体保有不妊女性では頸管での精子通過障害だけでなく子宮から受精の場である卵管膨大部への精子移行も障害され、また受精の場に精子が到達しても、結合する抗体によっては精子の受精現象における重要な機能であるCapacitationやAcrosome reactionが障害されることや、透明帯への精子結合が阻害されることなどにより受精障害に陥ることから、IUIで妊娠しない場合はIVF-ETが必要となる。

我々は血液中に精子不動化抗体を保有する不妊婦人に対して、不妊検査終了後3周期以上の経過観察の後にまずIUIを7周期以上実施し、その後にIVF-ETを試みる方針で治療し、その抗体価と治療結果を

表2 精子不動態抗体陽性不妊女性と妊娠成立時の平均抗体価 (SI50)

妊娠成立時の治療	妊娠数/症例数	平均抗体価 (SI50)
自然	3/100	2.9± 0.7
人工授精 (IUI)	12/ 86	10.8± 4.8
体外受精胚移植術 (IVF-ET)	30/ 69	66.0± 14.3

分析した。表2は精子不動態抗体陽性不妊女性と妊娠成立時の平均抗体価 (SI50) をしめしている (表2)。妊娠が成立した不妊女性の妊娠成立時の抗体価を分析すると、100例中3例に自然妊娠が成立し (妊娠率3%) その平均の抗体価は 2.9 ± 0.7 であった。IUIでの妊娠は86例中12例 (妊娠率14%) でその平均の抗体価は 10.8 ± 4.8 、IVF-ETでの妊娠は69例中30例 (妊娠率43%) でその平均の抗体価は 66.0 ± 14.3 であった。この結果より、自然妊娠するのは抗体価が低いこと、またIUIで妊娠できるのは比較的抗体価の低い者であることが明らかとなった。一方、少なくとも3回測定した抗体価 (SI50) とその変動から患者を3群に分類し、その治療結果を分析した。A群はSI50が常に10以上を示す高抗体価群、B群とはSI50が10前後で変動する中抗体価群、C群とは常にSI50が10未満である低抗体価群である。表3はこれらの3群における治療結果であるが、A群ではIUIでの妊娠は29例中全く認めず、IVF-ETにて27例中10例 (妊娠率37%)、B群では、IUIでの妊娠は39例中5例 (妊娠率13%)、IVF-ETにて31例中17例 (妊娠率55%)、C群ではIUIでの妊娠は25例中7例 (妊娠率28%)、IVF-ETにて27%であった (表3)。抗体価の低い場合はIUIなどの治療も有効であり時に自然妊娠も期待できるが、高い場合はIVF-ETが必要である事が明らかとなった⁶⁾。これらの事実から、抗精子抗体による免疫性女性不妊症については、血清中の精子不動態抗体を測定し、抗体が検出されれば、経時的に定量的抗体価を反復測定

し、その結果より、高い場合は積極的にIVF-ETの適応とし、中または低い場合は人工授精などの治療を試み無効であればIVF-ETの適応とするのが妥当と考えられる。

さいごに

生殖機能に關与する免疫のなかでとくに配偶子免疫と機能性不妊症についてまとめたが、未だにその全貌は明らかではない。とくに、抗精子抗体の対応抗原の分析や免疫応答の機構については、その一部が明らかになりかけただけで、さらなる研究が必要であり、今も重要な研究テーマである。疾病としての抗精子抗体陽性不妊症については、従来その治療は非常に困難であったが、IVF-ETやICSIを中心とする生殖補助技術の進歩により良い治療効果が期待できるようになった。しかし、抗精子抗体が検出されてもすべてIVF-ETの適応と考えるのではなく、不妊検査を系統的におこなって抗体が不妊原因であるか否かの臨床的判断を行い、ついで、その抗体価ならびに臨床的な治療効果などから必要最低限の治療で妊娠成立させるように治療方針をたてることが大切である。

文 献

- 1) Ringuette MJ, Sobieski DA, Chamow SM, et al. (1986) Oocyte-specific gene expression: molecular characterization of a cDNA coding for ZP-3, the sperm receptor of the mouse zona pellucida. Proc Natl Acad Sci USA 83:4341-4345
- 2) Shibahara H, Shigeta M, Toji H, et al. (1995) Sperm immobilizing antibodies interfere with sperm migration from the uterine cavity through the fallopian tubes. Am J Reprod Immunol 34:120-124
- 3) Shibahara H, Burkman LJ, Isojima S, et al. (1993) Effects of sperm-immobilizing antibodies on sperm-zona pellucida tight binding. Fertil Steril 60:533-539
- 4) Shibahara H, Mitsuo M, Ikeda Y, et al. (1996) Effects of sperm immobilizing antibodies on pregnancy outcome in infertile women treated with IVF-ET. Am J Reprod Immunol 36:96-100
- 5) Koyama K, Kubota K, Ikuma K, et al. (1988) Application of the quantitative sperm immobilization test for follow-up study of sperm-immobilizing antibody in the sera of sterile women. Int J Fertil 33:201-206
- 6) Kobayashi S, Bessho T, Shigeta M, et al. (1990) Correlation between quantitative antibody titers of sperm immobilizing antibodies and pregnancy rates by treatments. Fertil Steril 54:1107-1113.

表3 精子不動態抗体の抗体価 (SI50値) と不妊治療成績の關係

群	妊娠患者数/治療患者数 (%)	
	IVF-ET ^a	IUI ^b
A群 ^c	10/27 (37)	0/29 (0)
B群 ^d	17/31 (55)	5/39 (13)
C群 ^e	3/11 (27)	7/25 (28)
計	30/69 (43)	12/93 (13)

a; In vitro fertilization and embryo transfer

b; Intra uterine insemination of husband semen

c; 高抗体価群 (SI50 が常に10以上)

d; 中抗体価群 (SI50 が10前後で変動)

e; 低抗体価群 (SI50 が常に10未満)

機能性不妊症—病態とその対策— 着床率からみた機能性不妊治療の解析

Analysis of the Treatment for Unexplained Infertility from the Viewpoint of the Implantation Rate

松 浦 講 平

Kohei MATSUURA

熊本大学医学部産科婦人科学教室

Department of Obstetrics and Gynecology,

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

機能性不妊の定義と対策

実地不妊診療において機能性不妊は二段階で定義されることが多い。第1段階の機能性不妊の定義には外来のルーチン検査で不妊因子を同定できない例が相当する。この場合、腹腔鏡検査を実施してみると軽症の子宮内膜症や卵管、卵巣周囲癒着といった骨盤内不妊因子が同定されることが多い。次に腹腔鏡検査を行っても骨盤内の腹膜や臓器に異常を認めない場合や無排卵、男性因子、子宮筋腫、子宮内膜症といった不妊因子に対して有効治療を行ったにもかかわらず妊娠が成立しない場合を第2段階の機能性不妊と定義される。

それぞれの段階において検査・治療対策が講じられている(表1)。第一段階の不妊カップルに対しては腹腔鏡検査に先行して妊孕能向上対策として調節過卵刺激(controlled ovarian hyperstimulation; COH)と人工授精(AIH)を行なって妊娠成立を計ることが多いが、妊娠が成立すれば不妊因子が同定されない

ことになる。機能性不妊を不妊因子が原因不明という点からとらえた場合、第2段階の定義が機能性不妊という言葉により適切といえる。この場合には配偶子や初期胚の質的異常、卵管内環境(分泌機能)、子宮内膜、免疫機構が不妊因子として想定される。ART(assisted reproductive technology)やCOHを主体とした治療を行うのが本邦の現状であるが、欧米ではすでに配偶子donationが臨床応用されている。

機能性不妊の頻度と妊娠率

腹腔鏡検査の適応として、我々の教室ではHSG異常例、子宮内膜症を疑う例、男性不妊や卵巣因子に対する有効治療後の不妊例の他に第1段階の定義による機能性不妊例を主体として検査を施行している。腹腔鏡検査の施行時期は、卵胞発育モニターによる

表2 教室における機能性不妊の頻度
—熊本大学(1989~1998年)—

確定診断(治療)	症例数	(%)
子宮筋腫(核出術)	126	(14.9)
子宮腺筋症(縮小術)	19	(2.3)
子宮内膜症Ⅲ、Ⅳ期	107	(12.7)
卵管閉塞・周囲癒着	267	(31.6)
子宮外妊娠(温存手術)	61	(7.2)
子宮因子(奇形、癒着、ポリープ)	80	(9.5)
子宮内膜症Ⅰ、Ⅱ期	110	(13.0)
機 能 性	32	(3.8)
そ の 他	42	(5.0)
合 計	844	(100.0)

表1 機能性不妊の2段階定義とその対策/治療

不妊原因	対策/治療
外来ルーチン検査で、 不妊因子が認められない	子宮内膜症 卵管・卵巣周囲癒着
腹腔鏡検査で異常を認め ない/他の不妊因子*に 対する有効治療後の不妊	COH**(+AIH) COH + AIH IVF/ICSI

* ; 卵巣、男性因子、子宮筋腫、子宮内膜症、卵管内環境

** ; COH; controlled ovarian hyperstimulation

性交タイミングの指導や黄体補充など外来待機療法を行った上で妊娠しないことを確認した後に行うことが多いが、長期間不妊例や高齢不妊例では初診後早期に行う。また、子宮内膜症、子宮筋腫、子宮腺筋症では、開腹あるいは腹腔鏡下による妊孕能向上手術を積極的に施行している。

以上の適応で腹腔鏡検査や開腹手術を行い、臨床診断が確定された最近10年間の教室の成績から第2の定義による機能性不妊の頻度を表2に示した(表2)。複数の不妊因子を合併する症例も多くみられるが、ここでは開腹術の適応疾患とARTを含めた不妊治療効率の悪いものをより重要な不妊因子と考え、子宮筋腫核出術施行例、子宮腺筋症縮小術施行例、子宮内膜症Ⅲ/Ⅳ期、卵管の閉塞や周囲癒着の順で優先順位をつけて、1症例1不妊因子として表している。子宮筋腫、子宮内膜症Ⅲ・Ⅳ期、卵管の閉塞・周囲癒着の三者の合計が、500例/844例(59.2%)と過半数以上を占めているが、骨盤内所見から不妊原因を特定できない例は、32例/844例(3.8%)と極めて低

い頻度であった。この数値は、前述したように腹腔鏡検査や開腹手術に移行する前に行う外来での待機療法による妊娠例を反映しているものと考えられる。844例のうち270例(32%)が確定診断後の治療で妊娠しているが、機能性不妊の妊娠率は31.3%(10例/32例)と、他の不妊因子のそれと比較して有意差はみられなかった(表3)。機能性不妊10例の妊娠例成立周期をの内訳は、自然周期が2例、クロミッド周期が4例、COH周期が3例、ART周期が1例であった(表4)。

着床率からみた機能性不妊治療の解析

子宮内膜着床能の評価として、ここでは複数卵胞の排卵あるいは複数の受精卵移植を行った後の着床胚数から着床率を求めた。

機能性不妊の定義を先述したように2段階で設定し、ひとつはhMGを用いたOCH周期で妊娠した症例を対象として、直径15mm以上の発育卵胞数と着床胚数の比から求めた。もうひとつは骨盤内観察から不妊因子を同定されない患者のうちART周期に妊娠した例では、着床率を周期の移植胚数の比から求めた。

1) COH周期の着床率

骨盤内観察を行わずに妊娠が成立した612例の外来診断と妊娠成立周期の内訳を表5に示した(表5)。不妊因子の重複例では、不妊因子としての重さから卵巣、子宮、卵管、男性、頸管因子の優先順位に従って1症例1因子とした。外来検査で不妊因子を認めない症例における妊娠は204例で全体の33.3%を占めていた。妊娠成立周期の内訳は、自然周期が148例(72.5%)と最も多く、このことは外来検査で不妊因子が同定できなくても、適切な管理・治療方針の重要を示した結果と考えられた。ついでクロミッド

表3 教室における機能性不妊の妊娠率
—熊本大学(1989～1998年)—

確定診断(治療)	総数	妊娠例	妊娠率(%)
子宮筋腫(核出術)	126	44 (1)	34.9
子宮腺筋症(縮小術)	19	8 (1)	42.1
子宮内膜症Ⅲ、Ⅳ期	107	33	30.8
卵管閉塞・周囲癒着	267	83 (12)	31.1
子宮外妊娠(温存手術)	61	32 (4)	52.5
子宮因子 (奇形、癒着、ポリープ)	80	22	27.5
子宮内膜症Ⅰ、Ⅱ期	110	34 (4)	30.9
機 能 性	32	10	31.3
そ の 他	42	4	9.5
合 計	844	270 (22)	32.0

() : 子宮外妊娠

表4 機能性不妊の妊娠周期

—熊本大学(1989～1998年)—

確定診断	自然周期	クロミッド	COH	IVF/ICSI	凍結胚移植
子宮筋腫	19	12	2	11	—
子宮腺筋症	6	1	—	1	—
子宮内膜症Ⅲ、Ⅳ期	11	8	1	10	3
卵管閉塞・周囲癒着	38	15	4	23	3
子宮外妊娠	12	9	2	7	2
子宮因子	8	8	4	2	—
子宮内膜症Ⅰ、Ⅱ期	9	11	4	10	—
機 能 性	2	4	3	1	—
そ の 他	3	—	1	—	—
合 計	108	68	21 (1, 0)	65 (5, 1)	8 (1, 0)

(双胎、胎胎)

表5 骨盤腔内の観察を行っていない妊娠例の不妊因子と治療(612例) Chemical pregnancyは除く

不妊因子	自然周期	クロミッド	COH	IVF/ICSI
卵 巢(194)	52	85	53	4
子 宮 (28) *	20	5	2	1
卵 管 (38)	10	7	4	17
男 性 (70)	29	20	9	12
頸 管 (6)	2	3	—	1
機能性(204)	148	36	10	10
不 育 (72)	55	14	3	—
計 (612)	316	170	81	45

* : 主に子宮筋腫, 子宮腺筋症, 子宮奇形

表6 COHの着床率

不妊因子	着床率 (%)	着床胚数/ 発育卵胞数	子宮内膜 (mm)
卵巣因子	25.8	60/233	11.4
男性因子	35.5	11/ 31	10.9
機 能 性	24.1	13/ 54	9.9

COH; controlled ovarian hyperstimulation

周期が36例, ついでCOH周期とART周期が各々10例であった。このCOH周期に妊娠した10例を対象に, hMGからhCGに切り替えた時点において径15mm以上の発育卵胞数と着床胚数との比から着床率を求め, 機能性不妊の着床率を他不妊因子群と比較検討した。卵巣因子53例と男性因子9例をコントロール群とし, 子宮外妊娠例は検討対象から除外した。

まず, 各不妊因子別にすべての患者における発育卵胞数の合計と着床胚の合計から求めた着床率を表6に示した(表6)。卵巣因子では, 53例で233個の発育卵胞が得られ, 双胎5例, 三胎1例を含む60個の着床胚が得られ, 着床率は25.8%であった。男性因子で双胎が1例みられ, 着床率は35.5%と若干高い値を示した。機能性不妊では, 13例で54個の発育卵胞が得られたが, すべて単胎妊娠で着床率は24.1%(13/

表7 移植胚数と着床率(着床胚数/移植胚数) —ART—

移植個数	症例数	妊娠数	妊娠率	着床率*	双胎	三胎
1	110	6	5.5	5.5	0	0
2	111	12	10.8	5.4	0	0
3	334	54	16.2	5.8	4	0
4	114	20	17.5	5.3	2	1
5	9	2	22.2	6.7	1	0
6	1	0	0	0	0	0
7	1	0	0	0	0	0
計	680	94	13.8	5.6	7	1

54)で, この3群間に有意差はなかった。子宮内膜の厚さにも3群間で差はみられなかった。発育卵胞数別に着床率は三群とも発育卵胞の増加に従って着床率は同様の減少傾向を示しており, 三群間の比較では統計学的に有意差はみられなかった(図1)。着床能には障害がないものとして男性不妊因子と卵巣因子の不妊症例をコントロールとして機能性不妊患者の着床率を比較検討したが, 以上の結果は機能性不妊患者の着床率は過排卵刺激という条件では, 他の不妊因子と差はないものと解釈された。

2) ART周期の着床率

骨盤内観察でも不妊因子を同定されない機能性不妊患者のうち, ART周期に妊娠した患者の移植胚数と着床胚数から着床率を求めた。ここでは卵管因子, 男性因子, 子宮内膜症の3群をコントロールとした。当教室における移植胚数別の妊娠数, 妊娠率, 着床率, 双胎/三胎数を表7に示した(表7)。4個以上の移植胚数は平成3年5月までの症例で, 現在の最大移植胚数は3個としている。1個から4個まで移植胚数が増加すると妊娠率は若干上昇するものの着床率に差はみられなかった。ARTの成功には多くの因子が関与することが知られており, ここでは妊娠例に限って移植胚数毎の着床率を因子別に求めて検討した。各群とも移植胚数の増加と共に着床率は同じ傾向で低下した(図2)。機能性不妊では, 移植胚数2個

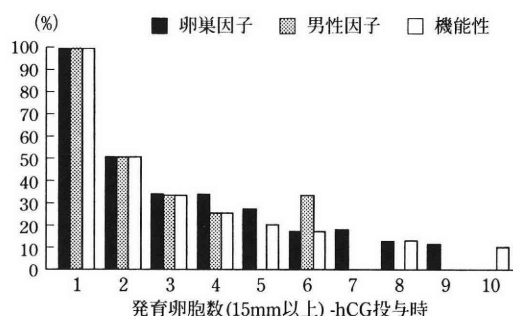


図1 COHによる妊娠例の着床率(着床数/発育卵胞数)

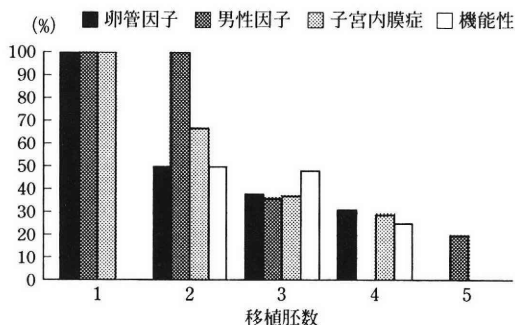


図2 ART周期妊娠例の着床率(着床胚数/移植胚数)

と3個ではほとんど差がなく、いずれも50%前後の着床率を示し、卵管因子と比べても差はみられなかった。この結果から、機能性不妊における着床障害はないとする考え方もできるが、我々は子宮腔内に複数の受精卵が存在して初めて、着床に必要な内膜機構が働き妊娠に結びついたものと解釈した。さらに、hMGを用いたCOH周期が、外来治療における機能性不妊患者においても有効なことから、この解釈は妥当と考えられる。

機能性不妊と着床能

実地不妊臨床では骨盤内観察を行っても不妊原因を特定できない例他にも、子宮内膜症や子宮筋腫に対する保存手術後の不妊例では、現在の臨床検査でも不妊因子の同定は困難なことが多く、治療方針に窮することがある(表1)。子宮内膜着床能を評価する臨床検査がないことが、しばしば不妊診療におけるブラックボックスの一つとしての挙げられる。

当初、IVF-ETは自然卵巣周期に排卵性LHサージの出現をみて採卵時間を決定するプロトコールであったが、多くは単一卵胞発育のため採卵率、受精率とともに妊娠率は極めて低かった。その後、複数卵胞発育を目的としたhMG過排卵刺激から下垂体へのdown regulation効果を利用してGnRH agonistを併用したCOHへの変遷と同時に、採卵法も侵襲的な腹腔鏡下卵胞穿刺から経腔法が登場して、簡便性と妊娠率の向上から一般不妊治療として急速に普及してきた。さらに、良好な卵と受精卵の獲得に向けた妊娠率向上への努力が行われているものの、妊娠率すなわち着床率の点からはいずれも期待に反しているのが現状である。複数の良好胚を移植するIVF-ETを数周期行っても妊娠に至らない例は着床障害例の典型とみなすことができる。着床機能の解明とその障害に対する対策は、不妊診療全体の成功率向上に大いに貢献するといっても過言ではない。

子宮内膜が着床能の獲得に向けて増殖分化していく過程についての生殖医学におけるこれまでの研究アプローチは、ステロイドやペプチドの役割を中心としたものであった。1950年にNoyes et al.¹⁾によって報告された子宮内膜の形態分類(日付診)は、黄体から産生されるステロイドホルモンの子宮内膜への蓄積効果を総合的に判断する生物学的測定法とみなされるものであり、現在でも黄体機能とともに子宮内膜の組織分化を評価する標準的な手段として用いられている。最近、子宮内膜の分化過程において接着因子や成長因子、サイトカインが重要な役割

を果たしていることが明らかになりつつあり、これらの知識が臨床へ応用されることが期待される。

軽症子宮内膜症患者の不妊原因の一つとして、以前より着床障害が考察されてきた。黄体機能不全患者の正所性子宮内膜では接着因子の一つであるインテグリン $\alpha v \beta 3$ の発現は低下しているが、子宮内膜症患者でも低下していることをLessey et al.が報告している²⁾。その後、彼らは機能性不妊患者においても同様のインテグリン $\alpha v \beta 3$ 発現低下がみられること³⁾と、子宮内膜症患者でGnRHアナログの投与や子宮内膜症病変のレーザー蒸散を行うとインテグリン $\alpha v \beta 3$ の発現が回復する⁴⁾ことを報告した。彼らは、正所性子宮内膜における接着因子の発現異常が着床障害の主たる原因として不妊に関与していると考察している。IVF-ETの子宮内膜症患者における妊娠率が他の適応患者と比べて差がないことから、着床障害を子宮内膜症患者の不妊原因とみることの妥当性を否定する考えもあるが、IVF-ETでは移植される複数胚の存在そのものが正所性子宮内膜機能を修飾している可能性も考えられ、結論は得られていない。また、ARTやCOHなどの過排卵刺激時では、必然的に生じる高エストロゲン環境が着床能に悪影響を与える⁵⁾可能性は、凍結受精卵の融解後移植周期や卵donation周期の高い妊娠率から推察されている。

機能性不妊の治療方針

不妊外来におけるルーチン検査で明らかな不妊因子を認めない場合、腹腔鏡検査を行って子宮内膜症や付属器周囲癒着が初めて診断される例は多い。しかし、軽微な卵巣・卵管の機能異常、あるいは配偶子や子宮内膜に潜在する質的な異常を克服する手段としてCOHやAIHなどの積極的待機療法によって妊娠が成立する症例は実地治療では多く経験される。年齢や不妊期間を考慮したうえで、腹腔鏡検査前には以上のような積極的待機療法を行っておく必要がある。このような方針で不妊治療を行った場合には狭義の機能性不妊の頻度が、かなり低くなることを教室の成績から示した。もちろん、外来治療で妊娠しない例では腹腔鏡検査/手術が必要であろうが、無排卵、子宮筋腫、子宮内膜症等に対する有効治療を行っても妊娠が成立しない症例に対しても、上記の機能異常や質的異常が潜在していることを考慮した治療法が必要になってくる。現在、着床のチャンス、言い換えれば着床効率を上げるために種々の対策が行われているが、今回示したCOHやARTの他にも、補助孵化やICSI、水腫卵管の摘除、ART時の低

用量アスピリンの併用、あるいは胚盤胞と子宮内膜との相互応答を刺激する方法など今後も検討が行われていくものと期待される⁶⁾。

文 献

- 1) Noyes RW, Hertig AI and Rock J (1950) Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril* 1:3-25
- 2) Lessey BA, Castlebaum AJ, Sawin SJ, et al. (1994) Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 79:643-649
- 3) Lessey BA, Castlebaum AJ, Sawin SJ, et al. (1995) Integrins as markers of uterine receptivity in women with primary unexplained infertility. *Fertil Steril* 63: 535-542
- 4) Lessey BA, Castlebaum AJ and Sawin SJ (1996) Improvements in pregnancy rates with GnRH agonist in women with infertility, minimal or mild endometriosis, and aberrant $\alpha v \beta 3$ expression. *Am Soc Reprod Med* S82
- 5) Valbuena D, Jasper M, Remohi J, et al. (1999) Ovarian stimulation and endometrial receptivity. *Hum Reprod* 14s:107-111
- 6) Check JH, Dietterich C, Lurie D, et al. (1998) A matched study to determine whether low-dose aspirin without heparin improves pregnancy rates following frozen embryo transfer and/or affects endometrial sonographic parameters. *J Assist Reprod Gen* 15:579-582

男性不妊症における精索静脈瘤手術の意義

Clinical Significance of Varicocelelectomy for Male Infertility

奥 野 博	中 村 英二郎	大 西 裕 之
Hiroshi OKUNO	Ejiro NAKAMURA	Hiroyuki ONISHI
七 里 泰 正	笥 善 行	小 川 修
Yasumasa SHICHIRI	Yoshiyuki KAKEHI	Osamu OGAWA

京都大学大学院医学研究科器官外科学講座泌尿器病態学
Department of Urology, Graduate School of Medicine,
Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan

男性不妊症に対する治療は、補助生殖技術(ART)とくに顕微授精(ICSI)の臨床応用により革命的な変化がもたらされ、従来の精索静脈瘤手術の意義も変化してきた。そこで当院で精索静脈瘤手術を施行した患者148例の術後成績とARTの関与につき追跡調査し、ART時代における精索静脈瘤手術の意義を検討した。

精索静脈瘤手術後の自然妊娠率は38例(25.7%)であった。さらに自然妊娠に至らなかった患者のうち57例(51.8%)がARTの医療連携を受け、うち29例(50.9%)に妊娠の成立を認めた。結果として全体として44.6%が妊娠し、37.1%が育児を得られたことになり、ARTの進歩により妊娠・出産率は飛躍的に向上した。ARTの医療連携に関しては、精索静脈瘤の程度がsubclinicalおよびgrade 1の症例はgrade 2, 3の症例に比べ有意に妊娠率が低値であり、また血清FSH値が21.1IU/l以上、精子運動率6%以下の症例では自然妊娠を認めず、これらはARTの連携の適応と考えられた。しかしARTに関しては種々の問題点もあり、また本来は夫婦の愛情に包まれた性行為に基づいて生じる自然妊娠がだれしも望むところであり、精索静脈瘤手術は現時点でも行うべき治療法の一つと考えられた。また女性の年齢が35歳を過ぎるとARTにおける妊孕性が低下するといわれ、パートナーの年齢は治療選択において重要なポイントと考えられた。

キーワード：精索静脈瘤，ART，自然妊娠

(日不妊会誌 45:333-337 2000)

緒 言

男性不妊症に対する治療は、補助生殖技術(Assisted Reproductive Technology: ART)とくに顕微授精(Intracytoplasmic Sperm Injection: ICSI)の臨床応用により革命的な変化がもたらされた。これによって従来治療困難であった高度乏精子症や無精子症患者でも妊娠の成立が可能となり、ICSIさえ行えば男性不妊の治療は必要ないのではないか、という議論さえされる時代となった。しかしながら、ARTに関し

ては多胎、流産、卵胞過剰刺激症候群(Ovarian Hyperstimulation Syndrome: OHSS)等のパートナーに対する肉体的負担やARTにかかわる高額な費用負担、さらには患者・家族の精神的不安等、種々の問題点もあるのは事実である。さらに自然妊娠が可能な夫婦に行き過ぎた治療がなされていないか、適切な治療選択が探られているか、などの疑問も生じている。ここではこのようなART時代における精索静脈瘤手術の意義、さらにはARTとの連携をどう勧めるべきかを検討する目的で、当院で精索静脈瘤手術

を施行した患者の術後の自然妊娠・出産率ならびに自然妊娠に至らない患者に対するARTの関与・治療成績を追跡調査したので報告する。

対象および方法

当院ならびに関連病院でART(主にICSI)が導入された1993年以降の精索静脈瘤手術患者、148例を対象とした。精索静脈瘤手術の適応は原則として、不妊期間が2年以上、約5日間の禁欲期間のうえ2回以上の精液検査結果の平均が精子数 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の乏精子症あるいは運動率50%未満の無力精子症を手術適応とした。対象症例の手術時年齢は24~45歳(平均34.7歳)、静脈瘤の内訳は両側のclinical varicoceleが9例、片側(左側)のclinical varicoceleが123例、subclinical varicocele (bil.: 6pts, lt.: 10pts)が16例であった。今回我々はsubclinical varicoceleの定義を、視診・触診では蔓状静脈叢(pampiniform plexus)の怒張を確認できないが超音波カラードプラ法を用いると内精索静脈に血液の逆流を認め腹圧負荷により最大10cm/sec以上の逆流を認めるものをsubclinical varicoceleとした。術式は内精索静脈低位結紮術を全例に、1995.12以降は顕微鏡下に内精索静脈低位結紮術を58例に施行した。手術側は両側37例、片側111例であった。なお両側手術例のうち28例はrt. subclinical varicoceleを認め、これに対しても治療した症例である。術後は少なくとも1年間は自然妊娠を期待し、その後も自然妊娠に至らない患者およびパートナーに対してはARTの医療連携を勧めた。術後観察期間は6~78.2カ月で平均31.1カ月であった。精液所見の統計には、術前は術前2回の平均値を、術後は術後3, 6, 9, 12カ月の平均値を用いた。

結 果

術後の精液所見は148例全体では精子数31.8から $49.9 \times 10^6/\text{ml}$ 、精子運動率26.8から32.2%へとともに有

意な改善を認めた(表1)。全例において左側にsub-clinicalを含め精索静脈瘤を認めたため、左精索静脈瘤の程度で全体を分類した(表1)。精液所見の改善はgrade 2の症例で精子数20.5から $42.4 \times 10^6/\text{ml}$ へ、grade 3の症例で精子数31.7から $48.3 \times 10^6/\text{ml}$ 、精子運動率28.0から36.8%へそれぞれ有意な改善を認め、静脈瘤の程度の強い症例ほど精液所見の改善がよい傾向を認めた。静脈瘤の程度の軽いgrade 1の症例やsubclinicalの症例では平均値はともに術後増加したが、統計学的には有意な改善は認めなかった。sub-clinical varicoceleの手術適応についてはその診断手法、診断基準が一定していないこと、その適応には否定的な見解も多く、意見の一致を見ていないのが現状であり、今回はinformed consentを行ったうえで手術を希望された患者のみに手術を施行した。症例数も少なく、また対象症例に無力精子症患者が多かったため、術前精子数の平均値は高い値を示していた。

148例の追跡調査では自然妊娠を38例(25.7%)に認

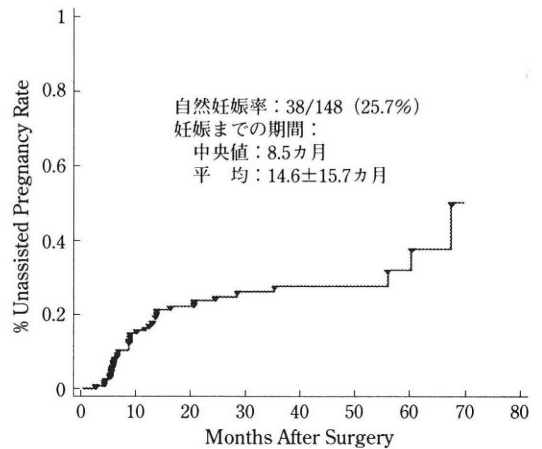


図1 手術後の自然妊娠

表1 手術前後の精液所見の変化

Variables	No. Pts.	Preop. Values			Postop. Values	
			sperm count ($\times 10^6/\text{ml}$)	sperm motility (%)	sperm count ($\times 10^6/\text{ml}$)	sperm motility (%)
Total	148	mean	31.8	26.8	49.9*	32.2**
		±SD	±35.0	±17.7	±47.7	±18.3
Lt. varicocele grade						
subclinical	16	mean	66.8	23.2	84.9	29.8
G1	28	mean	39.5	27.1	47.2	26
G2	68	mean	20.5	27.0	42.4 [#]	32.7
G3	34	mean	31.7	28.0	48.3 [¶]	36.8 ^{¶¶}

*p < 0.001 **p = 0.021 [#]p = 0.0016 [¶]p = 0.0027 ^{¶¶}p = 0.025

表2 手術後の妊娠率と出産率

No. Pts.	Unassisted pregnancy (%)	Assisted pregnancy (%)	Total pregnancy (%)	Unassisted live birth (%)	Assisted live birth (%)	Total live birth (%)
148	38*/148 (25.7%)	29**/57 (50.9%)	67/148 (45.3%)	32*/148 (21.6%)	23**/57 (40.4%)	55/148 (37.1%)

* include 2 pts. with abortion

** consist of 11 pts. with AIH, 17 pts. with ICSI (included 3 pts. with abortion) and 1 pt. with TESE-ICSI

* include 5 pts. with 2nd live birth

** include 3 pts. with twin

表3 各種パラメーターにおける自然妊娠群と非自然妊娠群との比較

Variables	Unassisted pregnancy	
	(+) mean±SD	(-) mean±SD
FSH	9.6 ± 4.0	10.1 ± 6.9
Testosterone	5.1 ± 1.4	4.7 ± 1.5
Testis Volume		
Rt.	16.0 ± 5.1	16.3 ± 4.8
Lt.	15.1 ± 5.3	15.6 ± 4.3
Sperm count	26.5 ± 25.6	33.7 ± 37.7
Sperm motility	29.6 ± 16.0	25.9 ± 18.3
Partner Age	30.0 ± 3.6	31.1 ± 3.6

めた。手術から妊娠に至る期間の中央値は8.5カ月(1年以内の妊娠：59%，2年以内の妊娠：82%)で平均値は14.6カ月であった。50カ月以上経過後自然妊娠された3症例は手術が寄与したものとは考えにくく、これらを除外すると概ね術後平均10カ月で自然妊娠に至るものと考えられた(図1)。

自然妊娠に至らなかった110例のうちARTの医療連携を57例(51.8%)が希望された。うち29例(50.9%)が妊娠の成立を認めた。ARTの内訳はAIHが11例、ICSIが17例、死滅精子症のため施行したTESE-ICSIが1例であった。自然妊娠とAIHによる妊娠を合わせると148例中49例(33.1%)に妊娠の成立を認めた。調査可能な範囲では流産は、自然妊娠38例中2例(5.3%)に、ICSIで妊娠成立した17例中3例(17.6%)に認められた。自然妊娠から出産(live birth)に至った症例は32例(21.6%)であった。うち少なくとも5例(15.6%)では第2子以上の産児を得ている。ARTを用いた妊娠から出産に至った症例は23例(40.4%)であった。うち少なくとも3例(13.1%)は双児であった。全体としては、66例(44.6%)が妊娠し、55例(37.1%)が産児を得られた。なお妊娠継続中は7例であった(表2)。自然妊娠に影響する因子として、術前の各種パラメーター(血清FSH値、血清testosterone値、精巣容積、精子数、精子運動率、パートナーの年齢)を自然妊娠群、非自然妊娠群で分け、比較検討したが、どのパラメーターも統計学的には有意な差を認めなかった(表3)。

表4 各種パラメーターにおける手術後の自然妊娠とARTによる妊娠の比較

Variables	No. Pts.	Unassisted pregnancy (%)	Assisted pregnancy (%)	Total pregnancy (%)
Lt. varicocele grade				
Subclinical + G1	44	5/44 (11.4%)*	12**/24 (50.0%)	17/44 (38.6%)
G2 + G3	104	33/104 (31.7%)*	17***/33 (51.5%)	50/104 (48.1%)
FSH level				
21.1 ~ 41.0	8	0/8 (0%)	2*/5 (40.0%)	2/8 (25.0%)
Sperm motility (%)				
0 ~ 6	19	0/19 (0%)	3**/9 (33.3%)	3/19 (15.8%)
Partner Age				
23 ~ 29	51	17/51 (33.3%)	11 [¶] /17 (64.7%)	28/51 (54.9%)
30 ~ 34	69	14/69 (20.3%)	13 ^{¶¶} /36 (36.1%)	27/69 (39.1%)
35 ~ 42	21	5/21 (23.8%)	3 ^{¶¶¶} /10 (30.0%)	8/21 (38.1%)

*p=0.013 **consist of 5 pts. with AIH and 7 pts. with ICSI

***consist of 6 pts. with AIH, 10 pts. with ICSI and 1 pt. with TESE-ICSI

¶consist of 1 pt. with AIH and 1 pt. with ICSI **consist of 3 pts. with ICSI

[¶]consist of 3 pts. with AIH and 8 pts. with ICSI

^{¶¶}consist of 6 pts. with AIH and 7 pts. with ICSI

^{¶¶¶}consist of 1 pt. with AIH and 2 pts. with ICSI

そこで各パラメーターをそれぞれ個別に比較検討したところ、精索静脈瘤の程度では subclinical および grade 1 の症例は grade 2, 3 の症例に比べ有意に妊娠率が低値であり (Fisher's exact probability test: $p=0.013$)、また血清FSH値が 21.1 IU/l 以上、精子運動率 6% 以下の症例では自然妊娠を認めなかった。これらパラメーターは自然妊娠において risk factor と考えられた。パートナーの年齢を 20 歳代、30 歳から 34 歳、35 歳以上の 3 群にわけ、自然妊娠率を比較したが、比較的 20 歳代は高値であったが有意な差は認めなかった。ART との連携では、subclinical と grade 1 の症例、血清 FSH 高値の症例、および精子運動率低値の症例はそれぞれ 12 例 (50.0%)、2 例 (40.0%)、3 例 (33.3%) に妊娠の成立を認めた。ART による妊娠率はパートナーの年齢では 20 歳代では 11 例 (64.7%) と高率に比べ、年齢が増すとともに 30~34 歳 36.1%、35 歳以上 30.0% と低値になる傾向を認めた (表 4)。

考 察

精索静脈瘤は一般の健康な青年男子の約 10% に認められるのに対し、男子不妊症患者では約 20~40% と高率に認められ、不妊症の重要な原因の一つとして考えられている^{1,2)}。またその治療によって約 60~70% の患者で精液所見の改善を、約 20~40% の患者でパートナーの妊娠が得られると言われており^{2,3)}、精索静脈瘤の正確な診断と適切な治療は不妊治療において重要とされている。今回の我々の調査では精索静脈瘤手術後の自然妊娠率は 25.7% で、AIH による妊娠を合わせると 33.1% であった。さらに自然妊娠に至らなかった患者のうち約半数の患者・パートナーが ART との医療連携を受け、そのうち約半数に妊娠の成立を認めた。結果として全体として 44.6% が妊娠し、37.1% が挙児を得られたことになり、ART の進歩とくに ICSI の導入により妊娠・出産率は飛躍的に向上した。しかし ICSI に関しては多胎、流産、OHSS 等のパートナーに対する肉体的負担や ART にかかわる高額な費用負担、さらには患者・家族の精神的不安等、種々の問題点もあるのは事実であり、我々の調査でも流産は、自然妊娠 38 例中 2 例 (5.3%) に対し、ICSI では 17 例中 3 例 (17.6%) で、また双児の出生も 3 例 (13.1%) と高率に認めた。本来は夫婦の愛情に包まれた性行為に基づいて生じる自然妊娠がだれしも望むところであり、静脈瘤手術により第 2 子以上の挙児が期待できることも考慮すると、精索静脈瘤手術は現時点でも行うべき治療法の一つと考えられる。

今回 ART の連携をどう勧めるべきかを検討する目的で、手術前の各種パラメーターから自然妊娠に影響する因子がないかどうかを検討した。その結果術前の各種パラメーター (血清 FSH 値、血清 testosterone 値、精巣容積、精子数、精子運動率、パートナーの年齢) を自然妊娠群、非自然妊娠群で分けた検討ではどのパラメーターも統計学的には有意なものとは認めなかったが、各パラメーターをそれぞれ個別に検討したところ精索静脈瘤の程度の弱い症例 (subclinical および grade 1 症例)、血清 FSH 値が高い症例 (21 IU/l 以上)、精子運動率が不良 (6% 以下) の症例は自然妊娠において risk factor と考えられ、これらの症例は ART の連携を行うよい適応と考えられた。事実、我々の症例では ART の連携によりそれぞれ 12 例 (50.0%)、2 例 (40.0%)、3 例 (33.3%) に妊娠の成立を認めた。またとくに今回の調査でもそうであったように女性の年齢が 35 歳を過ぎると ART における妊娠性が低下するといわれている⁴⁾。従って患者のパートナーの年齢は、とくに 33, 34 歳以上の場合、静脈瘤手術後の自然妊娠までの期間が平均約 10 カ月と比較的長いため、手術を先に行うか、ART の連携を先に行うかを考慮するうえで非常に重要なポイントになってくると考えられる。

精索静脈瘤に対する治療は従来後腹膜到達法による内精索静脈高位結紮術が広く行われてきたが、近年、より侵襲の少ない治療法として、顕微鏡下低位結紮術、経皮的塞栓術、腹腔鏡下手術が開発され、その選択は多岐にわたる。どの治療方法を選ぶかは各施設、各医により異なると思うが、患者背景から早期の社会復帰が可能で再発率の少ない手術術式の選択が理想と考えられる。今回当科で施行した内精索静脈低位結紮術、とくに顕微鏡下手術は統計学的には従来の手術法と比べ妊娠率に差が認めなかったが (未発表データ)、局所麻酔で手術が可能で早期の社会復帰ができ、また動脈周囲の細静脈も確実に結紮できることから再発率も少ないことが予想され⁵⁾、今後精索静脈瘤手術の主流になってくると考えられる。

文 献

- 1) World Health Organization (1992) The influence of varicocele on parameters of fertility in a large group of men presenting to infertility clinics. Fertil Steril 57:1289-1993
- 2) Pryor JL and Howards SS (1987) Varicocele. Urol Clin North Am 14:499-513

- 3) Madger I, Karasik A, Weissenberg R et al. (1995) Controlled trial of high spermatic vein ligation for varicocele in infertile men. *Fertil Steril* 63:120-124
- 4) Schieve L, Peterson H, Meikle S, et al. (1999) Live-birth rates and multiple-birth risk using *in vitro* fertiization. *JAMA* 282:1832-1838
- 5) Goldstein M, Gilbert BR, Dicker AP, et al. (1992) Microsurgical inguinal varicocelectomy with delivery of the testis: An artery and lymphatic sparing technique. *J Urol* 148:1808-1811

Clinical Significance of Varicocelectomy for Male Infertility

Hiroshi Okuno, Eijiro Nakamura, Hiroyuki Onishi,
Yasumasa Shichiri, Yoshiyuki Kakehi and Osamu Ogawa

Department of Urology, Graduate School of Medicine,
Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan

In the era of assisted reproductive technology (ART), intracytoplasmic sperm injection (ICSI) has provided new frontiers for the treatment of male infertility.

Since 1993, natural conception (unassisted pregnancy) was achieved in 38 (25.7%) out of 148 patients after varicocele repairs at our department. Moreover 57 (51.8%) of couples without unassisted pregnancy were received ART, then 29 (50.9%) partners were became pregnant. Consequently, corrected varicocele with or without ART resulted in a 44.6% pregnancy rate and a 37.1% live birth rate.

In our study, the patients with lower grade of varicocele have significantly lower unassisted pregnancy rate than the others after varicocele repairs ($p=0.013$). The patients with higher level of serum FSH (>21 IU/l), or lower sperm motility ($<6\%$) had no unassisted pregnancy. These patients were considered good candidates for cooperation with ART.

Despite the tremendous success of ART, most couples would prefer to conceive offspring naturally. Therefore, infertile couples need to be given realistic options regarding treatment outcomes and risks. The fertility potential and age of the female partner need to be considered when addressing varicocelectomy for male treatment.

Key words: varicocele, ART, unassisted pregnancy

(Jpn J Fertil Steril 45:333-337 2000)

MESA, PESA, TESE の実際と医療連携

MESA, PESA and TESE in the Co-working of Medical Care

近 藤 宣 幸

Nobuyuki KONDOH

島 博 基

Hiroki SHIMA

兵庫医科大学泌尿器科

Department of Urology, Hyogo College of Medicine,

Nishinomiya 663-8501, Japan

はじめに

補助生殖医療(ART)技術の発展により重症男性不妊症の治療範囲が拡大されており、非閉塞性無精子症の精巣内精子の凍結保存精子を用いたICSIによる妊娠例¹⁾もまれではなくなった。しかしながら治療に利用できる精子数は当然以前より少なく貴重なものとなっており、その意味で治療の実際においてますます泌尿器科と婦人科をはじめとする医療連携の重要性が増しているといえよう。

さて著者らは、1992年より顕微鏡の精巣上体精子吸引術(MESA)を開始し、1995年より精巣内精子採取術(TESE)、さらに最近では経皮的精巣上体精子吸引術(PESA)も積極的にとり入れた採精を行ってきた。今回それぞれの採精法の実際について概説し、著者らが行ってきた医療連携について報告する。

1 精巣上体精子の採取(MESA, PESA等)

我々は当初MESA²⁾を施行していたが、ある症例において顕微鏡を使用せずに有意な精子を採取し得たため、以降は原則的には顕微鏡を用いず肉眼直視下での採取を続けてきた(MaESA; 肉眼直視下精巣上体精子採取術)³⁾。すなわち精巣上体被膜を一部開き、精巣上体管が拡張しておれば直接に、拡張を認めなければ上体管に小切開を加えた後、先端を細くしたガラスピペットを用いて穿刺し、ガラス越しに内容物の性状を確認しながら回収する。最近新たな精巣上体精子採取法として、陰囊経皮的に細いニードルを用いて精巣上体管を直接穿刺するPESA⁴⁾が報告された。すなわち、精索部と穿刺部陰囊皮膚の局麻後

に陰囊を保持固定し、精巣上体頭部ないし体部を25ゲージの金属針で経皮的に穿刺し、先端を固定しつつ数回pumpingした後に陰圧をかけずに穿刺針を抜去することによってシリンジ内の培養液中へ精巣上体液を回収する。本術式はMESAに比べて、局所麻酔で施行可能であるために外来手術でできる、比較的多数回の施行が可能であるなどの利点をもつ反面、症例によっては精巣上体の腫大部が判然とせず穿刺手技に若干の習熟が必要、採取精子量が少ない、等の欠点もある。著者らも閉塞による精巣上体の腫大と考えて穿刺を予定していたが、精巣上体炎によるものであったため直前で断念した症例の経験もある。ちなみに著者らの初期のPESAの治療成績は採取率88.9%(8/9)、採取総精子数 $2.9 \pm 1.3 \times 10^6$ 、採取精子運動率 $14.1 \pm 3.6\%$ 、採取総運動精子数 $13.6 \pm 3.2 \times 10^4$ とMESAの成績に比べてとくに採取総運動精子数は統計的に有意に少ないという結果であった(表1)。しかしながら、採取精子を用いた同一施設および同一時期のICSIの成績を見てみると、受精率、周期当たりの妊娠率、症例当たりの妊娠率いずれもPESAとMESAの間に有意差を認めず、症例数に差は

表1 PESAの治療成績
(1996, 7 ~ 1999, 10 : 9例, 計9回)

採取率	88.9% (8/9)
採取総精子数	$2.9 \pm 1.3 \times 10^6$
運動率	$14.1 \pm 3.6\%$
運動精子数	$13.6 \pm 3.2 \times 10^4$
受精率(卵)	62.3% (91/146)
妊娠率(周期)	50% (8/16)
妊娠率(症例)	62.5% (5/8)

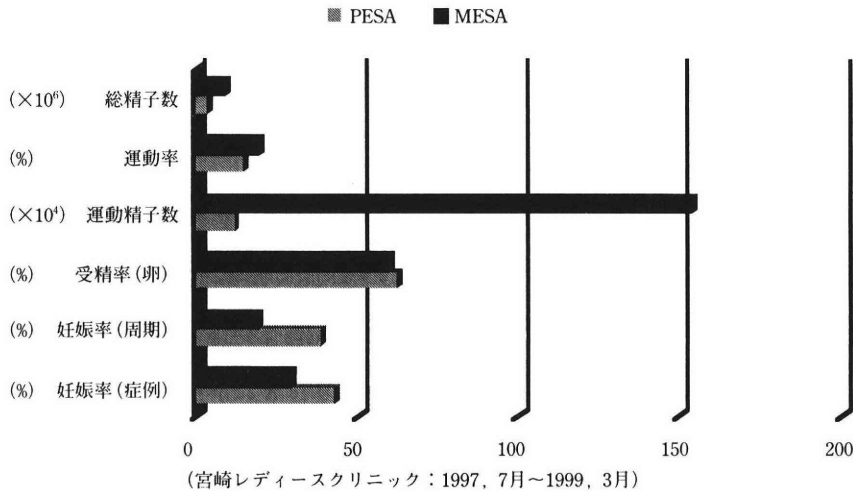
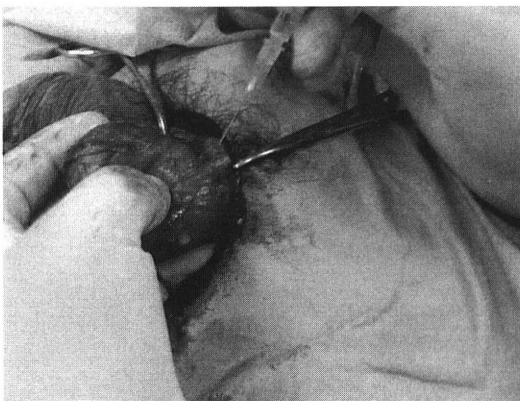


図1 同一施設での同時期のMESAおよびPESAによるICSIの比較

あるが妊娠率はむしろPESAの方が高い傾向が認められた(図1)。以上の結果や、患者にとっての肉体的、経済的負担の少なさを考慮すれば、PESAがMESAより効率的な手技であり、精巣上体精子の採取法では今後の中心になるものと思われる。前述のごとく著者らがPESA以前から行ってきたMaESA(図2)は、精巣鞘膜を開き、精巣上体を露出せしめた後に穿刺するものであり、顕微鏡を使用しない点を考えると組織におよぼす侵襲はPESAに近いものであるともいえる。しかし、穿刺部位をより正確に決定できる点や穿刺後の精巣上体の出血の度合いを確認しつつ止血できることはPESAにない利点である。かつ図2(MESAは実際にはMaESA)で示したように運動精子回収量はPESAより有意に多いことを考えると実



ガラス以外に金属製ニードルを使用すること多い

図2 金属製ニードルによるMaESA

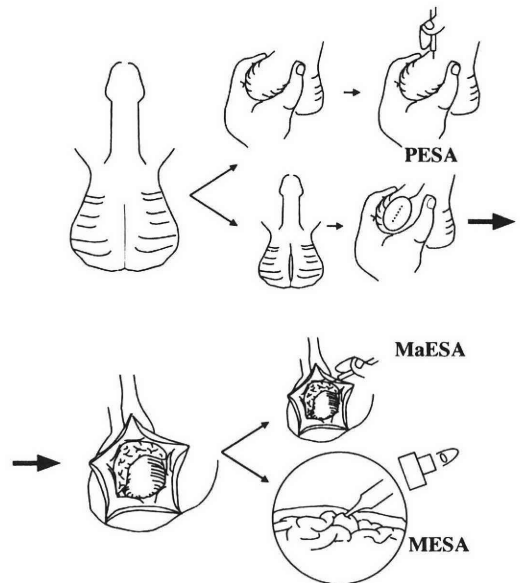


図3 精巣上体精子採取の手技

際には局所麻酔にて十分可能なMaESAは今後も症例によっては選択する価値はあると思われた。図3にMESA, MaESA, PESAの関係を中心に術式を簡単に図示した。

2 精巣内精子の採取 (TESE, TESA等)

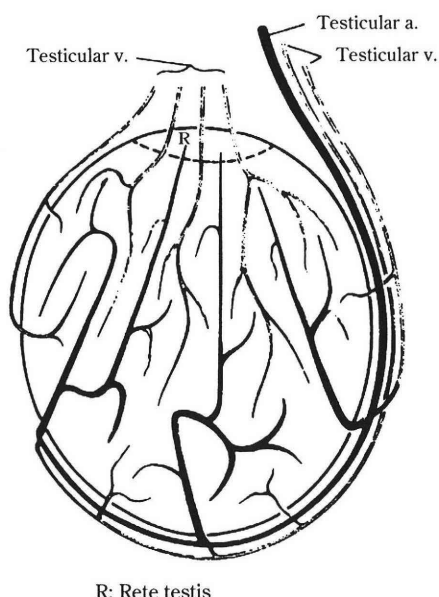
TESE⁵⁾は、診断的生検の治療への応用という画期的発想のもとに出現し、重症男性不妊治療に大きな変化をもたらした(図4)。手技は基本的に精巣生検と同じであり詳細は割愛するが、そのために雄性機能

適応：1. 閉塞性無精子症； 精巣上体精子採取不能例
閉塞部位不明例
2. 非閉塞性無精子症； 生検にてセトリ細胞のみ
や染色体異常例も含む
3. 無精子症以外； 他治療の無効な射精障害
射出精子不良例

技法：1. Testicular sperm extraction (TESE, original)
2. Fine needle aspiration (FNA, TESA)
3. Percutaneous testicular needle biopsy

特徴：1. ICSIの併用が必要
2. 同時に診断的生検を行う一期的手法が主流
3. 合併症として精巣の血流障害等が起こりうる

図4 TESE(精巣内精子採取術)



R: Rete testis

図5 ヒト精巣血管モデル

(斉藤ら⁶⁾より引用)

を含む精巣機能を障害してはならない。ヒトの場合主に精巣下面より白膜下を貫通する精巣動脈⁶⁾の可及的温存に努める必要があり(図5)、Schlegelらは精巣白膜の標準切開線を提唱している⁷⁾。なお1999年3月時点の著者らのTESE-ICSIの治療成績は受精率57.6%、周期当たり妊娠率16.2%(6/37)、症例当たり妊娠率33.3%(6/18)、2例正常出産、2例妊娠継続中であつた。

3 不妊症治療と医療連携

modern ARTのような高度な技術をもつ施設が限

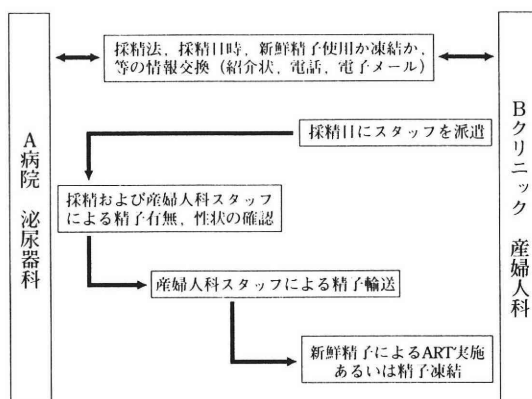


図6 採精施設とART施行施設の医療連携

表2 採取精子によるICSIの受精率

	同一施設*	施設間連携**	χ^2 検定
実施卵数	233	477	
受精卵数	129	261	
受精率	55.4%	54.7%	n.s.
	(33周期中13周期は新鮮)	(全68周期凍結)	

*：兵庫医科大学病院

**：健保連大坂中央病院、宮崎レディースクリニック

られている現在、患者のニーズの増加に伴い医療連携がますます重要になっている。

1) 異なる施設間の医療連携

以前著者が所属していた病院では院内にART実施体制がなく、近隣の産婦人科不妊専門クリニックとの間で図6に示すような医療連携のもとに治療してきた。反面、現所属の兵庫医科大学では、同産婦人科によるICSIを含めたART体制が確立している。そこで採取精子によるICSIの受精率を同一施設内で施行した場合と施設間連携にて施行した場合で成績を比較した。結果は、施設間連携では全例移送の後に凍結保存した精子にもかかわらず新鮮精子例を含んだ同一施設群との間に受精率に差を認めず(表2)、精液検体の移送などのいわばハード面での医療連携が精子の質に影響を及ぼしていないことが示唆された。

2) 泌尿器科と産婦人科との医療連携

次に、いわばソフト面での医療連携である泌尿器科と産婦人科の治療方針における連携は最も重要なものである。泌尿器科が男性側を、産婦人科が女性側を治療する時代は終わり、現在は個々のカップルの治療を両科のみならず、パラメディカルスタッフを含めた高度の医療連携のもとに行う時代である。具体的に重要なことは、個々のカップルの情報を両科で的確に交換し、治療方針についてのコンセンサ

スを常に保つことであり、このことは異なる施設間の連携でも実現可能であろう。逆に同一施設内に不妊症を治療する泌尿器科と産婦人科をもつのみでは決して真の意味での不妊センターとはなりえない。

終わりに

精子採取法であるMESA, PESA, TESEについて実際面を中心に概説し、不妊症治療におけるART時代の医療連携の重要性について述べた。

稿を終えるにあたり、多大な御指導をいただいた、大阪大学泌尿器科アンドロロジーグループ、健保連大阪中央病院泌尿器科、宮崎レディースクリニック、岡本クリニック、脇本産婦人科の諸氏に感謝いたします。

文 献

- 1) Gil-Salom M, Romeo J, Minguez Y, et al. (1996) Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 11:1309-1313
- 2) Teple-Smith PD, Southwick GJ, Yates CA, et al. (1985) Human pregnancy by in vitro fertilization (IVF) using sperm aspirated from the epididymis. *J Vitro Fert Embryo Transfer* 4:298-303
- 3) 近藤宣幸, 古賀 実, 竹山政美 他(1999) 閉塞性無精子症に対する肉眼直視下精巣上体精子採取術の治療成績. *日不妊会誌* 44:291-297
- 4) Shrivastav P, Nadkarni P, Wensvoort S, et al. (1994) Percutaneous epididymal sperm aspiration for obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 9:2058-2061
- 5) Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, et al. (1993) Pregnancy after fertilization with human testicular spermatozoa. *Lancet* 342:1237-1238
- 6) 齊藤 澄, 岡安 勲, 畠山 茂(1986) 睾丸血管構築の特異性. *ホと臨床* 34増刊号:41-48
- 7) Schlegel PN (1999) Sperm retrieval for assisted reproduction. In: Lue TF and Goldstein M (eds), *Impotence and Infertility: Atlas of Clinical Urology*. Current Medicine, Inc, Philadelphia pp14.1-14.11

男性不妊 —産婦人科と泌尿器科の役割分担—

The Effects of the Tie-up between Gynecologists and Urologists in the Treatment of Male Infertility

辰 巳 賢 一

Kenichi TATSUMI

渡 辺 政 信¹⁾

Masanobu WATANABE

金 井 裕 子

Yuko KANAI

濱 崎 祐 希

Yuki HAMAZAKI

小 山 栄三郎

Eizaburou KOYAMA

坂 本 英 雄¹⁾

Hideo SAKAMOTO

吉 田 英 機¹⁾

Hideki YOSHIDA

梅ヶ丘産婦人科

Umegaoka Women's Hospital, Tokyo 154-0022, Japan

¹⁾ 昭和大学医学部泌尿器科学教室

Department of Urology, Showa University School of Medicine,
Tokyo 930-0194, Japan

卵細胞質内精子注入法(ICSI)が臨床レベルの治療として定着して以来¹⁾, それまで妊娠不可能であった重症男性不妊の多くが妊娠可能となった。ほんの少数の精子があれば妊娠できるようになった現在, 男性不妊に対する泌尿器科治療の必要はないのではないかという意見すらある²⁾。

男性不妊へのアプローチは泌尿器科と産婦人科では異なったものとなる。泌尿器科では, 薬物療法や手術療法により精液所見を改善するという治療を行う。一方, 産婦人科では, 現在ある精子を用いて, なんとか妊娠に結びつけようとする治療を行う。産婦人科の男性不妊に対する治療手段は, タイミング指導, 配偶者間人工授精(AIH), 体外受精・胚移植法(IVF), ICSIである。治療が高度になるに従って精子と卵子を人為的に近づけることになるため, リスクは大きくなり, コストは高くなる。不妊治療の原則は, それぞれのカップルの必要最少限の治療で妊娠に結びつけるということである。すべての不妊患者にIVFを, すべての男性不妊患者にICSIを行な

えば高い妊娠率が得られるであろう。しかし, IVFやICSIを行うと多胎となる可能性が高くなる。排卵誘発や採卵には危険を伴い, 治療費も高額となる。次世代への影響もわかっていない。IVFやICSIは必要な患者のみに行うべきであり, まず最初はできるだけIVFやICSI以外の妊娠を目指すべきである。このためには, 泌尿器科治療による精液所見の改善が必須である。

今回, 当院(梅ヶ丘産婦人科)と, 昭和大学病院泌尿器科との連携の経験から, 男性不妊治療において, 産婦人科と泌尿器科とが連携する場合にとくに重要と考えられる点について検討した。

<産婦人科と泌尿器科との連携の成果>

当院では平成3年に不妊外来を開設して以来, 平成10年末までに2838名の不妊新患(不妊期間1年以上)があり, うち1314人が臨床妊娠し, 妊娠率は46.3%であった。当院では, 男性因子のある患者は原則として昭和大学病院泌尿器科に加療を依頼してき

た。また、当院でICSIを開始してからは、同科での治療後の男性不妊のカップルの一部に対し当院でICSIなどの治療を行っている。また、同科で精巣上体や精管より採取した精子、精巣生検によって得られた精巣内精子を当院で凍結保存し、必要に応じ当院でICSIを行っている。

今回、平成3年から平成10年末までに当院不妊外来を受診した患者のうち、昭和大学病院泌尿器科と

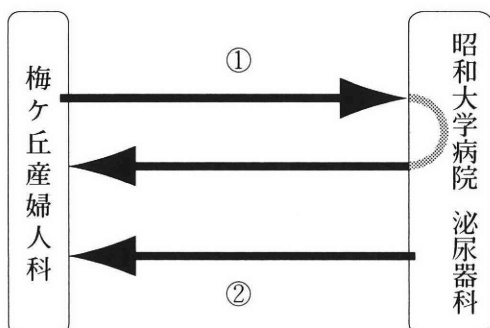
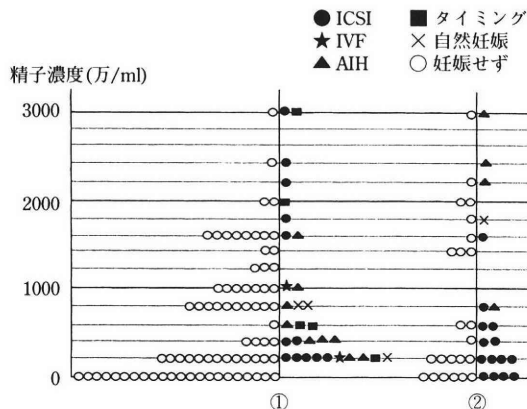


図1 梅ヶ丘産婦人科と昭和大学病院泌尿器科との連携のパターン

連携を行なった187例について、平成10年末の時点でのデータを検討した。

187例のうち、図1の①にあたる、当院より昭和大学病院泌尿器科を紹介した例は116例あり、うち33例が妊娠、妊娠率は28.4%であった。一方図1の②にあたる、昭和大学病院泌尿器科での治療後に当院を紹介初診された例は71例あり、うち35例が妊娠、妊娠率は49.3%であった。妊娠率にかなりの差がみられるが、この原因として、まず、②の場合には、泌尿器科治療により精液所見が改善してから当院を受診したケースが含まれていることがあげられる。また、①の場合には、最初に当院に妻が来院し、夫の検査の結果男性に問題があるとわかったケースであり、心の準備ができていないせいか脱落例が多い。これに対し、②の泌尿器科で治療を済ましたのちに当院に来院するケースでは、治療に熱心で、AIHやICSIも覚悟の上で当院を初診するケースが多く、脱落例が少ないことなどが考えられる。

図2は、①と②の2つのパターンの場合、どのような方法で妊娠が成立したかを精子濃度別に見たものである。①は当院から昭和大学病院泌尿器科を紹介した時点での精子濃度、②は昭和大学病院泌尿器科から当院を紹介された時点での精子濃度を示しており、精子濃度3000万/ml以下のケースのみを図にし



①は梅ヶ丘産婦人科から昭和大学病院泌尿器科を紹介。
②は昭和大学病院泌尿器科から梅ヶ丘産婦人科を紹介。

図2 紹介時の精子濃度と妊娠方法

ている。一般的に精子濃度が500万/ml未満になるとICSIが必要とされている³⁾。

まず昭和大学病院泌尿器科において治療を受けた後に当院を紹介された②のパターンでの妊娠例35例の妊娠方法の内訳は、自然妊娠(×) 2例、タイミング指導(■) 4例、AIH(▲) 11例、IVF(★) 2例、ICSI(●) 16例であった。○は妊娠していない例を示す。当院紹介時の精子濃度が500万/ml未満の妊娠例10例はすべてICSIによる妊娠であった。

一方①の当院から昭和大学病院泌尿器科に紹介した116例中、妊娠例は33例であり、妊娠方法の内訳は、自然妊娠 3例、タイミング指導 5例、AIH 11例、IVF 2例、ICSI 12例であった。紹介時無精子症が22例あり、この中には妊娠例はなかった。紹介時の精子濃度が500万/ml未満の重症乏精子症は33例あり、うち15例が妊娠、内訳は、自然妊娠 1例、タイミング指導 1例、AIH 5例、IVF 1例、ICSI 7例であった。すなわち、紹介時にはICSIを要すると考えられた重症乏精子症33例中7例(21%)はICSIにより妊娠し、8例(24%)は泌尿器科治療によりICSI以外の方法での妊娠が成立した。また、AIHまでの治療で妊娠できなかった男性不妊の場合にはIVFでは受精しないことが多く、IVFは男性不妊に対しては、あまり有効ではないと考えられた。

<男性不妊に対するAIH>

当院における精液所見不良例に対するAIHについて検討した。

当院ではAIH時の原精液の運動精子濃度(精子濃度×精子運動率)が1000万/ml未満の症例に対しては

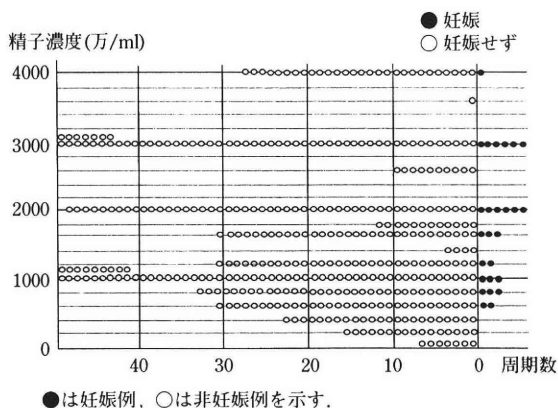


図3 AIH時の原精液濃度と妊娠、非妊娠の分布

Mini-ISolate二層法により精子調製を行なっている。Mini-ISolate二層法は、90%ISolate (Irvine Scientific) 0.3mlに45%ISolate 0.5mlを重層し、その上にPBSで希釈した全精液を重層し2000回転20分遠沈、pelletをPBSで洗浄、0.2mlに再懸濁しAIHに用いる。精液所見の悪い症例からも効率的に運動精子を回収できる。平成10年1月から平成11年7月までの間に494回のMini-ISolate二層法を用いたAIHを行い32周期が妊娠、周期あたりの妊娠率は6.5%であった。図3に、原精子濃度4000万/ml以下の症例の、原精子濃度別の妊娠、非妊娠の分布を示した。●が妊娠周期、○が非妊娠周期である。精子濃度600万/mlより妊娠例が出はじめている。また、平成8年5月から平成9年5月までの間に当院で行なった576周期のAIHでは43例が妊娠したが、この中には、精子濃度300万/mlが1例、精子濃度400万/mlが2例あった⁴⁾。これらを総合すると、泌尿器科的治療による精子濃度の改善目標を、精子濃度500万/mlに設定するのがよいと考えられる。このあたりにまでなれば、AIHによる妊娠が期待できる。逆に治療をはじめても、500万/mlのレベルになりそうになければ、早目にICSIを行うべきであろう。

<妻の年齢からみた男性不妊の治療方針>

妻の年齢から見た男性不妊の治療方針について検討した。

図4は、当院不妊外来患者2838名の初診時の妻の年齢と妊娠率を表した図である。横軸は症例数を示している。初診時年齢が25歳未満の場合の妊娠率は59.4%、25～29歳が55.0%、30～34歳が48.7%、35～39歳では39.6%、40歳以上では16.1%と年齢とともに低下し、とくに40歳以上での低下は著しい。

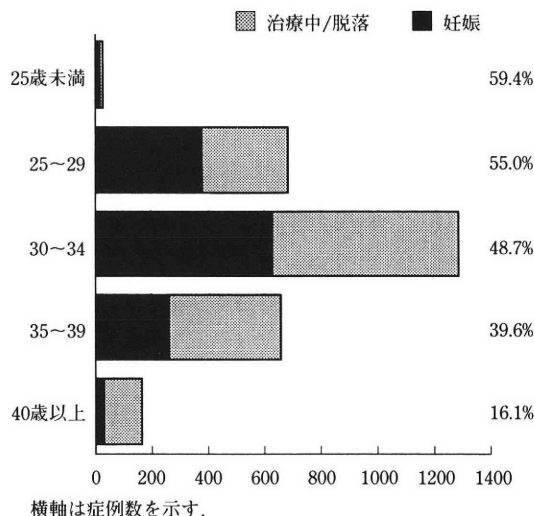


図4 当院初診時の妻の年齢と妊娠率

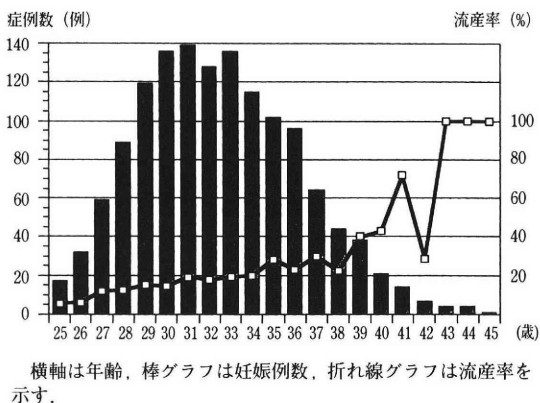


図5 妊娠時の年齢と妊娠例数、流産率

図5は年齢と流産率を表した図である。棒グラフが妊娠数、折れ線グラフが流産率を示している。流産率は年齢とともに高くなり、31歳から20%前後となり、35歳から30%程度になり、39歳では40%を超え、43歳以上のすべての症例が流産となった。図4、図5に示すように妻の年齢は、不妊治療により生産できるかどうかについての最も重要な因子であり、これは男性不妊の場合も同様である。妻の年齢が高い場合には治療を急がないと結果を出すことができなくなる。

結 論

精液所見が悪い場合には、まず、泌尿器科による治療を行うべきである。たとえ精子濃度が500万/ml未満でも泌尿器科治療により多くの症例でICSI以外

の妊娠が可能となる。産婦人科医は自分の不妊外来に来院した患者の夫の精液所見が悪くても、すぐにICSIを行わず、まず泌尿器科に治療を依頼すべきである。

泌尿器科治療による精子濃度の改善目標値は、精子濃度500万/ml程度とする。500万/ml程度にまで改善すれば、AIHによる妊娠が期待できる。一方治療によっても500万/mlまで改善する可能性が低い場合には、早目にICSIを行うべきである。またIVFは男性因子に対してはあまり有効ではないと考えられる。

妻の年齢が35歳を越えると妊孕力が低下し40歳を越えてから治療しても結果を出すことは非常に難しくなる。男性不妊の場合にも妻の年齢を常に考えながら治療を行わなくてはならない。

産婦人科医と泌尿器科医が、これらの点に留意し、それぞれの役割を認識し、完遂することによって、より質の高い男性不妊治療が可能となる。

文 献

- 1) Van Stierteghem AC, Nagy Z, Joris H, et al. (1993) High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 8:1061-1066
- 2) 高橋克彦、竹中真奈美 (1995) 男性の不妊症治療は必要か。日不妊会誌 40:596
- 3) 荒木重雄、荒木康久、本山光博 他 (1997) 不妊治療におけるICSIの有用性の検討：不妊治療の限界について。日受着会誌 14:23-26
- 4) 辰巳賢一 (1997) AIH. 不妊治療'97. 産婦人科臨床懇話会セミナーテキスト、東京、pp1-11

Sequence of a cDNA Encoding a Novel Basic Protein Expressed in Rabbit Placenta

Hiroshi MIYAMOTO, Kazuya MATSUMOTO, Yoshihiko HOSOI,
Kazuhiro SAEKI, Aizo MATSUSHIRO and Akira IRITANI

Department of Molecular Genetics, Kinki University,
Wakayama 649-6493, Japan

We have screened a cDNA library constructed from the rabbit placenta using Mach2 cDNA as a probe to identify genes regulating normal placental development in mammal. We find a cDNA, RBPBP1, encoding a novel basic protein that is rich in arginine (13%), lysine (10%), and glutamine (13%). RBPBP1 has three transcripts in placenta and the predicted amino acid sequence shows a limited similarity to mouse Mach2. These findings suggest that the RBPBP1 protein may have a role in developmental process of placenta correlating the Mach2 function.

Key words: rabbit placenta, Mach2, cDNA

(Jpn J Fertil Steril 45:347-350 2000)

Introduction

Abnormalities in placenta affect development of embryo proper. Indeed much of the embryonic loss that occurs in eutherian mammals is found during the periimplantation period¹⁾. Therefore, normal implantation and placenta formation are important prerequisite for subsequent cell differentiation and organogenesis in embryo²⁾. Early embryogenesis in mammal is characterized by a conspicuous process, compaction, followed by blastocyst formation. Trophoblast cells in blastocyst are the first cell lineage and are devoted to establishing extraembryonic tissues which make up the placenta. At mid-gestation, trophoblast cells interact with uterine epithelium, allowing exchange of gases and nutrients between the mother and fetuses^{2, 3)}.

Recent molecular and genetic studies have revealed information on the basis of establishment and maintenance of placenta⁴⁻⁹⁾. In mouse, it has been reported that Hxt and Mach2, a basic helix-loop-helix (bHLH) family of proteins, function essentially for normal development of placenta. Hxt is expressed in trophoblast giant cells and regulates their formation⁵⁾. Mach2, which encodes the mouse homologue of the Drosophila

achaete-scute complex (ASC) genes¹⁰⁾ is specifically expressed in diploid trophoblast^{2, 9)}. The loss of function induces abnormal placental development that results in embryonic lethality at midgestation^{4, 6)}.

In *Drosophila*, ASC genes promote neural precursor cell formation^{11, 12)}. *Xenopus* homologue of ASC are also correlated with neural cell formation^{13, 14)}. Thus, ASC-like genes have critical roles in differentiation and fate determination of cells in a variety of organisms.

In a screening of cDNA library derived from rabbit placenta using Mach2 cDNA as a probe, we isolated a novel gene similar to 5' portion of the Mach2 N-terminal domain. We report here the nucleotide sequence and the size of transcript.

Materials and Methods

Rabbit

New Zealand white rabbits were purchased from Keary Co., LTD. (Japan) and kept at 25°C under a 12/12 hour light/dark cycle. A superovulated female rabbit was mated with a male rabbit. After 16 days, the placenta was collected.

Figure 2

To examine the presence of the RBPBP1 transcripts in rabbit placenta and to determine the size of the transcripts, northern blot analysis was performed. As shown in figure 2, we found three transcripts: 4kb, 2kb, and 1.4kb. It is thought that the RBPBP1 cDNA we obtained was derived from the 1.4kb transcript. The conditions of hybridization and wash were very high stringent, indicating that these three transcripts correspond to the alternative transcripts synthesized from the same gene.

We report here the RBPBP1 cDNA encoding a novel basic protein that showed a limited similarity to Mach2. This suggest that RBPBP1 protein may act as a transcriptional regulator such as Mach2 forming a heterodimer with an unidentified protien. It is evident from recent studies that Mach2 has a critical role in the fate determination of the trophoblast cell lineage in placenta. RBPBP1 is expressed in placenta, and the similar sequence is expressed in mouse blastocyst. Therefore, it is speculative to think that RBPBP1 may be relevant to the function of Mach2 and has a role in normal placental development.

Acknowledgments

This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the ministry of Education, Science, Sports and Culture of Japan.

References

- 1) Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, et al. (1988) Incidence of early loss of pregnancy. *New Engl J Med* 319:189-194
- 2) Cross JC, Werb Z and Fisher AJ (1994) Implantation and the placenta: Key pieces of the development puzzle. *Science* 266:1508-1518
- 3) Copp AJ (1995) Death before birth: clues from gene knockouts and mutations. *Trends Genet* 11:87-93
- 4) Guillemot F, Nagy A, Auerbach A, et al. (1994) Essential role of Mach-2 in extraembryonic development. *Nature* 371:333-336
- 5) Cross JC, Flannery ML, Blonar MA, et al. (1995) Hxt encodes a basic helix-loop-helix transcription factor that regulates trophoblast cell development. *Development* 121:2513-2523
- 6) Guillemot F, Caspary T, Tilghman SM, et al. (1995) Genomic imprinting of Mach2, a mouse gene required for trophoblast development. *Nature Genet* 9:235-242
- 7) Alders M, Hodges M, Hadjantonakis A, et al. (1997) The human Achaete-Scute homologue 2 (ASCL2, HASH2) maps to chromosome 11p15.5, close to IGF2 and is expressed in extravillous trophoblasts. *Human Mol Genet* 6:859-867
- 8) Tanaka M, Gertsenstein M, Rossant J, et al. (1997) Mach2 acts cell autonomously in mouse spongiotrophoblast development. *Dev Biol* 190:55-65
- 9) Rossant J, Guillemot F, Tanaka M, et al. (1998) Mach2 is expressed in oogenesis and preimplantation development but is not required for blastocyst formation. *Mech Dev* 73:183-191
- 10) Villares R and Cabrera, (1987) The achaete-scute gene complex of *D. melanogaster*: Conserve domains in a subset of genes required for neurogenesis and their homology to myc. *Cell* 50:415-424
- 11) Ghysen A and Dambly-Chaudiere C (1988) From DNA to form: The achaete-scute complex. *Genes Dev* 2:495-501
- 12) Campuzano S and Modolell, (1992) Patterning of the *Drosophila* nervous system: The achaete-scute gene complex. *Trends Genet* 8:202-208
- 13) Ferreiro B, Kintner C, Zimmerman K, et al. (1994) XASH genes promote neurogenesis in *Xenopus* embryos. *Development* 120:3649-3655
- 14) Turner DL and Weintraub H (1994) Expression of achaete-scute homolog 3 in *Xenopus* embryos converts ectodermal cells to a neural fate. *Genes Dev* 8:1434-1447
- 15) Chomczynski P and Sacchi N (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162:156-159

(Received June 7, 2000)

(Accepted July 4, 2000)

ウサギ胎盤で発現する新規の塩基性タンパク質をコードする遺伝子

宮本裕史, 松本和也, 細井美彦, 佐伯和弘, 松代愛三, 入谷 明

近畿大学生物理工学部

ウサギの胎盤由来のcDNAライブラリーをMach2 cDNAをプローブとしてスクリーニングした結果, 新規のタンパク質をコードするcDNA RBPB1を単離することができた. RBPB1の塩基配列から予想されるタンパク質は塩基性で, アルギニン13%, リジン10%, グルタミン13%を含んでいた. 胎盤では3個の転写産物が確認され, Mach2とは部分的に弱い相同性が見られた. また, マウス胚盤胞のEST解析で得られたcDNAクローン (accession number: AA607262) と高い相同性を示した. 以上の結果より, RBPB1は哺乳類の胎盤形成過程において何らかの役割を担っていると推察される.

キーワード: ウサギ胎盤, Mach2, cDNA

(日不妊会誌 45:347-350 2000)

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—

The Role of Steroid Hormones and it's Receptors on Pathophysiological Mechanism of Endometrium in Unexplained Infertility Women.

田 原 隆 三	藤 間 芳 郎	岩 崎 信 爾
Ryuzo TAHARA	Yoshiro TOMA	Shinji IWASAKI
矢内原 敦	小 田 力	矢内原 巧
Atsushi YANAIHARA	Chikara ODA	Takumi YANAIHARA
岡 井 崇	九 島 巳 樹 ¹⁾	
Takashi OKAI	Miki KUSHIMA	

昭和大学医学部産科婦人科学教室
Department of Obstetrics and Gynecology, Showa University,
School of Medicine, Tokyo 142-8666, Japan

¹⁾昭和大学病院病院病理科
Department of Hospital Pathology,
Showa University Hospital, Tokyo 142-8666, Japan

機能性不妊の一因と考えられている子宮内膜の異常に着目し、機能性不妊患者の自然周期(65例)に対し黄体期7日目に子宮内膜日付診を施行し、血中estradiol値(E_2)、progesterone値(P)さらに子宮内膜腺上皮(G)、間質(S)のestrogen receptor(ER)、progesterone receptor(PR)およびsteroid sulfataseの発現率との関係について検討した。

1) 子宮内膜日付診は、正常群が30例、遅延群は30例、促進群は5例であり、機能性不妊の約半数に子宮内膜日付診の遅延がみられた。さらに遅延群の中で内膜採取時の血中progesterone/estradiol比(P/E)が150以上の高値を示す群(遅延群、P/E高値)と100以下の低値を示す群(遅延群、P/E低値)の2群が認められた。

2) 黄体期7日目の血中 E_2 値、P値は、遅延群(P/E高値)は遅延群(P/E低値)と正常群に比し低 E_2 、高Pの傾向を示した。

3) 遅延群(P/E高値)は遅延群(P/E低値)と正常群に比し、ER発現率は有意に高値を、PR発現率は有意に低値を示した。また遅延群(P/E低値)と正常群ではER、PR発現率に差を認められなかった。

4) 遅延群(P/E高値)においては遅延群(P/E低値)と正常群に比し強いsteroid sulfataseの発現を示した。機能性不妊症例の子宮内膜日付診をみると遅延群(P/E高値)、遅延群(P/E低値)および正常群が認められ遅延群(P/E低値)は卵巣よりP分泌不全(黄体機能不全)が遅延の原因として考えられた。また遅延群(P/E高値)は正常群に比しsteroid sulfataseの強発現、ERの高発現率およびPRの低発現率を認めこのことより内膜局所では高estrogenおよび低progesterone環境をつくり、これが日付診遅延の原因の一端と考えられる。

キーワード：機能性不妊、子宮内膜日付診、estrogen receptor、progesterone receptor、steroid sulfatase
(日不妊会誌 45:351-355 2000)

緒 言

生殖医学の進歩にともない、さまざまな不妊症の病態が明らかになってきている。しかし現在でも明らかな不妊原因が認められず、その取り扱いに苦慮することも少なくない。このような症例に対して『機能性不妊症』という診断名が用いられている。すなわち、機能性不妊とは、器質的疾患のない不妊症という概念でわが国では理解されてきたが、臨床的には、現在の診断技術では原因をみつけることが困難な不妊症と定義される。欧米では男女共に不妊原因がみつけれない場合を『原因不明不妊：unexplained infertility』と表現している。そしてこれらには、妊娠能がほぼ正常で自然妊娠が十分可能な患者と、大きな障害があるにもかかわらずそれが検出できない患者が混在している。従って機能性不妊の病態は、その時代の生殖医学の進歩のレベルによって異なる。このような器質的および内分泌学的に異常を認めない機能性不妊の一因として、子宮内膜の異常が考えられている。この子宮内膜は卵巣よりの性steroid hormone(st)とくにestrogen(E)とprogesterone(P)により周期性変化をうける。Noyesら¹⁾によって報告された子宮内膜日付診は、子宮内膜の経日的変化を詳細に記しているが、従来より子宮内膜日付診の異常はP分泌不全に起因する黄体機能不全に認められることが知られている。日常の臨床において機能性不妊患者の中に、血中P値が正常にもかかわらずしばしば子宮内膜日付診の異常を示す症例が認められ、これらの患者の不妊原因としては、子宮内膜のstに対する感受性の異常、とくにsteroid receptor(stR)発現の異常が考えられる。一般的に子宮内膜のstR発現量は性stの影響を受け月経周期内で変動する事が知られており、estrogen receptor(ER)とprogesterone receptor(PR)の発現はEにより促進され、Pにより抑制される²⁻⁴⁾。しかし、血中ホルモン値と子宮内膜日付診の異常、さらにER、PRの発現率の関係についての研究は少ない。また近年、子宮内膜局所においても各種のst代謝酵素の存在が報告され、これらの局所におけるautocrine, paracrine的な調節も注目されている。

そこで今回、機能性不妊患者における子宮内膜の異常を検討する目的で、自然周期において黄体期7日目に子宮内膜日付診を施行し、子宮内膜日付診の異常と血中ホルモン値、さらに同内膜のER、PRおよびsteroid sulfatase発現率との関係について検討した。

対象および方法

1 対 象

当院不妊外来通院中の患者のうち、一般的検査(基礎体温測定、内分泌学的検査、子宮卵管造影、精液検査)において異常を認めない機能性不妊患者65例の自然周期を対象とした。年齢は 30.5 ± 4.8 歳(Mean $\pm$ S.D.)、不妊期間は 3.6 ± 1.3 年である。

2 方 法

排卵後7日目に本人の同意を得て一掻き掻爬により子宮内膜を採取し、Noyesらの分類に従い子宮内膜日付診を施行した。子宮内膜日付診の正常群は日付診所見(histological dating)が内膜の実際の採取日(chronological dating)と ± 2 日未満の範囲で一致する群、遅延群は -2 日以上遅延する群、促進群は $+2$ 日以上促進する群とした。排卵日は、基礎体温、血中ホルモン値(LH, FSH, estradiol(E_2), P)、さらに経腔超音波検査による卵胞の消失および腹腔内への卵胞液の貯留により決定した。また子宮内膜採取日の血中 E_2 値およびP値を測定した。なお、各種ホルモン値の測定はTOSOH社製EIA kitを用いた。子宮内膜日付診に用いた子宮内膜組織より切片を作製し免疫組織化学染色にてER、PRを染色、腺上皮(G)、間質(S)、各々300個の細胞のうち染色された細胞数の割合を子宮内膜ER、PRの発現率とした。また同内膜のsteroid sulfataseの局在を免疫組織化学染色により検討した。統計学的処理についてはt検定によった。

結 果

1 子宮内膜日付診

正常群は30(46.2%)例、遅延群は30(46.2%)例、促進群5例(7.6%)であり、機能性不妊の約半数に子宮内膜日付診の遅延がみられた。さらに、内膜日付診の誤差と内膜採取時の血中progesterone/estradiol比(P/E)との関係を見ると図1のごとくであり、この図からも内膜日付診が遅延を示すものが約半数しめることがわかる。

一般に子宮内膜日付診はPの作用で促進するとされ、またEの作用では変化がないか、または遅延する可能性が考えられる。従ってP/Eが上昇することにより内膜日付診は促進し血中P/Eと子宮内膜日付診との間には正の相関を示す事が推測される。しかしながら、図1に示すごとく、この遅延群の内にはP/Eが高い群と低い群の2群があり、P/Eが150以上

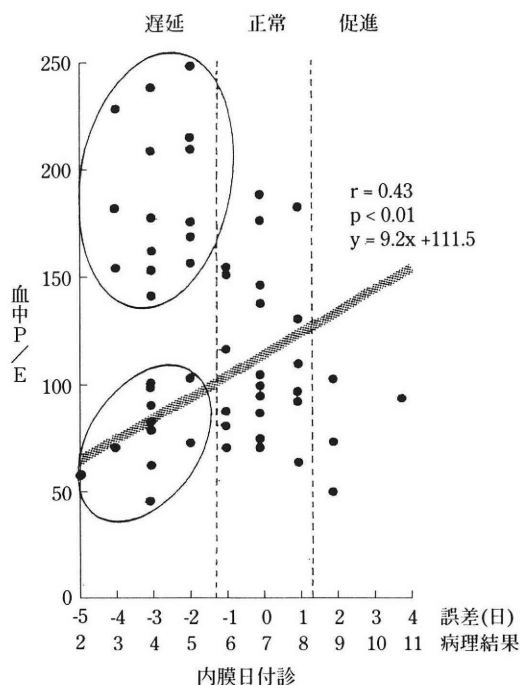


図1 黄体期7日目における内膜日付診の誤差とP/E比との関係

と高値を示すのにもかかわらず、内膜日付診が遅延している群がある。

さらに、このP/Eが150以上を示し内膜日付診が遅延している群をのぞいて血中P/Eと内膜日付診との関係をみると両者の間には $r=0.43$ と有意な正の相関がみられる。

2 子宮内膜日付診と血中ホルモン値との関係(図2)

血中P/Eは遅延群(P/E高値): 194.2 ± 60.1 , 遅延

■ 遅延 P/E高値 (n=17) ■ 遅延 P/E低値 (n=13) □ 正常 (n=30)

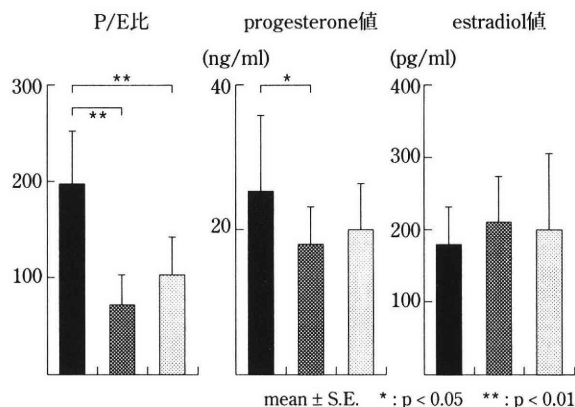


図2 子宮内膜日付診と血中ホルモン値との関係

群(P/E低値): 76.0 ± 22.5 , 正常群: 105.7 ± 37.7 であり遅延群(P/E高値)は他の2群に比し有意に高値を示す($p < 0.01$)。

遅延群(P/E高値)のP値は他の2群に比し高値を示し、さらに遅延群(P/E低値)との間には有意差がある($p < 0.05$)。遅延群(P/E低値)のP値は他の2群に比し低値を示した。E₂値に関しては3群間に差は認められない。

3 内膜日付診と内膜steroid receptor発現の関係(図3)

1) estrogen receptor発現率

遅延群(P/E高値)は遅延群(P/E低値)および正常群に比し腺上皮のER(ERG), 間質のER(ERS)ともその発現率は高値を示し、とくにERGは正常群に比し有意に高値を示した($p < 0.05$)。

2) progesterone receptor発現率

腺上皮のPR(PRG), 間質のPR(PRS)とも遅延群(P/E高値)は遅延群(P/E低値)および正常群に比し有意に低値を示した($p < 0.05$, $p < 0.01$)。

■ 遅延 P/E高値 (n=8) ■ 遅延 P/E低値 (n=5) □ 正常 (n=17)

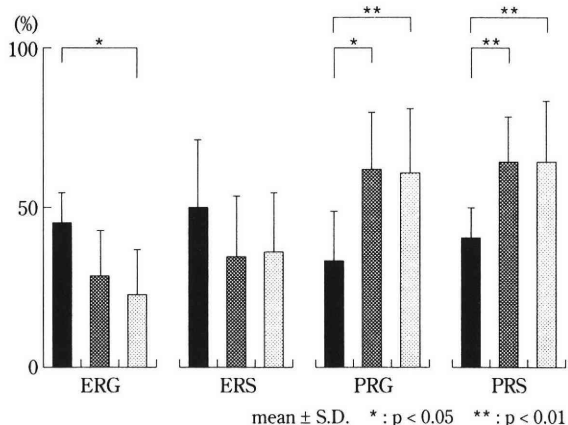


図3 内膜日付診と内膜steroid receptor発現の関係

4 steroid sulfatase発現

遅延群(P/E高値)においては、正常群、遅延群(P/E低値)に比し腺上皮、間質ともあきらかに強いsteroid sulfataseの発現を示した。

考 察

従来より、着床期子宮内膜の機能的異常についての報告は多くみられるが、その原因としては黄体機能不全、すなわちPの分泌不全が主であると考えられていた^{5, 6)}。しかし、日常の臨床において内分泌学的に異常を認めない機能性不妊の患者にもしばし

ば子宮内膜日付診のずれる症例が見受けられる。

今回血中st値が正常である機能性不妊患者について我々が行った検討では、子宮内膜日付診の遅延する症例が約半数に認められた。また、子宮内膜日付診はPの作用で促進するとされているが、この遅延群の中には血中P/Eが150以上の高値を示すものと低値を示す2群が認められた。そして遅延群(P/E高値)は遅延群(P/E低値)正常群に比しERの発現率が有意に高値であり、またPRの発現率が有意に低値であった。前述のごとくEの作用によりER、PRの発現が増強し、Pの作用によりER、PRの発現は低下するとされている⁴⁻⁶⁾。

これらP/Eの変化はP値の違いからおこり、遅延群(P/E高値)は他の2群に比しP値が高値であり、Pの作用も強いと考えられる。従って遅延群(P/E高値)では強いPの作用によりPR、ERの発現は低くおさえられているはずである。しかしながらERGは正常群より有意に高くまたERSも高値傾向を示す。

従ってP/E150以上の遅延群ははじめにER高発現、PR低発現の状態があり、ここに強いPの作用がきて低PRにて作用の発現ができず、また高ERよりEの作用が強くなる為、日付診がおくれるのではないかと考えられる。一方、遅延群(P/E低値)は卵巣よりのP分泌不全により内膜日付診が遅延していることが考えられる。さらにsteroid sulfataseの免疫組織化学染色において遅延群(P/E高値)ではsteroid sulfataseの強い発現を認めた。これらのことより、子宮内膜のキャラクターをみると遅延群(P/E低値)と正常群の内膜は同じと考えられ、遅延群(P/E高値)の内膜は他の2群とあきらかに異なることが考えられる。そして遅延群(P/E高値)ではsteroid sulfataseの強発現、ERの高発現率およびPRの低発現率より内膜局所では高Eおよび低P環境をつくり、これが日付診遅延の原因の一端であることが示唆された(図4)。

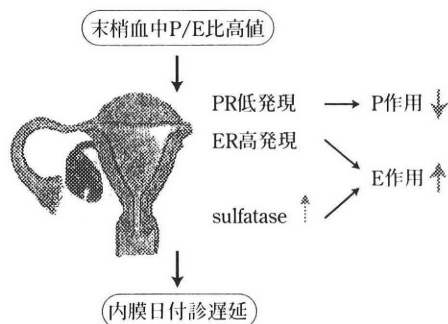


図4 高P/Eにおいても遅延を示した内膜局所での内分泌環境

また遅延群(P/E高値)は日付診の遅延をくりかえすことが多い事によりstR発現やst代謝酵素の内膜局所における異常が一因であると考えられる。さらに黄体期2日目と7日目に2回子宮内膜を採取し機能性不妊患者の同一周期における子宮内膜日付診とstR発現率を検討したところ、黄体期7日目で子宮内膜日付診が遅延している症例は黄体期2日目ですでに遅延しており、高ERの傾向を示していた⁷⁾。従って、子宮内膜日付診の遅延は排卵期周辺から分泌期初期においてすでに認められていることが考えられる。

着床期子宮内膜機能調節には、stのみならず、stRおよびst代謝酵素の変動が深く関与している事が示唆されたが、今後、卵胞期を含めたstRの発現と子宮内膜日付診との関係についての検討やluteal supportによるstR発現の検討が重要と思われる。

本論文の要旨は、第44回日本不妊学会学術講演会シンポジウム(1999年、東京)において発表した。

文 献

- 1) Noyes RW and Hertig DT(1950) Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril* 1:3-25
- 2) 岡田弘二、大野洋介(1989) 子宮内膜。日本臨床 47:902-905
- 3) 加藤順三(1986) ステロイドホルモン受容体。月刊薬事 28:51-59
- 4) 福岡正垣、秦井俊造、森 崇英(1982) 子宮内膜の黄体ホルモンレセプター。産婦実録 35:1875-1880
- 5) Cocke ID and Christine AM(1972) Correlation of endometrial Biopsy and plasma progesterone levels in infertile women. *J Obstet Gynecol Br Commonw* 79:647-650
- 6) Bruce AL and Aboidun OI(1996) Endometrial progesterone receptors and markers of uterine receptivity in the window of implantation. *Fertil Steril* 65:477-483
- 7) 小田 力、田原隆三、藤岡芳郎 他(1998) 機能性不妊における子宮内膜日付診と子宮内膜Estrogen ReceptorおよびProgesterone Receptor発現との関係。日不妊会誌 43:235-241。

(受付: 2000年 6月30日)

(受理: 2000年 8月10日)

**The Role of Steroid Hormones and it's Receptors on Pathophysiological Mechanism of Endometrium
in Unexplained Infertility Women.**

Ryuzo Tahara, Yoshiro Toma, Shinji Iwasaki, Atsushi Yanaihara, Chikara Oda,
Takumi Yanaihara, Takashi Okai and Miki Kushima¹⁾

Department of Obstetrics and Gynecology, Showa University,
School of Medicine, Tokyo 142-8666, Japan

¹⁾ Department of Hospital Pathology,
Showa University Hospital, Tokyo 142-8666, Japan

Endometrial tissue was obtained from 65 unexplained infertility women in mid-luteal phase and the histological dating, expression ratio of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), steroid sulfatase and serum levels of estradiol (E₂) and progesterone (P) were analysed.

Histological dating was delayed in 46.2% of unexplained infertile women and the patients with delayed endometrial histology were divided into two groups according to serum progesterone to estrogen ratio (P/E).

Delayed endometrium in the patients with high P/E ratio (>150) showed significantly higher ER and lower PR expression ratio than that in the patients with low P/E ratio (<100) and those with normal endometrial dating.

The expression of steroid sulfatase in the delayed endometrium with high P/E ratio patients was higher than that in the other two groups.

These results indicate that the delayed dating endometrium obtained from the patient with high P/E ratio may possess different expression of ER, PR and steroid sulfatase activity than the other two groups of unexplained infertile patients.

Key words: unexplained infertility, histological dating, estrogen receptor, progesterone receptor, steroid sulfatase

(Jpn J Fertil Steril 45:351-355 2000)

男性不妊症における医療連携

The Co-working of Medical Care in Male Infertility

柳 田 薫

Kaoru YANAGIDA

木 村 康 之

Yasuyuki KIMURA

片 寄 治 男

Haruo KATAYOSE

林 章太郎

Syotaro HAYASHI

矢 澤 浩 之

Hiroyuki YAZAWA

佐 藤 章

Akira SATO

鈴 木 孝 行¹⁾

Takayuki SUZUKI

柳 田 知 彦¹⁾

Tomohiko YANAGIDA

萩 原 雅 彦¹⁾

Masahiko OGIWARA

山 口 脩¹⁾

Osamu YAMAGUCHI

福島県立医科大学医学部産科婦人科学講座

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,
Fukushima Medical University, Fukushima 960-1295, Japan

¹⁾福島県立医科大学医学部泌尿器科学講座

Department of Urology, School of Medicine, Fukushima Medical University,
Fukushima 960-1295, Japan

大学病院の産婦人科の観点から当院での男性不妊症の診療における泌尿器科との医療連携の現況を、連携がとくに必要な生殖補助医療技術に関して報告する。当院での医療連携は、泌尿器科での男性因子スクリーニング検査、適応のある症例の染色体とDAZ検査の実施、両科からのART適応の決定を行っている。考慮すべき点として、MESAやTESEでは、両科の診療形態事情により妻の採卵後に夫からの精子の採取を行っているが、採卵可能率は92%で、夫からの精子回収可能率が64%であるので、先に夫から精子を回収することが望ましく、また積極的な精子の凍結保存法の実施が検討されるべきと考えられた。精子検体の有効な凍結保存法、未受精卵の有効な凍結保存法、並びに自然周期やclomid周期での採卵法の確立がなされれば、MESA、TESE法をより柔軟性をもって実施できるようになると思われる。

キーワード：MESA、TESE、男性不妊症

(日不妊会誌 45:357-361 2000)

諸 言

不妊症の原因因子を分析すると、不妊症の原因に男性因子が関与している割合は40～50%と考えられており、男性因子の検査・治療は不妊症治療の大きな一つの柱である。従って、不妊症は初診時から泌

尿器科と産婦人科との医療連携の上に検査・治療が進められなければならない。当院では不妊症の診療にあたり、不妊センターのような一つの部署での管理を行っておらず、通常の形態の総合病院の中で、不妊症を診療している。このような当院での男性不妊症の診療における医療連携の現況を報告すること

が本研究の目的であり、泌尿器科との医療連携がとくに必要な無精子症に関して報告する。

対象と方法

男性患者の取り扱い

不妊症患者が産婦人科外来を初診した場合、男性は原則的に全例を泌尿器科へ紹介する。男性は男性因子のスクリーニングとして精液検査を受ける。婦人は不妊外来で通常の不妊症のスクリーニングを受け、検索された不妊原因に対して治療を受けることになる。通常の不妊症はタイミング指導が基本となる。泌尿器科との連携の上に行われる不妊症治療は精液所見に異常を有する症例であり、乏精子症、精子無力症、濃精子症、無精子症、不動精子だけが得られる例(不動精子症)、精子死滅症の各場合に泌尿器科と相談の上両科の共同で治療を開始する。

無精子症の取り扱い

無精子症例には精巣上体精子回収法(microsurgical epididymal sperm aspiration: MESA)¹⁾、精巣精子回収法(testicular sperm extraction: TESE)²⁾が適応として実施されるが、原則的には閉塞性ではMESAを、非閉塞性ではTESEを用いている。無精子症例は泌尿器科にて無精子症であることの確認(精液検査)と必要な検査(血清ホルモン値測定:FSH, LH, testosterone, 射精後尿沈渣、精管造影、経直腸エコー、精巣生検など)が実施される。閉塞性か否かをまず診断し、閉塞性の場合には精路再建術を提案する。諸事情により精路再建術が選択されない場合には、生殖補助医療技術(assisted reproductive technology: ART)が実施される。また、泌尿器科側で精巣生検が必要と判断される場合には、まずTESE-ICSIを計画して実施することとし、その時に採取した検体で病理組織検査を行う。このような場合には泌尿器科から院内紹介状を介してTESE-ICSIの指示が婦人科に伝達され、当科では卵巣刺激法の実施準備に入り、治療を行うこととなる。卵巣刺激中に卵胞成熟兆候が確認されると、泌尿器科担当医と相談の上採卵の日時を決定する。採卵日の夫に対する指示は婦人科から妻を介して行う。TESEの当日は午前10時に採卵し、採卵の結果を泌尿器科へ報告し、夫は泌尿器科外来で午後には精巣組織を採取して(産婦人科医立ち会い)ART室へ精巣組織を持ち帰り、精子の有無を確認する。そして精子の有無を泌尿器科へ報告する。TESE例で精子の回収成績とJohnsen's score、血中FSH値、精巣容量との関連を調べた。

MESA, TESE-ICSIの方法

MESA, TESEはすでに報告した方法によった³⁾。精巣上体精子回収法については最近では経皮的精巣上体精子吸引法が多用されている。採取された検体から精子浮遊液を作成し、運動精子がある程度認められた場合に、精子浮遊液を凍結保存した。運動精子が認められない場合には精子浮遊液をさらに3~5時間培養した後に運動精子の有無を検査し、尾部がわずかに動いている程度の運動性の場合と運動精子が認められなかった場合には凍結保存を行わなかった。凍結保存は既報告の方法により行った⁴⁾。

染色体異常, DAZの検索

泌尿器科医と合議の上、精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例には「乏精子症や無精子症の男性に染色体異常やDAZの微小欠出が認められる可能性とそれらの異常が次世代に伝わる可能性があること」についてインフォームドコンセントを行い⁵⁾、染色体検査と遺伝子検査の希望者に検査を実施している(泌尿器科で実施)。この情報提供は泌尿器科と婦人科の双方で同じく実施できるように共通のパフレットを作成した。

統計処理はt検定で行った。p<0.05で有意差があると評価した。

結 果

1 無精子症治療の現況

1994年4月から1997年7月までの対象症例数は47例で、68%が紹介された患者であり、この内泌尿器科から紹介されたのは17例(25%)であった。無精子症例の原因疾患(1994.4~1999.7)を表1に示す。また、MESAおよびTESEの成績を表2に示した。

MESAを行った原因疾患は輪精路閉塞4例(1例: maturation arrest)、精管結紮後不動精子1例(再建術後)、先天性精管欠損4例(1例: hypospermatogenesis)、精索静脈瘤1例(hypospermatogenesis)、脊損による射精障害(インポテンツ)1例(maturation arrest)、原因不明1例であった。これらの全例に精巣生検が行われたのではないが、造精機能障害を示した例が少なく、当初MESAを実施したが、後に精子を回収できなくなりTESEを行った例も存在した。

TESE例での精子回収が可能だったのは75周期中48周期(64%)、39症例中24症例(62%)であった。またTESE例での精巣病理組織診断と精子の回収成績を表3に示した。Sertoli cell only Syndromeでは精子回収成功率が低く17%であったが、全体としては症例

表1 無精子症例の原因疾患(1994.4~1999.7)

閉塞性	
両側精管欠損	4例
鼠経ヘルニア術後	1例
精管結紮-再建術後	1例
炎症性疾患後	2例
原因不明	1例
小計	9例
非閉塞性	
特発性	27例
精索静脈瘤	3例
Klinefelter症候群	2例
精索捻転症	1例
耳下腺炎性精巣炎	1例
射精障害	
直腸癌術後	2例 ¹⁾
交通事故後	1例 ²⁾
脊髄損傷	1例 ³⁾
小計	38例
総 計	47例

¹⁾ 1例は逆行性射精かつ不動精子のみの症例, 1例はインポテンツ

²⁾ 0.5mlの射出精液を認めたが, 無精子症

³⁾ インポテンツ

の62%に精子回収が可能であった。精子の回収成績とJohnsen's score, 血中FSH値, 精巣容量との関連を調べた(図1, 2, 3)。血中FSH値と精子回収成績には関連性を見いだせず, Johnsen's scoreでは精子回収が出来なかった例の平均値は3.5であったが, score 3.5以下の11例中3例(27%)に精子回収が可能であった。また, 常に精子が回収可能であった例の平均値は7.3であったが, 7.3以上を示した18例中1例(6%)に精子回収が常に不可能で, 3例(17%)では精子回収ができなかった周期が存在した。精子回収成績と精巣

表2 MESA, TESEでの治療成績

期 間	MESA- ICSI	TESE- ICSI
	1994.4-1999.7	1994.4-1999.7
症例数	12	39
卵巣刺激周期数	35	75
採卵可能周期数	35	39
採卵数	283	299
平均採卵数	5.2	5.7
ART実施卵数	249	257
生存卵数	216	236
受精卵数	162	181
受精率	75.0 %	76.7 %
移植周期数	34	45
移植胚数	76	93
平均移植胚数*	2.2	2.1
妊娠数	8	9
妊娠率(対治療周期)	22.9 %	18.8 %
妊娠率(対症例)	41.7 %	37.5 %

*1998年からは移植胚数を最多2個と規定している。

容量では容量が小さい程精子の回収成績が不良となり, 常に回収できなかった例での平均値は10.1mlであったが, 10.1以下を示した11例中4例(36%)に精子が回収可能であった。また, 精子が常に回収できた例の平均値は15.7であったが, それ以上を示す例でも9例中1例(11%)に精子回収が不可能であった。

2 染色体異常, DAZの検索

無精子症の患者のうち染色体検査を受けた19例中2例にKlinefelter syndrome を認め, 精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例で遺伝子検査を行った36例中2例にDAZの欠失を認めた。上記の異常を認めた症例には, 考えうるリスクを説明の上, 同意を得てTESE-

表3 TESE例での精巣病理診断と精子の回収成績

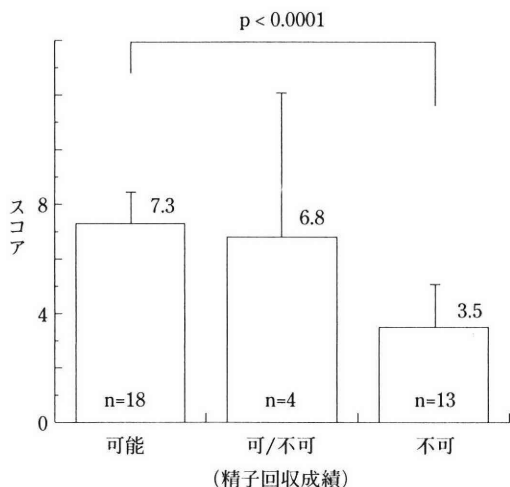
精巣病理診断*	症例数	Johnsen's score*	精子の回収		
			可能 ¹⁾	可/不可 ²⁾	不可能 ³⁾
Aspermatogenesis	2例	1.5 (1-2)	1	—	1
Hypospermatogenesis	14例	8.7±0.7 (8-9)	10	3	1
Maturation arrest		4.2±2.7 (2-6)			
Spermatid	3例		3	—	—
Spermatocyte	10例		3	1	6
Sertoli cell only Synd.	6例	2.0±0	1	0	5
未 検	4例	—	—	—	—
計	39例		18	4	13

*病理診断医による評価

1) 精子回収が常に可能であった場合

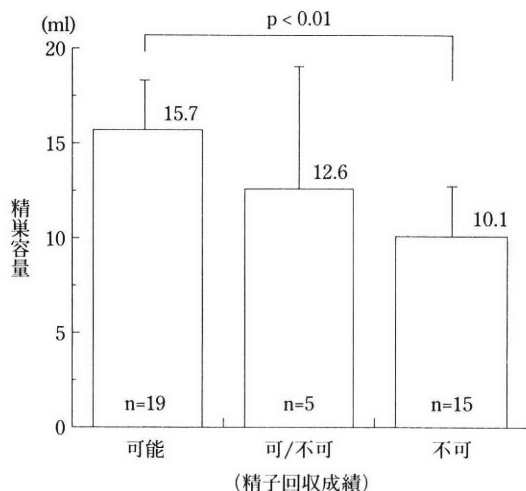
2) 精子の回収がある時は可能で, ある時は不可能であった場合

3) 精子の回収が常に不可能であった場合



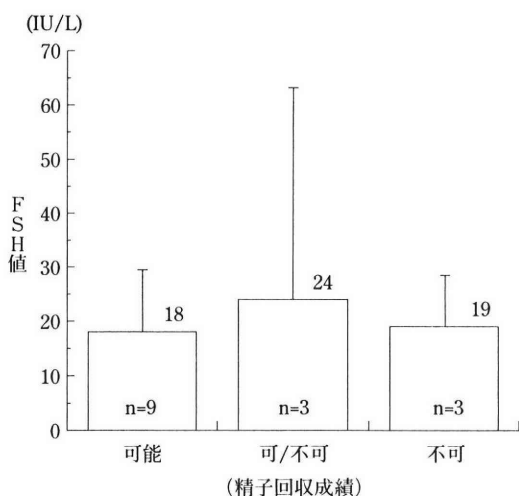
可能群と不可群の間に有意の差を認めた ($p < 0.0001$)。他の群間には有意の差を認めなかった。

図1 TESE例でのJonsen's scoreと精子回収成績



可能群と不可群の間に有意の差を認めた ($p < 0.01$)。他の群間には有意の差を認めなかった。

図3 TESE例での精巣容量と精子回収成績



各群間に有意の差を認めなかった。

図2 TESE例での血中FSH値と精子回収成績

考 察

不妊症診療における当科と泌尿器科との医療連携は、検査においては初診時の男性因子スクリーニング検査(精液検査の正常値をWHO提示の値に統一)、適応のある症例の染色体とDAZ検査、抗精子抗体検査である。抗精子抗体検査については両科で検査することを申し合わせたばかりで、症例数が僅少であるので報告を省いた。この理由は、当病院が県立病院であるために自費診療であるDAZ検査、抗精子抗体検査を扱えず、検査のスタートが立ち後れたことによる。治療においては、ARTの実施についての適応、手技、当科での成績について情報交換を行い、また治療法の選択が両科でできる機構になっている。それぞれの打ち合わせは定期的なカンファレンスを行っているだけでなく、相談が必要な事項が発生したときに随時協議の機会を持っている。

ARTとくに無精子症の治療でのMESAやTESEに於いては、両科の診療形態事情により妻の採卵後に夫からの精子の採取を行っている。夫婦どちらかの配偶子が採取されなければ治療が中止となる。事前に精子回収の成功を示唆するマーカーの存在は臨床上有用である。今回の検討では、Johnsen's scoreと精巣容量については精子回収が常に可能であった群と常に不可能であった群間に有意差が認められた。Johnsen's scoreが8以上、または精巣容量が16ml以上でそれぞれ94%、89%の症例で精子の回収が可能で

ICSIを実施したが、妊娠例は得られなかった。

3 精子凍結保存法の併用

MESA例では2例に実施し6治療周期で保存精子を使用した。妊娠例はなかった。TESE例では8例に実施し6治療周期で使用する。2例で妊娠し、1例が分娩、1例が子宮外妊娠となった。

あった。しかし、両者ともに精子回収が不可能なパラメーターとしては false negative が多く存在しよい指標とはなり得ないと考えられた。従って、Johnsen's score が8以上または精巣容量が10ml以上以外の場合には、当科での採卵可能率が92%であることを考えて、先に夫から精子を回収し、後に妻から採卵を行うことが望ましいと思われた。

凍結保存された精巣精子や精巣上体精子をもちいたARTの成績は非凍結精子の成績と同等と報告されている⁶⁾。当科での精子凍結保存法の実施率はTESEにおいては10.7%になっており、回収された精子の有効利用の点から考えると凍結保存法が有効でないと思われる場合でも積極的に本法を実施することが望ましいと考えられた。また、精子検体の有効な凍結保存法、未受精卵の有効な凍結保存法、並びに自然周期やclomid周期での採卵法の確立がなされれば、MESA、TESE法をより柔軟性をもって実施できるようになると思われた。

文 献

- 1) Silber SJ, Nagy ZP, Liu J, et al. (1994) Conventional *in-vitro* fertilization versus intracytoplasmic

- sperm injection for patients requiring microsurgical sperm aspiration. Hum Reprod 9:1705-1709
- 2) Schoysman R, Vanderzwalm P, Nijs M, et al. (1993) Pregnancy after fertilisation with human testicular spermatozoa [letter;comment]. Lancet 342:1237-1238
- 3) 荻原雅彦, 鈴木孝行, 伊東 学 他(1996) 無精子症患者に対する顕微授精施行時の精子回収法. 臨床泌尿器科 50:117-120
- 4) 柳田 薫, 星 和彦, 佐藤 章(1993) 新たな精子処理法 3) 精子凍結保存. 産科と婦人科 60:1463-1467.
- 5) Silber S.J, Alagappan LG and Page DC (1998) Y chromosome deletions in azoospermic and severely oligozoospermic men undergoing intracytoplasmic sperm injection after testicular sperm extraction. Hum Reprod 13:3332-3337
- 6) Van Steirteghem A, Nagy P, Janssenswillen C, et al. (1998) Results of intracytoplasmic sperm injection with ejaculated, fresh and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa. Hum Reprod 13 (suppl): 134-142

(受付: 2000年 6月23日)

(受理: 2000年 8月16日)

The Co-working of Medical Care in Male Infertility

Kaoru Yanagida, Haruo Katayose, Hiroyuki Yazawa, Yasuyuki Kimura, Syotaro Hayashi, Akira Sato, Takayuki Suzuki¹⁾, Masahiko Ogiwara¹⁾, Tomohiko Yanagida¹⁾ and Osamu Yamaguchi¹⁾

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,
Fukushima Medical University, Fukushima 960-1295, Japan

¹⁾Department of Urology, School of Medicine, Fukushima Medical University,
Fukushima 960-1295, Japan

From the viewpoint of university hospital, we reported the present situation of medical care co-working with the department of urology in the treatment of male infertility, with special reference to azoospermia. We discussed with the department of urology and have decided to carry out the screening test for male factor in all infertility couples visited to our hospital. The chromosome analysis and the detection of deleted in azoospermia (DAZ) were carried out in cases with oligozoospermia and azoospermia at urology. And we unified the indication of each ART. In MESA and TESE, we collected the spermatozoa from a husband after collection of oocytes according to clinical schedules of both departments. Since the rate of successful sperm collection from a husband was 64 % and the rate of successful oocytes collection from a wife was 92%, it was thought that the collection of spermatozoa should be carried out before oocyte collection. If the establishment of method of oocyte collection under natural cycle or clomid treatment cycle and *in vitro* mature of immature oocytes collected was done, it was thought that we got possible to execute MESA, TESE procedures for more flexibility.

Key words: MESA, TESE, male infertility

(Jpn J Fertil Steril 45:357-361 2000)

交叉性精管精管吻合術後，非吻合側造精機能障害精巣に 発生した精巣腫瘍の1例

A Case of Testicular Tumor Arising from the Dysfunctional Testis, Non-anastomosed Side of a Crossed Vasovasostomy

野澤 英雄

Eiyu NOZAWA

永尾 光一

Koichi NAGAO

原 啓

Hiroshi HARA

石井 延久

Nobuhisa ISHII

三浦 一陽

Kazukiyo MIURA

東邦大学医学部泌尿器科学第一講座

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

症例は初診時，31歳，男性，幼児期鼠径ヘルニア手術による右側医原性精管閉塞と左側精巣造精機能障害の合併による高度乏精子症に対する左尿道側精管と右精巣側精管との交叉性精管精管吻合術の施行により，精液所見は改善し2人の挙児を得た(AIHおよび自然妊娠)が，手術7年後に非吻合側の左精巣より腫瘍(seminoma)の発生をみた。

精巣容積は右側25ml，左側10ml，内分泌学的所見はFSH 5.2mIU/ml，LH 5.3mIU/ml，精液所見は精液量4.4ml，精子濃度17万/ml，精子運動率41%であった。AIH施行時，精液所見は精液量4.5ml，精子濃度1200万/ml，精子運動率59%であった。腫瘍発生時，腫瘍マーカーはhCG256mIU/ml，hCG-β 1.4ng/ml，内分泌学的所見はLH，FSHともに0.5mIU/ml以下，精液所見は精液量7.5ml，精子濃度11万/ml，精子運動率50%と再び悪化を認めた。

男性不妊症の診察にあたっては，造精機能障害と精巣腫瘍との関連について認識しておく必要があると考えられる。また自然な複数回の妊娠が可能なおから，精管閉塞を原因とした不妊症例において，精路再建手術は積極的に行うべき方法であると思われる。

キーワード：男性不妊症，精巣腫瘍，精管精管吻合術

(日不妊会誌 45:363-368 2000)

緒 言

我々は幼児期の右鼠径ヘルニア手術による右側精管閉塞と左側精巣萎縮の合併による高度乏精子症に対する左尿道側精管と右精巣側精管との交叉性精管精管吻合術の施行により，2人の挙児を得た後に，非吻合側の左側萎縮精巣より腫瘍の発生をみた症例を経験したので報告する。

症 例

患 者：31歳，男性。

主 訴：男性不妊症。

家族歴：特記すべきことなし。

既往歴：右鼠径ヘルニア根治術(2歳時)。

現病歴：1990年7月結婚。その後妊娠を認めず，不妊にて6月9日東邦大学大森病院リプロダクションセンターを受診した。

現 症：身長176.5cm，体重76.0kg，右下腹部に手術

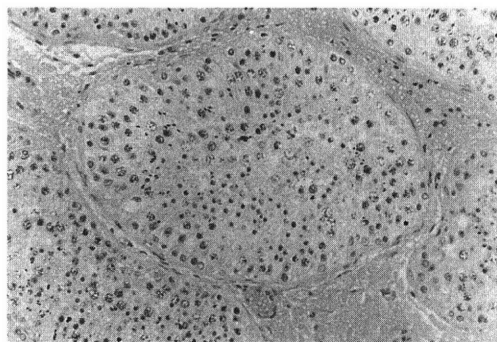
痕を認める以外、胸腹部に特記すべきことなし。精巣容積は左；10ml、右；25mlで両側精巣とも硬度は正常であった。また左精管は正常に、右精管は左より太く触知した。

検査所見：血液生化学および尿所見に特記すべきことはなかった。内分泌学的所見はFSH 5.2mIU/ml, LH 5.3mIU/ml, PRL 13.2ng/ml, testosterone 4.38ng/mlであった。精液所見は精液量4.4ml, 精子濃度17万/ml, 精子運動率41%であった。

精巣生検では右側はnormocellular, normospermatogenesisであった(図1)。左側はSertoli cellの目立つ萎縮した精細管のみの像であった(図2)。

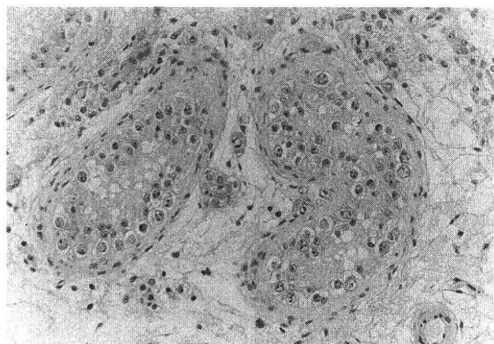
精管造影では左側精管および精嚢は正常に造影されたが、右側精管は鼠径部以降は造影されなかった(図3)。

以上から幼児期鼠径ヘルニア手術による医原性右側精管閉塞および左側精巣の造精機能障害の合併による高度乏精子症と診断した。



各段階の精系細胞を認め、ほぼ正常の精巣組織像と考えられる。

図1 右側精巣生検像(HE染色×200)



Sertoli cellの目立つ萎縮した精細管を認める。

図2 左側精巣生検像(HE染色×200)



左側は精管および精嚢が造影されるが、右側精管は鼠径部での造影途絶を認める(矢印)。

図3 精管造影

臨床経過

10月30日精路再建を目的に顕微鏡下精管精管吻合術を施行した。この際右尿道側精管は未熟で長さが短く、右精巣側精管との吻合は困難と思われたため、左尿道側精管と右精巣側精管との交叉性精管精管吻合術を施行した。術中精管造影を図4に示す。同年12月3日の精液検査では精液量7.0ml, 精子濃度15万/ml, 精子運動率0%であった。しかし1993



右精巣側精管よりの造影にて左側の精管・精嚢および膀胱が造影され、精路の交通性が確認できる。

図4 術中精管造影

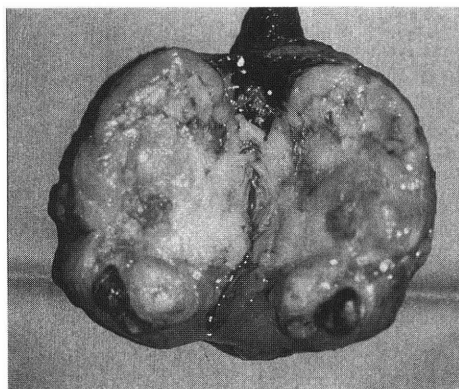
年3月18日以降無精子症となったため、同年7月15日再吻合術を施行した。同年8月26日の精液検査では精液量7.0ml、精子濃度1万/ml、精子運動率0%であったが、同年11月30日以降再び無精子症となった。6月17日精管閉塞を疑い精管造影を施行したが、造影剤の通過は良好で閉塞は確認できなかった。また精管造影施行時に得られた精子を用いてIVF(*in vitro fertilization*)を試みたが成功しなかった。同年7月28日の精液検査では精液量3.8ml、精子濃度1300万/ml、精子運動率15%、同年10月13日には精液量4.5ml、精子濃度1200万/ml、精子運動率59%となった。そして8月25日にはAIH(*artificial insemination with husband's semen*)にて、1998年11月18日にはART(*assisted reproductive technology*)によらない性交にて2人の挙児を得た。

4月22日左側精巣腫大にて当科を再び受診した。触診にて左側精巣は鶏卵大に腫大し石様硬、右側は正常であった。血液生化学ではLDH575IU/mlと高値を認めた。腫瘍マーカーはAFP1.5ng/mlと正常であったが、hCGおよびhCG- β はそれぞれ256 mIU/ml、1.4ng/mlと高値を示した。また内分泌学的所見はFSH 0.5mIU/ml以下、LH 0.5mIU/ml以下、PRL 4.7ng/ml、testosterone 7.73ng/mlであり、LH、FSHは著明に低値であった。

陰嚢部超音波検査では左精巣内に低エコー性の結節状腫瘤を認め、超音波ドプラ法では同部の血流増加が確認された。

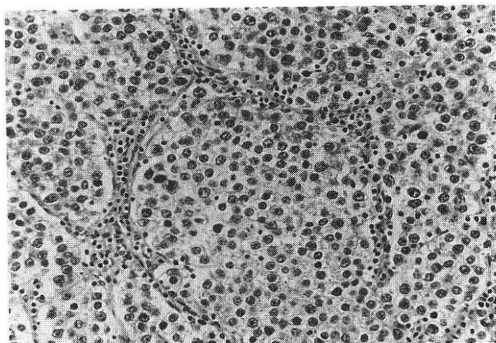
以上から左側精巣腫瘍の診断のもと4月30日左精巣高位摘除術を施行した。

摘出検体剖面では左精巣実質は白色充実性分葉状の65×50mm大の腫瘍に置換されていた(図5)。病理学的にはseminomaであった(図6)。遠隔転移などは



分葉傾向をみる白色充実性腫瘍を認める。

図5 摘出検体剖面



間質にリンパ球浸潤を認めるseminomaの像である。

図6 摘出検体組織像(HE染色×200)

認めず病期はI期¹⁾であった。術前の精液所見は精液量7.5ml、精子濃度11万/ml、精子運動率50%であった。

考 察

男性不妊症外来では幼児期鼠径ヘルニア手術に起因する精管閉塞を少なからず経験する。Matsudaら²⁾によると小児期に鼠径ヘルニア手術の既往を認める男性不妊症患者54人のうち、片側に精管閉塞を認めた症例は15人(27.8%)であり、極めて高率であったと報告している。片側精管閉塞症例では対側の精巣から精子が排出されるので不妊症となることはないが、対側精巣に何らかの異常を合併した場合は不妊症となる。本症例においては閉塞側精巣(右側)の造精機能はほぼ正常であったにもかかわらず、開通側精巣(左側)の造精機能障害が高度であったために高度乏精子症を呈した。そこで我々は右側精巣との交通性が再建されれば精液所見の改善が得られると考え精路再建を試みた。しかし右尿道側精管は短く同側吻合は困難であったために、右精巣側精管と左尿道側精管とを陰嚢部で交叉性に吻合し、幸いにも2人の挙児を得ることができた。松田ら³⁾も片側閉塞症例で、対側精巣機能が不良の場合には、鼠径部での吻合にこだわらず、交叉性精管精管吻合術を選択するのも良いと述べている。

鼠径ヘルニア手術による精管閉塞に対する精管内や精巣内よりの回収精子を用いたICSI(*intracytoplasmic sperm injection*)は、挙児を得るための新たな治療法となりつつある。しかしこの方法には受精精子の人為的選択、高額な費用、流産率が高いなどの問題が存在する。一方顕微鏡下での精路再建手術は自然で生理的な複数回の妊娠が可能なこと、保険治療であること、手術中に運動精子が得られれば後

のARTに備えて凍結保存もできることなどの利点も多い。以上から我々は精管閉塞を原因とした不妊症例においては精路再建手術を第一選択とすべきであると考えている。

一方、精巣腫瘍症例の造精機能は腫瘍発見時にすでに低下しているとの報告⁴⁾を多数認めるが、この造精機能の低下が腫瘍発生の原因となっているのか、あるいは腫瘍による影響であるのかは未だに明確にされていない。後藤ら⁵⁾は対側陰嚢内温度の上昇、免疫学的機序の関与および血清hCG値の上昇といった腫瘍そのものの影響によるという考えがある一方で、停留精巣からの腫瘍化にみられるように、腫瘍の発生時すでに造精機能が障害されていることも多いと報告している。

Skakkebaekら⁶⁾は男性不妊症患者の精巣生検で atypical germ cell を発見した。のちにこの精巣から embryonal carcinoma が発生したことより、この atypical germ cell が腫瘍化すると考え、これを carcinoma in situ (CIS) として取り扱うべきであると主張した。CIS から精巣腫瘍への移行について von der Maase⁷⁾は経過観察のみでは19例中7例(36.8%)に、Pryor⁸⁾は8例中6例(75.0%)に認められたと報告しており、一般的には5年以内にCISの50%が精巣腫瘍に進展するとの報告が多い^{6,9,10)}。一方男性不妊症患者の精巣生検にみられるCISの頻度は0.4~26.7%^{7,11-13)}と報告されており、このことから男性不妊症と精巣腫瘍は密接に関係している可能性が示唆されている。男性不妊症を主訴に偶然に精巣腫瘍を発見したとの

報告はいくつか認められる¹⁴⁾が、本症例の様に精巣腫瘍の発生する以前の精巣の組織学的検索や精液所見の推移を観察できたとの報告は、欧米および本邦において我々の検索した限り認めなかった。

本症例では腫瘍発生以前の左側精巣生検組織を retrospective に検索してみたが、atypical germ cell の存在は確認できなかった。

図7に精液所見の経過を示す。一般に精路再建成功後、精液所見は1年程度かけて徐々に改善する。とくに精巣上体の機能は閉塞解除後直ちに回復しないために、精巣上体を通過する際に獲得される精子の運動率はやや遅れて改善してくるとされる^{15,16)}。本症例では再吻合術後精液所見の改善を認めず、術後11カ月目に施行した精管造影の約1カ月後に精液中への精子の出現をみた。このことから本症例では精管造影時の精管内への通水による wash out 効果により精液所見の改善が得られたと推測される。しかし精子出現時の精子運動率は低く、精子運動率の改善は精子濃度の改善にやや遅れるとする報告を支持した。また本症例の2回目の妊娠が自然妊娠であったことより、1998年当初の精液所見は不明であるが、1994年時よりも改善していた可能性が高いと推測される。そしてその後の精巣腫瘍の発生により精液所見は再び悪化を示したと考えられる。腫瘍によるhCG産生は精巣でのtestosteroneとestradiolの生成を刺激し、negative feedbackを介して性腺刺激ホルモンの分泌低下をきたし精子形成を障害しようと考えられており^{17,18)}、本症例も腫瘍の産生するhCGにより血清

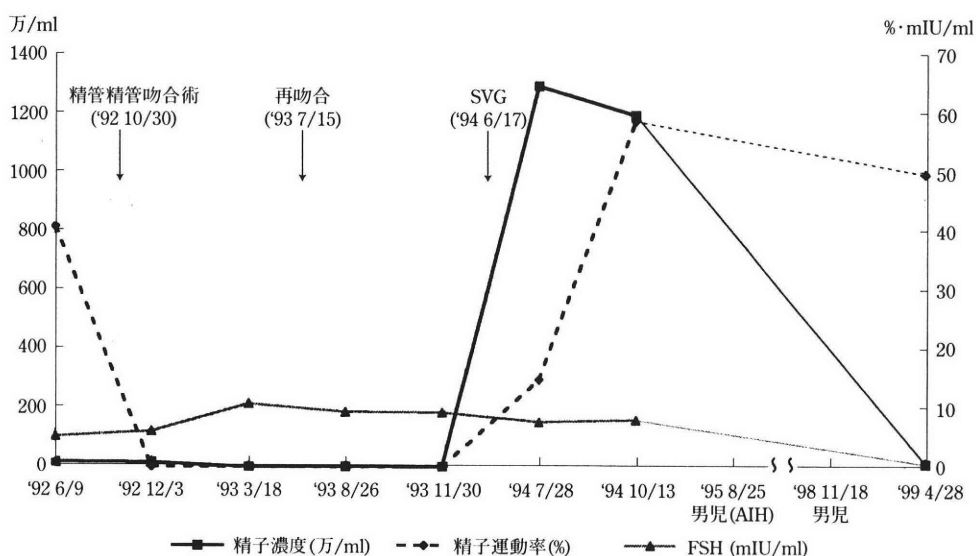


図7 精液所見と血清FSH値の推移

FSHおよびLHの著明な抑制をきたし、造精機能障害が惹起されたと推測される。

このように男性不妊症の診察にあたっては、造精機能障害と精巣腫瘍との関連について認識しておく必要があると考えられる。また自然な複数回の妊娠が可能なことから、精管閉塞を原因とした不妊症例において、精路再建手術は積極的に行うべき方法であると思われる。

本論文の要旨は第121回日本不妊学会関東地方部会において発表した。

文 献

- 1) (1997) 精巣腫瘍取り扱い規約, 日本泌尿器科学会・日本病理学会編, 第2版, 金原出版, 東京, pp28-29
- 2) Matsuda T, Horii Y and Yoshida O (1992) Unilateral obstruction of the vas deferens caused by childhood inguinal herniorrhaphy in male infertility patients. *Fertil Steril* 58:609-613
- 3) 松田公志, 六車光英, 日浦義仁 (1998) 精管精管吻合術: 小児期鼠径ヘルニア術後精管閉塞症例の診断と治療. *泌尿外* 11:669-674
- 4) Ho GT, Gardner H, Dewolf WC, et al. (1992) Influence of testicular carcinoma on ipsilateral spermatogenesis. *J Urol* 148:821-825
- 5) 後藤修一, 高木健太郎, 福井 巖 他 (1987) 精巣腫瘍患者の対側精巣組織の検討. *泌尿紀要* 33: 1830-1834
- 6) Skakkebaek NE (1978) Carcinoma in situ of the testis. *Histopathology* 2:157-170
- 7) von der Maase H, Rorth M, Walbom-Jorgensen S, et al. (1986) Carcinoma in situ of contralateral testis in patients with testicular germ cell cancer: study of 27 cases in 500 patients. *Brit Med J* 293:1398-1401
- 8) Pryor JP, Kathrine M, Cameron CP, et al. (1983) Carcinoma in situ in testicular biopsies from men presenting with infertility. *Brit J Urol* 55:780-784
- 9) Reinberg Y, Manivel JC and Fraley EE (1989) Carcinoma in situ of the testis. *J Urol* 142:243-247
- 10) Skakkebaek NE, Berthelsen JG and Muller J (1982) The undescended testis. *Urol Clin North Am* 9:377-385
- 11) Krabbe S, Skakkebaek NE, Berthelsen JG, et al. (1979) High incidence of undetected neoplasia in maldescended testis. *Lancet* 1:999-1000
- 12) Andres TL, Trainer TD and Leadbetter GW (1980) Atypical germ cells preceding metachronous bilateral testicular tumor. *Urology* 15:307-309
- 13) Pederson KV, Boiesen P and Zetterlund (1987) Experience of screening for carcinoma in situ of the testis among young men with surgically corrected maldescended testes. *Int J Androl* 10:181-185
- 14) 野澤英雄, 永尾光一, 原 啓 他 (1999) 男性不妊症を主訴とした精巣腫瘍症例の検討. *日不妊会誌* 44:165-171
- 15) Belker AM, Thomas AJ Jr, Fuchs EF, et al. (1991) Result of 1469 microsurgical vasectomy reversals by vasovasostomy study group. *J Urol* 145:505-511
- 16) Silber SJ (1984) Microsurgery for vasectomy reversal and vasoepididymostomy. *Urology* 23:505-524
- 17) Carter M (1993) Fertility in the testicular cancer patient. *World J Urol* 11:70-75
- 18) Presti JC, Herr HW and Carroll PR (1993) Fertility and testis cancer. *Urol Clin North Am* 20:173-179

(受付: 2000年 7 月 4 日)

(受理: 2000年 8 月 16 日)

**A Case of Testicular Tumor Arising from the Dysfunctional Testis,
Non-anastomosed Side of a Crossed Vasovasostomy**

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

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

We experienced a case of testicular tumor developing in the testis with spermatogenic dysfunction. The patient was a 31-year-old male with a chief complaint of male infertility and a history of right inguinal herniorrhaphy in childhood. His right and left testicular volume was 25ml and 10ml respectively. His serum FSH level was 5.2mIU/ml, and LH 5.3mIU/ml. His semen volume was 4.4ml, sperm density was 170,000/ml, and sperm motility rate was 41%. Through biopsy, whereas his right testis was normal, the left testis showed marked depression of spermatogenic function. Atypical germ cell were not observed in both side. Thus his impaired semen was caused by obstruction of the right vas deferens at inguinal herniorrhaphy and by spermatogenic dysfunction of the left testis.

In 1992, crossed vasovasostomy using the left-side vas deferens from the left testis and the right-side vas deferens toward the urethra was performed. Postoperatively seminal parameters improved markedly: semen volume 4.5ml, sperm density 12million/ml and sperm motility rate 59%. Firstly through AIH and secondary through natural coitus, he got 2 children.

In 1999, a tumor (seminoma) was found in the dysfunctional left testis. Tumor marker levels were hCG 256mIU/ml and hCG- β 1.4ng/ml. Serum LH and FSH level was 0.5mIU/ml or less. And as for seminal parameters, sperm density was depressed to 110,000/ml, sperm motility rate to 50%.

At examination of male infertility patients, it is necessary to consider coexistence of spermatogenic dysfunctional testis and testicular tumor.

Key words: male infertility, testicular tumor, vasovasostomy

(Jpn J Fertil Steril 45:363-368 2000)

第 45 回

日本不妊学会学術講演会

プログラム・講演抄録集

会 期 平成12年11月23日(木・祝), 24日(金)
会 場 神 戸 国 際 会 議 場

会 長 守 殿 貞 夫
(神戸大学医学部泌尿器科学教室)

第45回日本不妊学会総会および学術講演会 を開催するにあたって

第45回日本不妊学会総会および学術講演会を、平成12年11月23日(木)および24日(金)の両日にわたって神戸市で開催させていただきます。神戸市での開催は本会の理事長でもありました故石神襄次名誉教授が昭和51年に第21回日本不妊学会を開催させていただいて以来の24年ぶりということになります。この間の不妊治療は、畜産を中心とした生物学での基礎知識・技術を臨床応用した生殖補助技術(ART)を中心に目覚ましい進歩を遂げてきました。

20世紀の最後の年に当たります本年は、来る21世紀の不妊治療がいかにあるべきかを考える節目になる年であると考えます。将来の不妊治療の理想像を思い描くときに重要なのは、現在まで我々は何をなしてきたかを振り返る事からと考え、学会のメインテーマを『真の意味での不妊治療はどこまで進んだか』とさせていただきます。

招請講演ではTapanainen教授に『FSH receptor mutation and male infertility』、Petraglia教授には『Inhibins, activins and female reproduction』の演題でご講演いただきます。また、特別講演で教室の岡田がメインテーマであります『真の意味での男性不妊治療はどこまで進んだか』について講演いたします。さらに21世紀にもひきつづき大きな問題となる環境ホルモンについて堤 治教授に『内分泌攪乱物質と生殖能』と題してご講演いただきます。教育講演としては生殖医療に携わる者が避けて通れないgenetic counselingに関して佐藤孝道教授に『genetic counselingの目的と限界』について、また動物学の分野から佐藤英明教授に『卵形成と排卵』の演題でご講演いただきます。シンポジウムは『病態からみた不妊治療の適応と限界』と『不妊治療における内分泌学の関わりとその進歩』の2題を企画し、ワークショップは『精液検査の標準化はどこまで可能か』と『明日の不妊症診療へ』の2題を取り挙げました。

一般演題は318題の多数のご応募をいただきましたが、同時進行する会場数なるべく少なくするようなプログラム作りを心掛けましたので、口演会場は臨床演題を中心に5会場と従来より少なくなりました。また基礎的な演題は十分な討論時間を確保するために、ポスターセッションにまとめさせていただきました。ポスターセッションは、モデレーターが付き発表・討論のあるmoderated posterと、討論に重きをおいたunmoderated posterの2部門に分けました。従来の不妊学会の形式とは少し異なり、多少の戸惑いがあるかとは思いますが、ご参加いただきました皆様方の熱い討論で盛り上げていただけるものと信じております。

神戸はあの忘れられない平成7年の阪神・淡路大震災から丸5年を経過し、その傷跡も随分復興し、以前の美しい町並みに殆どもどっております。近くには世界遺産の姫路城や、近代建築の粹であります明石海峡大橋もひかえております。

微力ではありますが教室・同門を挙げて歓迎の準備をいたしましたので、会員の皆様方の多数のご来神を心よりお待ち申し上げます。

平成12年10月

第45回日本不妊学会
会長 守 殿 貞 夫

日 程 概 要

学術講演会

会 期：平成12年11月23日(木・祝)，24日(金)

会 場：神戸国際会議場 〒650-0046 神戸市中央区港島中町6-9-1

TEL：078-302-5200 FAX：078-302-6485

総合受付 1階 ロビー (ホワイエ)

第1会場 1階 メインホール (口演)

第2会場 3階 国際会議室 (口演)

第3会場 4階 401・402会議室 (口演)

第4会場 5階 502会議室 (口演)

第5会場 5階 501会議室 (口演)

第6会場 5階 503・504・505会議室 (示説・ポスター)

幹 事 会

日 時：平成12年11月22日(水) 15：00～16：30

場 所：ホテルオークラ神戸・1階 松風

理 事 会

日 時：平成12年11月22日(水) 16：30～18：00

場 所：ホテルオークラ神戸・1階 松風

総 会

日 時：平成12年11月23日(木・祝) 14：00～14：40

場 所：神戸国際会議場・1階 メインホール

評議員会

日 時：平成12年11月23日(木・祝) 12：05～12：55

場 所：ホテルゴーフル神戸・2階 バレンシア

総懇親会

日 時：平成12年11月23日(木・祝) 18：40～20：30

場 所：神戸ポートピアホテル・地下1階 偕楽

新理事会

日 時：平成12年11月24日(金) 12：05～13：00

場 所：神戸ポートピアホテル・地下1階 和楽

ホテルオークラ神戸 〒650-8560 神戸市中央区波止場町2-1 メリケンパーク内

TEL：078-333-0111 FAX：078-333-6673

神戸ポートピアホテル 〒650-0046 神戸市中央区港島中町6-10-1

TEL：078-302-1111 FAX：078-302-6877

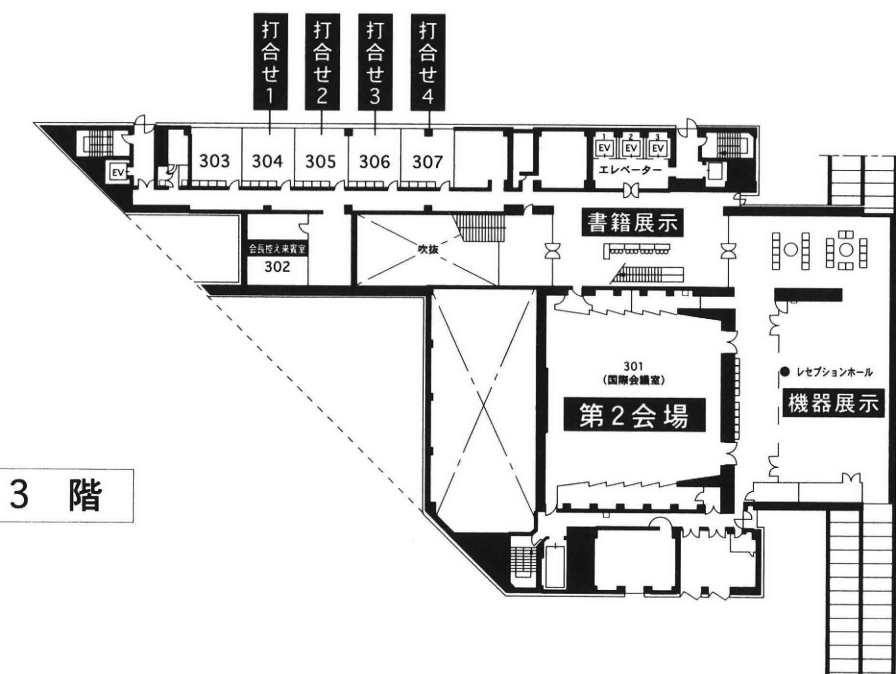
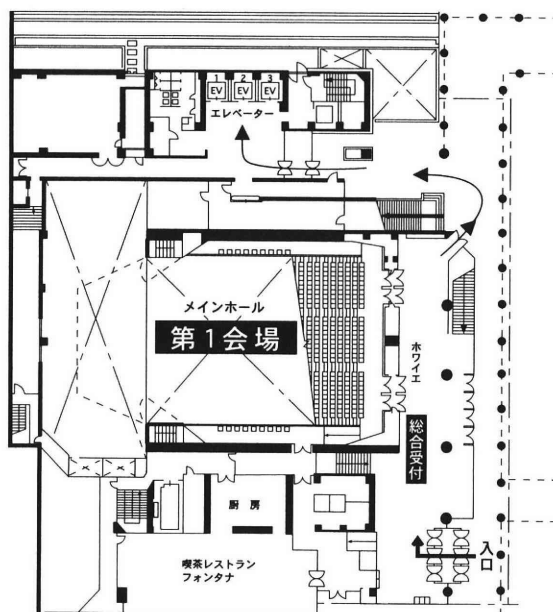
ホテルゴーフル神戸 〒650-0046 神戸市中央区港島中町6-1

TEL：078-303-5555 FAX：078-303-5503

会場案内図 (1)

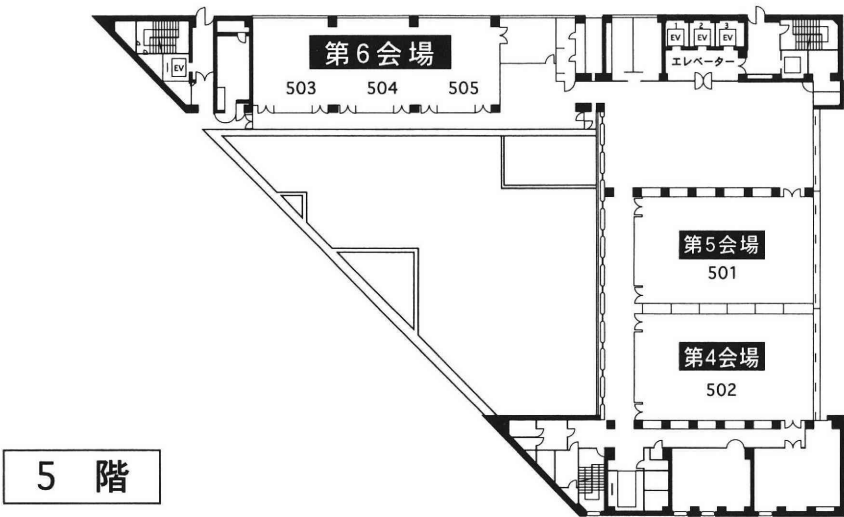
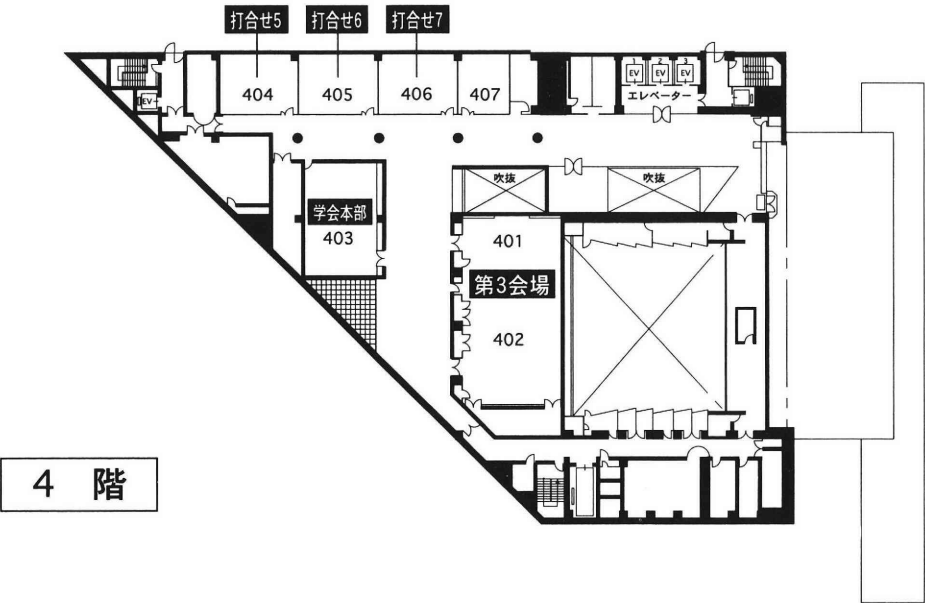
1 階

- 第2会場 (3階)
 第3会場 (4階)
 第4会場 (5階)
 第5会場 (5階)
 第6会場 (5階)
- エレベーターを
ご利用下さい。



3 階

会場案内図 (2)



学会参加者へのお知らせ

受付・参加費

参加者は学会参加費として10,000円を、神戸国際会議場の総合受付にてお納め下さい。領収書兼用の名札を参加費と引き換えにお渡しします。各自で所属・氏名などを記入のうえ、よく見える位置にお付け下さい。

受付時間（11月23日・24日とも）8：15～

プログラム・予稿集

学会誌（第45巻第4号）が講演抄録集を兼ねていますので当日ご持参下さい。

総懇親会のご案内

下記のとおり総懇親会を開催しますので、多数のご参加をお待ちいたしております。

日 時：平成12年11月23日（木）18：40～20：30

場 所：神戸ポートピアホテル・地下1階 偕楽

参加費：6,000円（神戸国際会議場の会場受付にてお支払下さい）

日本産科婦人科学会認定医シールの発行

本学会に出席した場合、認定医Aシールを交付しますので、会場で受け取って下さい。

一般講演者へのお知らせ

口頭発表

講演時間

1) 講演時間は9分をお願いいたします。

講演終了の1分前に青ランプで予告し、講演終了は赤ランプでお知らせします。

各発表者は講演時間を厳守して下さい。

2) スライドの送りは口頭で明確に指示して下さい。

3) 次演者は、早めに次演者席に着席して下さい。

質疑応答

- 1) 質疑応答は1演題につき**3分**でお願いいたします。
- 2) 質問がある場合は、座長の許可を得てから所属と氏名を明らかにした上で発言して下さい。
- 3) 質疑応答は各セッションの講演時間終了後にまとめて行うことがありますので、座長の指示があるまで会場内でお待ち下さい。
- 4) 発表は討論用のマイクを使用し、演者の回答が終わるまでマイクのそばでお待ち下さい。

スライド

- 1) スライドは35mm判、標準マウント(50mm×50mm)に入れ、各自でスライドホルダーに挿入し方向、順番など誤りがないようにご確認ください。
- 2) スライド映写機は1台使用します。スライド枚数は1題につき**20枚以内(横判のみ)**とし、それ以上は受け付けません。
- 3) 発表者は講演の1時間前までに、各会場のスライド受付にスライドを提出して下さい。
- 4) セッション終了後、受領証と引換にスライドを返却します。

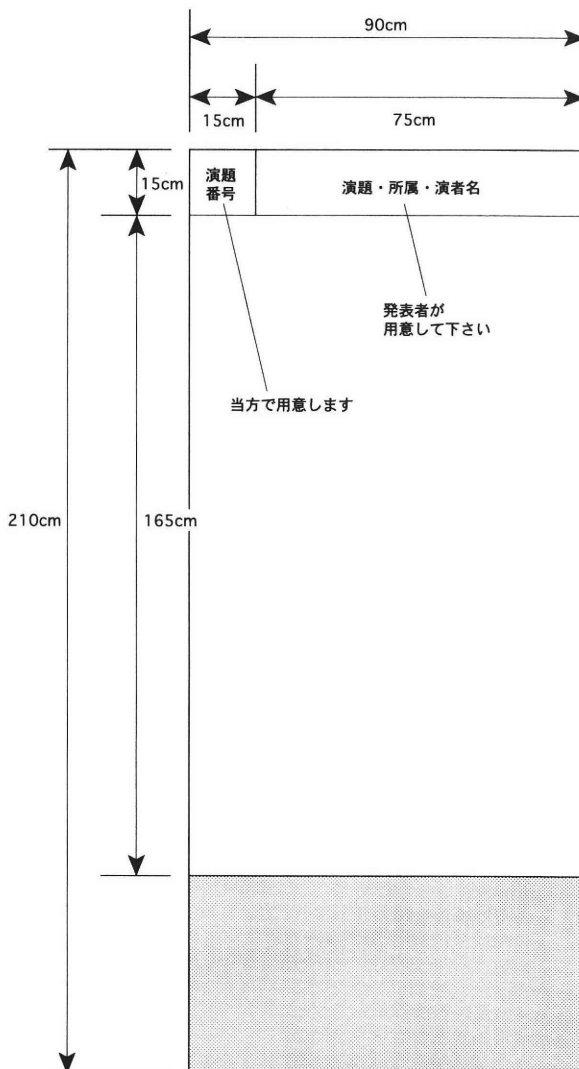
示説発表

ポスター作成と貼付について

- 1) パネルの有効面積は横90cm×縦165cmです。上部の演題番号は用意します。
演題・所属・演者名については、横75cm×縦15cmで各自でご用意下さい。
- 2) 貼付に必要な文具類(画鋏等)を用意します。
- 3) 内容の配置は自由ですが、目的・方法・結果・考察・結論の順にして下さい。
- 4) 離れていても読める様に字の大きさを18mm×18mm以上とし、図表も大きく作製し、読みやすく書いて下さい。
- 5) ポスターの貼付時間と撤去時間は下記の通りです。撤去時間を過ぎても撤去されていないポスターは処分します。

貼付時間 8:30～9:30
(11月23日・24日両日とも)

撤去時間 16:00～17:00
(11月23日・24日両日とも)



発表について

Moderated Poster部門

発表時間

- 1) ポスターの内容のサマリーを3分間にまとめてご発表ください。
- 2) 各発表者は時間を厳守して下さい。

質疑応答

- 1) 質疑応答は1演題につき3分でお願いします。
- 2) 質問がある場合は、座長の許可を得てから所属と氏名を明らかにした上で発言して下さい。

Unmoderated Poster部門

質疑応答

発表者は各自の発表日の13:00～14:00の間、ポスターの前に待機し、質問のある場合は自由に質疑・討論して下さい（11月23日・24日両日とも）。

座長へのお知らせ

- 1) 座長の方は、担当セッションの開始30分前までに各会場受付にお立ち寄り下さい。
- 2) 次座長は次座長席にご着席下さい。
- 3) 時間厳守のうえ、すみやかな進行にご協力をお願いします。

プ ロ グ ラ ム

日 程 表

招 請 講 演

特 別 講 演

教 育 講 演

シンポジウム

ワークショップ

一 般 演 題

(口 頭 発 表)

一 般 演 題

(示説発表-moderated poster)

一 般 演 題

(示説発表-unmoderated poster)

第1日 (11月23日・木)

(377) 67

[illegible]

日程表

第2日 (11月24日・金)

	口頭発表（国際会議場）					示説発表（国際会議場）			新理事会	
	第1会場 メインホール	第2会場 国際会議室	第3会場 401・402	第4会場 502	第5会場 501	moderated			unmoderated	会場C 和 楽
						第6会場			第6会場 503・504・505	
	503	504	505							
9:00	9:00 ART 5 座長：加藤 結 (O-90～O-94)	9:00 ART 7 座長：豊田長康 (O-100～O-104)	9:00 授精・着床 1 座長：星 和彦 (O-110～O-114)	9:00 精子・排精 2 座長：宮川征男 (O-120～O-124)	9:00 内視鏡・手術 1 座長：工藤隆一 (O-130～O-134)					
	10:00 ART 6 座長：平原史樹 (O-95～O-99)	10:00 ART 8 座長：石川勝男 (O-105～O-109)	10:00 授精・着床 2 座長：田中憲一 (O-115～O-119)	10:00 精子・排精 3 座長：並木幹夫 (O-125～O-129)	10:00 内視鏡・手術 2 座長：大濱結三 (O-135～O-139)					
11:00	11:00 特別講演2 座長：島 博基 演者：岡田 弘	11:00	11:00	11:00	11:00					
11:30	11:30 招請講演2 座長：武谷雄二 演者：Felice Petraglia									
12:00	12:00									
12:05		12:05	12:05 ランチョン セミナー 5 座長：大野洋介 演者：本田育子 (日本シエーリング)	12:05 ランチョン セミナー 6 座長：丸尾 猛 演者：Bruno Lunenfeld (セローノジャパン)	12:05 ランチョン セミナー 7 座長：牧野恒久 演者：武内裕之 (アヘンティスファーマ)			授精・着床、 ART (UP-54～UP-92)		
								診断・検査、 内視鏡、 手術 (UP-93～UP-104)	12:05	
12:55		12:55						統計、 その他 (UP-105～UP-119)	新理事会 (和楽)	
						13:00 ポスター討論 授精・着床、 ART 1, 2 座長：田中忠夫 (P-31～P-35) 座長：金山尚裕 (P-36～P-40)	13:00 ポスター討論 授精・着床、 ART 3 座長：平川 昇 (P-41～P-45)	13:00 ポスター討論 統計、 その他 1, 2 座長：梅咲直彦 (P-51～P-55) 座長：石丸忠之 (P-56～P-60)	13:00	
14:05	14:05 ワークショップ1 座 長：吉田英機 パネリスト： 奥野 博 松宮清美 岩本晃明 石島純夫 岡田 弘 兼子 智	14:05 ワークショップ2 座 長：牧野恒久 パネリスト： 小澤伸晃 安藤紀子 松林秀彦 杉浦真弓							14:00	
15:55	15:55 閉会の辞	15:55		第5会場 401のみ						
16:00	16:00			16:00 男性不妊 手術手技 Forum					16:00	
18:00				第5会場 402のみ						
18:30				懇親会						
20:55					20:55					

招 請 講 演 1

11月23日(木) 14:40～15:10

FSH receptor mutation and male infertility.

演者：Prof. Juha Tapanainen

(Department of Obstetrics and Gynecology,
Oulu University Hospital, Finland)

座長：森 崇英 (京都大学名誉教授)

招 請 講 演 2

11月24日(金) 11:30～12:00

Inhibins, activins and female reproduction.

演者：Prof. Felice Petraglia

(Chair of Obstetrics and Gynecology,
University of Siena, Siena, Italy)

座長：武谷 雄二

(東京大学医学部産科婦人科学教室教授)

特 別 講 演 1

11月23日(木) 15:10～15:40

内分泌攪乱物質と生殖能

演者：堤 治

(東京大学医学部附属病院分院産科婦人科学教室教授)

座長：青野 敏博

(徳島大学医学部産科婦人科学教室教授)

特 別 講 演 2

11月24日(金) 11:00～11:30

真の意味での男性不妊治療はどこまで進んだか

演者：岡田 弘 (神戸大学医学部泌尿器科学教室講師)

座長：島 博基 (兵庫医科大学泌尿器科学教室教授)

教 育 講 演 1

11月23日(木) 15:40～16:10

Genetic counselingの目的と限界

演者：佐藤 孝道 (虎の門病院産婦人科部長)

座長：中村 幸雄 (杏林大学医学部産科婦人科学教室教授)

教 育 講 演 2

11月23日(木) 15:40～16:10

卵形成と排卵

演者：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)

座長：今井 裕 (京都大学農学部教授)

シンポジウム1

11月23日(木) 16:10～18:30

病態からみた不妊治療の適応と限界

座長：香山 浩二（兵庫医科大学産科婦人科学教室）

松田 公志（関西医科大学泌尿器科学教室）

1) hMG-hCG療法の問題点

山辺 晋吾（神戸大学医学部産科婦人科学教室）

2) 卵胞発育刺激法における low quality oocyte の治療の試み

齊藤 英和（山形大学医学部産科婦人科学教室）

3) 造精機能障害の評価とARTへの応用

小森 慎二（兵庫医科大学産科婦人科学教室）

4) 精索静脈瘤の外科的治療の適応と限界

藤澤 正人（神戸大学医学部泌尿器科学教室）

5) 精路閉塞および性機能障害による男性不妊

永尾 光一（東邦大学医学部第一泌尿器科学教室）

シンポジウム2

11月23日(木) 16:10～18:30

不妊治療における内分泌学の関わりとその進歩

座長：奥山 明彦

（大阪大学大学院医学系研究科臓器制御医学器官
制御外科学〈泌尿器科〉）

吉村 泰典（慶應義塾大学医学部産科婦人科学教室）

1) 摂食調節障害と視床下部・下垂体機能

苛原 稔（徳島大学医学部産科婦人科学教室）

2) 不妊と甲状腺ホルモンー卵胞発育と絨毛機能へのかかわりー

松尾 博哉（神戸大学医学部産科婦人科学教室）

3) 成長ホルモンの新しい標的臓器としての精巣

神崎 正徳（神戸大学医学部泌尿器科学教室）

4) 生殖機能とレプチン

佐川 典正

（京都大学大学院医学研究科婦人科学産科学教室）

5) 不妊症におけるインヒピン、アクチピンの意義

伊藤 理廣（群馬大学医学部産科婦人科学教室）

ワークショップ1

11月24日(金) 14:05～15:55

精液検査の標準化はどこまで可能か

座長：吉田 英機（昭和大学医学部泌尿器科学教室）

1) 精液採取条件にかかわる諸問題

奥野 博

（京都大学大学院医学研究科器官外科学講座泌尿器病態学）

2) 精子濃度測定における目視下と自動化での比較

松宮 清美

（大阪大学大学院医学系研究科臓器制御医学器官制御外科学〈泌尿器科〉）

3) 精子運動能測定と精子形態判定の自動化へ向けて

岩本 晃明（聖マリアンナ医科大学泌尿器科学教室）

石島 純夫

（東京工業大学生命理工学部研究科生物プロセス専攻）

4) 新しい精子濃度自動測定装置

岡田 弘（神戸大学医学部泌尿器科学教室）

5) ヒト精液検査の標準化へ向けてー将来への展望ー

兼子 智（東京歯科大学市川総合病院産婦人科）

ワークショップ2

11月24日(金) 14:05～15:55

明日の不育症診療へ

座長：牧野 恒久（東海大学医学部産婦人科学教室）

1) 染色体異常と不育症

小澤 伸晃（慶應義塾大学医学部産婦人科学教室）

2) 内分泌機能失調と不育症

安藤 紀子（横浜市立大学医学部産婦人科学教室）

3) 抗リン脂質抗体症候群を中心に

松林 秀彦（東海大学医学部産婦人科学教室）

4) 不育症における免疫機構の関与

ー3回以上連続流産回数別の習慣流産患者に対する免疫療法の効果ー

杉浦 真弓（名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室）

第1日 11月23日 (木)

一般演題

(口頭発表)

第1会場「メインホール」

ART 1

〔演題O-1～O-5〕 9:00～10:00 座長 木下 勝之 (埼玉医大・婦)

ART 2

〔演題O-6～O-10〕 10:00～11:00 座長 野田 洋一 (滋賀医大・婦)

ART 3

〔演題O-11～O-15〕 11:00～12:00 座長 佐藤 章 (福島県立医大・婦)

第2会場「国際会議室」

子宮内膜症

〔演題O-16～O-20〕 9:00～10:00 座長 植木 實 (大阪医大・婦)

妊娠・流産・不育

〔演題O-21～O-25〕 10:00～11:00 座長 荒木 勤 (日本医大・婦)

卵管・子宮

〔演題O-26～O-30〕 11:00～12:00 座長 麻生 武志 (東京医歯大・婦)

第3会場「401・402会議室」

卵巣・性ホルモン 1

〔演題O-31～O-35〕 9:00～10:00 座長 藤本征一郎 (北海道大・婦)

卵巣・性ホルモン 2

〔演題O-36～O-40〕 10:00～11:00 座長 鈴森 薫 (名古屋市大・婦)

生殖免疫

〔演題O-41～O-45〕 11:00～12:00 座長 倉智 博久 (山形大・婦)

中枢性ホルモン

〔演題O-46～O-49〕 13:00～14:00 座長 森 宏之 (帝京大・婦)

第4会場「502会議室」

精巣・性ホルモン 1

〔演題O-50～O-54〕 9:00～10:00 座長 内藤 克輔 (山口大・泌)

精巣・性ホルモン 2

〔演題O-55～O-59〕 10:00～11:00 座長 田中 啓幹 (川崎医大・泌)

精巣・性ホルモン 3

〔演題O-60～O-64〕 11:00～12:00 座長 伊藤 晴夫 (千葉大・泌)

精子・排精 1

〔演題O-65～O-69〕 13:00～14:00 座長 穂坂 正彦 (横浜市大・泌)

第5会場「501会議室」

卵子・排卵・胚 1

〔演題 O-70～O-74〕 9:00～10:00 座長 寺川 直樹（鳥取大・婦）

卵子・排卵・胚 2

〔演題 O-75～O-79〕 10:00～11:00 座長 高山 雅臣（東京医大・婦）

診断・検査

〔演題 O-80～O-84〕 11:00～12:00 座長 玉舎 輝彦（岐阜大・婦）

ART 4

〔演題 O-85～O-89〕 13:00～14:00 座長 西島 正博（北里大・婦）

一 般 演 題

（示説発表—moderated poster）

第6会場「503・504・505会議室」

卵巣・性ホルモン，卵子・排卵・胚，卵管・子宮 1

〔演題 P-1～P-5〕 13:00～14:00 座長 星合 昊（近畿大・婦）

卵巣・性ホルモン，卵子・排卵・胚，卵管・子宮 2

〔演題 P-6～P-10〕 13:00～14:00 座長 田中 俊誠（秋田大・婦）

精巣・性ホルモン，精子・排精 1

〔演題 P-11～P-15〕 13:00～14:00 座長 布施 秀樹（富山医薬大・泌）

精巣・性ホルモン，精子・排精 2

〔演題 P-16～P-20〕 13:00～14:00 座長 三浦 一陽（東邦大・泌）

生殖免疫，子宮内膜症，妊娠・流産・不育 1

〔演題 P-21～P-25〕 13:00～14:00 座長 山本 樹生（日本大・婦）

生殖免疫，子宮内膜症，妊娠・流産・不育 2

〔演題 P-26～P-30〕 13:00～14:00 座長 宮川 勇生（大分医大・婦）

一 般 演 題

（示説発表—unmoderated poster）

第6会場「503・504・505会議室」

卵巣・性ホルモン，卵子・排卵・胚，卵管・子宮

〔演題 UP-1～UP-23〕

精巣・性ホルモン，精子・排精

〔演題 UP-24～UP-43〕

生殖免疫，子宮内膜症，妊娠・流産・不育

〔演題 UP-44～UP-53〕

第2日 11月24日 (金)

一般演題

(口頭発表)

第1会場「メインホール」

ART 5

〔演題 O-90～O-94〕 9:00～10:00 座長 加藤 紘 (山口大・婦)

ART 6

〔演題 O-95～O-99〕 10:00～11:00 座長 平原 史樹 (横浜市大・婦)

第2会場「国際会議室」

ART 7

〔演題 O-100～O-104〕 9:00～10:00 座長 豊田 長康 (三重大・婦)

ART 8

〔演題 O-105～O-109〕 10:00～11:00 座長 石川 睦男 (旭川医大・婦)

第3会場「401・402会議室」

授精・着床 1

〔演題 O-110～O-114〕 9:00～10:00 座長 星 和彦 (山梨医大・婦)

授精・着床 2

〔演題 O-115～O-119〕 10:00～11:00 座長 田中 憲一 (新潟大・婦)

第4会場「502会議室」

精子・排精 2

〔演題 O-120～O-124〕 9:00～10:00 座長 宮川 征男 (鳥取大・泌)

精子・排精 3

〔演題 O-125～O-129〕 10:00～11:00 座長 並木 幹夫 (金沢大・泌)

第5会場「501会議室」

内視鏡・手術 1

〔演題 O-130～O-134〕 9:00～10:00 座長 工藤 隆一 (札幌医大・婦)

内視鏡・手術 2

〔演題 O-135～O-139〕 10:00～11:00 座長 大濱 紘三 (広島大・婦)

一 般 演 題

(示説発表—moderated poster)

第6会場「503・504・505会議室」

授精・着床, ART 1

〔演題P-31～P-35〕 13:00～14:00 座長 田中 忠夫 (慈恵医大・婦)

授精・着床, ART 2

〔演題P-36～P-40〕 13:00～14:00 座長 金山 尚裕 (浜松医大・婦)

授精・着床, ART 3

〔演題P-41～P-45〕 13:00～14:00 座長 平川 舜 (東邦大・婦)

診断・検査, 内視鏡, 手術

〔演題P-46～P-50〕 13:00～14:00 座長 峯岸 敬 (群馬大・婦)

統計, その他 1

〔演題P-51～P-55〕 13:00～14:00 座長 梅咲 直彦 (和歌山県医大・婦)

統計, その他 2

〔演題P-56～P-60〕 13:00～14:00 座長 石丸 忠之 (長崎大・婦)

一 般 演 題

(示説発表—unmoderated poster)

第6会場「503・504・505会議室」

受精・着床, ART

〔演題UP-54～UP-92〕

診断・検査, 内視鏡, 手術

〔演題UP-93～UP-104〕

統計, その他

〔演題UP-105～UP-119〕

一般演題

第 1 日

〈11月23日 (木)〉

第1日 11月23日 (木)

一般演題
(口頭発表)

第1会場「メインホール」

ART 1

〔演題O-1～O-5〕 9:00～10:00 座長 木下 勝之 (埼玉医大・婦)

O-1 卵辺縁部を穿刺する新しい細胞質内精子注入法について

東京歯科大学市川総合病院産婦人科 ○郡山 智, 兼子 智, 岡崎 雅子
 赤星 晃一, 佐久間雄一, 黒島 正子
 宮越 敬, 富永英一郎, 柏木 哲
 田辺 清男

O-2 卵細胞質内精子注入法 (ICSI) における穿刺方法が胚発生に与える影響

獨協医科大学産科婦人科学教室 ○星野 恵子, 正岡 薫, 三ツ矢和弘
 済生会前橋病院産婦人科* 野口 崇夫, 河津 剛*, 稲葉 憲之

O-3 ARTにおける移植胚の透明帯厚に関する検討

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○末永 昭彦, 小笠原綾子, 藤原 敏博
 東京大学医学部附属病院分院産科婦人科* 大須賀 稯, 矢野 哲, 堤 治*
 武谷 雄二

O-4 胚移植日別, 胚の形態学的分類による妊娠率

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室 ○間崎 和夫, 伊藤嘉奈子, 渋谷 幸裕
 塩川 素子, 橋田 英, 中野由起子
 雀部 豊, 池永 秀幸, 安部 裕司
 久保 春海, 平川 舜

O-5 多胎妊娠防止のための二胚移植の成績とその限界

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科 ○伊東 宗毅, 石原 理, 斉藤 正博
 林 直樹, 堀籠 邦子, 清水 香子
 田谷 順子, 木下 勝之

ART 2

〔演題O-6～O-10〕 10:00～11:00 座長 野田 洋一 (滋賀医大・婦)

O-6 IVF-ETにおける新しい胚移植法—2 step embryo transfer—の開発

滋賀医科大学産科学婦人科学教室 ○後藤 栄, 高倉 賢二, 竹林 浩一
 中西 桂子, 廣瀬 雅哉, 木村 俊雄
 秋山 稔, 木村 文則, 藤原 睦子
 野田 洋一

O-7 体外受精胚移植における移植胚数2個制限の治療成績

琉球大学医学部産科婦人科学教室 ○野原 理, 神山 茂, 上原貴美子
 金澤 浩二

O-8 胚移植時子宮内膜厚別の妊娠率, 流産率, 多胎率, および各種因子との関連性についての検討

セントマザー産婦人科医院 ○永吉 基, 田中 温, 栗田松一郎
 馬渡 善文, 田中威づみ, 竹本 洋一
 高崎 博幸, 井手 紀子, 岩本 智子

O-9 ホルモン補充療法による凍結胚移植時の内膜肥厚度, 形態と妊娠率の比較

レディースクリニック京野 ○佐藤 智子, 福永 憲隆, 千葉せつよ
 松尾 優子, 拝郷 浩佑, 針生 光夫
 京野 廣一

O-10 体外受精胚の各発育段階における染色体数の正常性の検討

—着床前診断の胚生検は何細胞期胚が適当か—

セントマザー産婦人科医院 ○竹本 洋一, 田中 温, 永吉 基
 栗田松一郎, 馬渡 善文, 田中威づみ
 高崎 博幸, 井手 紀子, 岩本 智子

ART 3

〔演題O-11～O-15〕 11:00～12:00 座長 佐藤 章 (福島県立医大・婦)

O-11 経子宮頸管胚移植法の新しい試み

IVF大阪クリニック ○熊谷明希子, 福田 愛作, 河田 淳
 當仲 正文, 山崎 雅友, 岩本 英熙
 中岡 義晴, 森本 義晴
 関西医科大学産科学婦人科学教室 神崎 秀陽

O-12 採卵日固定法により可能となった新鮮精巣精子を用いたICSI

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○堤 ゆかり, 中川 浩次, 森出 直子
 山下 瑞穂, 松本 光弘, 小松 淳子
 山野 修司, 青野 敏博
 徳島大学医学部泌尿器科学教室 奈路田拓史, 香川 征

O-13 ICSI後受精障害に対する人為的卵活性化の臨床成績

福島県立医科大学産科婦人科学講座 ○片寄 治男, 柳田 薫, 林 章太郎
矢沢 浩之, 佐藤 章

O-14 Maturation arrest に対する新しい試み (第二報) 円形精子細胞の卵活性化能, ならびに円形精子細胞注入時間の検討

加藤レディースクリニック ○青野 文仁, 桑山 正成, 貝嶋 弘恒
寺元 章吉, 加藤 修
永遠幸マタニティクリニック 道倉 康仁
藤野産婦人科クリニック 藤野 祐司

O-15 ヒト割球における間期染色質より分裂期染色体への新しい誘導法の検討

セントマザー産婦人科医院 ○高崎 博幸, 田中 温, 永吉 基
栗田松一郎, 馬渡 善文, 田中威づみ
竹本 洋一

第2会場「国際会議室」

子宮内膜症

〔演題O-16～O-20〕9:00～10:00 座長 植木 實 (大阪医大・婦)

O-16 子宮内膜症の診断における腫瘍マーカー CA19-9 の意義 ～ CA125 と比較して～

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生殖機能協同学 ○原田 達也, 久保田俊郎, 麻生 武志

O-17 Flowcytometryを用いた子宮内膜症腹腔内環境の解析

高知医科大学産科婦人科 ○泉谷 知明, 山本 寄人, 木元 正和
石元 志保, 林 和俊, 前田 長正
森岡 信之, 深谷 孝夫

O-18 当院において IVF-ET を行った子宮内膜症症例のホルモン動態とその前治療の有用性について

埼玉医科大学産婦人科学教室 ○梶原 健, 大井川智子, 小川 博和
渡辺 芳明, 高橋 通, 畑 俊夫

O-19 血中各種ホルモン動態からみた2種類の Gn-RH agonist 徐放性製剤の子宮内膜症に対する臨床効果の比較

帝京大学市原病院産婦人科 ○合阪 幸三, 大岡 史子, 渡邊 剛也
定月みゆき, 梁 善光, 貝原 学
帝京大学医学部産婦人科 森 宏之

O-20 酢酸ブセルリン1.8MPと酢酸リュープロレリン1.88の子宮内膜症治療効果比較検討ならびに酢酸リュープロレリン3.75治療前後におけるMRI, 腹腔鏡所見の比較検討

医療法人小堀医院 ○小堀 清
杉山レディースクリニック 杉山 力一
日本医科大学産婦人科 明楽 重夫
東京歯科大学市川総合病院産婦人科 兼子 智

妊娠・流産・不育

〔演題O-21～O-25〕 10:00～11:00 座長 荒木 勤 (日本医大・婦)

- O-21 反復流産患者におけるメチレンテトラヒドロ葉酸レダクターゼ (MTHFR) の遺伝子多型の意義について

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○牧野亜衣子, 小笠原真弓, 鈴木 由佳
鈴森 伸宏, 尾崎 康彦, 鈴森 薫

- O-22 反復流産症例における末梢血NK細胞活性と流産様式の関連性について

日本医科大学産婦人科 ○里見 操緒, 竹下 俊行, 石川 源
瀬戸真理子, 五十嵐健治, 石原 珠紀
石川 温子, 明榮 重夫, 荒木 勤

- O-23 習慣性流産症例の妊娠初期の子宮動脈血流抵抗値の検討

岡山大学医学部産科婦人科 ○中塚 幹也, 野口 聡一, 浅桐 和男
羽原 俊宏, 高田 雅代, 小西 秀樹
工藤 尚文

- O-24 習慣流産患者に対する夫リンパ球免疫療法後のT cell receptor クロナリティーについて

聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院産婦人科 ○林 和彦, 与那嶺京子, 田口 泰之
聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室 石塚 文平

- O-25 反復流産における子宮内胎児死亡と黄体機能不全との関係および治療成績について

福岡大学医学部産婦人科 ○澄井 敬成, 園田 桃代, 本庄 考
井上 善仁, 瓦林達比古

卵管・子宮

〔演題O-26～O-30〕 11:00～12:00 座長 麻生 武志 (東京医歯大・婦)

- O-26 超音波卵管造影法の有用性

岩手医科大学産婦人科 ○東梅 久子, 吉崎 陽, 利部 輝雄

- O-27 卵管鏡下卵管形成の術後経過からみた治療指針

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○末岡 浩, 土屋 慎一, 谷垣 礼子
谷垣 伸治, 松田 紀子, 浅田 弘法
小澤 伸晃, 久慈 直昭, 吉村 泰典

- O-28 ヒト卵管におけるET-1, およびその受容体の局在と卵管運動性への関与

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生殖機能協同学 ○坂本 雅恵, 坂本 秀一, 久保田俊郎
麻生 武志
東京医科歯科大学学生体材料工学研究所分子設計 東 洋

O-29 子宮奇形と不妊・妊娠転帰についての検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○島貫 洋人, 佐藤 雄一, 武内 裕之
三橋 直樹

O-30 AIHにおいて精子処理法が子宮内膜波状運動に及ぼす影響

鹿児島大学医学部産婦人科 ○沖 利通, 山崎 英樹, 桑波田理樹
中江 光博, 堂地 勉, 永田 行博

第3会場「401・402会議室」

卵巣・性ホルモン 1

〔演題O-31～O-35〕9:00～10:00 座長 藤本征一郎（北海道大・婦）

O-31 排卵周期と黄体化非破裂卵胞 (LUF) 周期の E_2 , P と卵胞径について

東邦大学医学部第2産科婦人科学教室 ○豊岡理恵子, 川村 良, 植野 りえ
家村邦太郎, 小倉 久男

O-32 卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) に対する腹水濾過濃縮再静注法についての検討

愛知医科大学産婦人科 ○木部 博文, 中部 健, 山田 英史
前田 佳子, 浅井 光興, 野口 昌良
中西 正美

O-33 当科不妊外来におけるPCOS患者の臨床学的検討

島根医科大学医学部産科婦人科学教室 ○高橋健太郎, 尾崎 智哉, 大西 雄一
金崎 春彦, 宮崎 康二

O-34 多嚢胞卵巣症候群 (PCOS) における血中レプチンの検討

群馬大学医学部産科婦人科学 ○菊池 信正, 安藤 一道, 山田 清彦
水沼 英樹, 伊吹 令人

O-35 多嚢胞性卵巣症候群における血清中の可溶性 Fas 値, 可溶性 Fas ligand 値の検討

岡山大学医学部産科婦人科 ○小西 秀樹, 中塚 幹也, 野口 聡一
木村 吉宏, 浅桐 和男, 羽原 俊宏
高田 雅代, 工藤 尚文

卵巣・性ホルモン 2

〔演題O-36～O-40〕10:00～11:00 座長 鈴森 薫（名古屋市大・婦）

O-36 機能性不妊に対するゴナドトロピン療法の有用性と限界

群馬大学医学部産科婦人科学 ○安藤 一道, 上条 隆典, 伊藤 理廣
山田 清彦, 関 守利, 水沼 英樹

- O-37 ヒト黄体化顆粒膜細胞のアポトーシスを介した黄体機能調節における Caspase 活性化機構の関与
名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○松原 寛和, 尾崎 康彦, 青山 和史
鈴木 由佳, 佐藤 剛, 生田 克夫
鈴木 薫

- O-38 ヒト黄体における bcl-2 と bax 発現の月経周期と妊娠による変化
山口大学医学部産科婦人科学教室 ○杉野 法広, 檜田 史郎, 滝口 修司
苅部 綾子, 高山 尚子, 山縣 芳明
中村 康彦, 加藤 紘

- O-39 顆粒膜黄体細胞機能調節における insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) の役割
神戸大学医学部産科婦人科 ○藤田 一郎, 山辺 晋吾, 横田 光
益子産婦人科医院* 岡田 十三, 望月 恵, 益子 和久*
丸尾 猛

- O-40 ヒト不死化顆粒膜細胞におけるステロイド産生能の Steroidogenic factor-1 による回復
熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○田畑 愛, 新田 愼, 石川 勝康
大場 隆, 片渕 秀隆, 松浦 講平
岡村 均

生殖免疫

〔演題O-41～O-45〕 11:00～12:00 座長 倉智 博久（山形大・婦）

- O-41 反復流産患者における抗アネキシンV抗体
東海大学医学部産科婦人科学教室 ○新井 正, 松林 秀彦, 和泉俊一郎
鈴木 隆弘, 牧野 恒久

- O-42 Thrombophiliaに関連した不育症患者の治療法の検討
東海大学医学部産科婦人科学教室 ○杉 俊隆, 内田 能安, 勝沼 潤子
岩崎 克彦, 牧野 恒久

- O-43 免疫療法を施行する習慣流産患者に対するFCXM検査の有用性に関する検討
慶應義塾大学医学部産科婦人科学教室 ○福地 智恵, 小澤 伸晃, 丸山 哲夫
浅田 弘法, 久慈 直昭, 末岡 浩
吉村 泰典

- O-44 黄体期中期子宮内膜NK細胞サブセットに影響を与える因子の検討
弘前大学医学部産科婦人科 ○木村 秀崇, 福井 淳史, 山口 英二
樋口 毅, 藤井 俊策, 齋藤 良治

- O-45 夫リンパ球による免疫療法の効果判定について
東京女子医科大学産婦人科 ○斉藤 理恵, 塩之入 垂矢, 清水 聖子
安達 知子, 太田 博明

中枢性ホルモン

〔演題O-46～O-49〕 13:00～14:00 座長 森 宏之 (帝京大・婦)

O-46 メラトニン分泌と合成に対するLHの影響：松果体器官培養系を用いた研究

聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室 ○保坂 猛, 三室 卓久, 浜田 直美
 石塚 文平
 聖マリアンナ医科大学化学教室 伊藤 正則

O-47 ギナドトロピン負荷試験の適応に関する検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○山本百合恵, 浜谷 敏生, 酒井のぞみ
 丸山 哲夫, 吉村 泰典

O-48 婦人科領域における2種類の GnRH agonist 徐放剤使用時の内分泌動態と臨床効果の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○武内 裕之, 小堀 宏之, 菊池 盤
 佐藤 雄一, 三橋 直樹

O-49 高LH血症性月経周期異常における温経湯の臨床効果

大阪医科大学産婦人科学教室 ○後山 尚久, 坂井 昌弘, 山下 英俊
 山下 能毅, 細谷 俊光, 鈴木 佳彦
 坪倉 省吾, 植木 實

第4会場「502会議室」

精巣・性ホルモン1

〔演題O-50～O-54〕 9:00～10:00 座長 内藤 克輔 (山口大・泌)

O-50 精細胞アポトーシスを指標とした先天性異所性精巣ラットの造精機能障害の検討

帝京大学医学部泌尿器科学教室 ○足立 陽一, 友政 宏, 押尾 茂
 岩渕 正之, 四倉 正己, 遠山 裕一
 梅田 隆
 帝京大学医学部病理学教室 入江 宏
 帝京大学医学部中央動物室 田村 弘

O-51 マウス半数体精子細胞特異的に発現する遺伝子 (scot-t) の単離およびその解析

健保連大阪中央病院泌尿器科 ○古賀 実, 木内 寛, 難波 行臣
 竹山 政美
 大阪大学医学部泌尿器科 中村 吉宏, 山中 幹基, 松宮 清美
 奥山 明彦
 大阪大学微生物病研究所 田中 宏光, 蓬田健太郎, 野崎 正美
 野島 博, 西宗 義武

O-52 不死化LeydigおよびSertoli細胞株の樹立とその機能の解析

富山医科薬科大学泌尿器科学教室 ○太田昌一郎, 明石 拓也, 野崎 哲夫
 布施 秀樹

O-53 ラット vasectomy モデルにおける造精機能障害の機序

山口大学医学部泌尿器科 ○白石 晃司, 内藤 克輔

O-54 マウス精子形成細胞に対するハイブリッドレトロウィルスベクターを用いた効果的な遺伝子導入の検討

関西医科大学泌尿器科 ○檀野 祥三, 六車 光英, 松田 公志
京都大学分子病診療学 藤田 潤**精巣・性ホルモン 2**

〔演題 O-55～O-59〕 10:00～11:00 座長 田中 啓幹 (川崎医大・泌)

O-55 非閉塞性無精子症に対する造精機能評価のための定量的テロメラーゼ測定の診断学的意義

ミオ・ファティリティ・クリニック ○加藤由加里, 岩浅ゆき穂, 源治 由美
波田地由深, 錦織 恭子, 見尾 保幸
鳥取大学医学部泌尿器科 ソフィキティス・ニコラオス

O-56 無精子症精巣内テロメラーゼ活性の検討

埼玉医科大学総合医療センター泌尿器科 ○谷澤 晶子, 斎藤 博
赤心堂病院泌尿器科 内島 豊
赤心堂病院産婦人科 矢後 尚文, 下司 有美

O-57 Late arrest に対する GH 分泌刺激試験と clonidine 治療

浜松医科大学泌尿器科学教室 ○寺田 央巳, 鈴木 和雄, 藤田 公生

O-58 無・乏精子患者に対する Y 染色体上精巣特異既知遺伝子に対する欠失の検索

金沢大学薬学部 ○中島 美奈
金沢大学医学部泌尿器科 高 栄哲, 前田 雄司, 並木 幹夫
木場公園クリニック 吉田 淳

O-59 ヒト精巣のセルトリ細胞に発現する遺伝子の検討

徳島大学医学部泌尿器科学教室¹⁾ ○奈路田拓史,^{1,2)} 中堀 豊²⁾
徳島大学医学部公衆衛生学教室²⁾ 香川 征¹⁾**精巣・性ホルモン 3**

〔演題 O-60～O-64〕 11:00～12:00 座長 伊藤 晴夫 (千葉大・泌)

O-60 男性不妊症に合併した精索静脈瘤の治療結果の検討

東邦大学医学部泌尿器科学第一講座 ○川上 稔史, 三浦 一陽, 中居 敏明
工藤 貴正, 吉田 淳, 永尾 光一
石井 延久

O-61 当科における精巣動脈・リンパ管温存精索静脈瘤手術の術後成績, 経過の検討

洛和会音羽病院泌尿器科 ○塩山 力也, 七里 泰正, 北村 健
西村 昌則
浜松労災病院泌尿器科 小倉 啓司

O-62 腹腔鏡下精索静脈瘤高位結紮術の治療成績—精巣動脈温存の意義—

富山医科薬科大学泌尿器科学教室 ○野崎 哲夫, 太田昌一郎, 奥村 昌央
岩崎 雅志, 布施 秀樹

O-63 TESE時精巣組織と touch preparation cytology, 生検組織診との比較検討

昭和大学医学部泌尿器科 ○渡辺 政信, 五十嵐 敦, 麻生 太行
坂本 英雄, 吉田 英機
昭和大学医学部病院病理科 九島 巳樹
梅ヶ丘産婦人科 金井 裕子, 辰巳 賢一

O-64 精巣内精子採取術 (TESE) 施行症例の臨床的検討

札幌医科大学医学部泌尿器科 ○笹尾 拓己, 伊藤 直樹, 塚本 泰司
神谷レディースクリニック 神谷 博文
札幌医科大学医学部産婦人科学 遠藤 俊明, 工藤 隆一
東豊病院産婦人科 幡 洋

精子・排精 1

〔演題O-65～O-69〕 13:00～14:00 座長 穂坂 正彦 (横浜市大・泌)

O-65 画像解析ソフトを用いた精子 midpiece 形態の検討

長崎大学医学部産科婦人科学教室 ○宮村 泰豪, 蓮尾 敦子, 北島 道夫
藤下 晃, カレク・ネワズ・カーン
増崎 英明, 石丸 忠之

O-66 ヒト精漿中 VEGF 濃度とその存在意義について

埼玉医科大学産婦人科学教室 ○大井川智子, 梶原 健, 小川 博和
飯田 幸雄, 渡辺 芳明, 高橋 通
畑 俊夫

O-67 ヒト精漿中に存在するメタロプロテアーゼに関する研究

明治薬科大学 ○下川 健一, 片山 昌勅, 松田 兆史
共済組合立川病院 原 唯純, 佐藤 博久
東京歯科大学市川総合病院産婦人科 兼子 智

O-68 精液中活性酸素の精子運動率への影響とその起源細胞に関する検討

横浜赤十字病院泌尿器科¹⁾ ○岩崎 皓¹⁾, 松下 和彦²⁾, 湯村 寧³⁾
栄共済病院病理²⁾ 斎藤 和男³⁾, 小川 毅彦³⁾, 菅野ひとみ³⁾
横浜国立大学医学部泌尿器科学³⁾ 佐藤 和彦³⁾, 穂坂 正彦³⁾

O-69 Elastase および SLPI の精子運動能および活性酸素産生に及ぼす影響

大分医科大学産科婦人科学教室 ○浦田憲一郎, 植原 久司, 田中雄一郎
宮川 勇生

第5会場「501会議室」

卵子・排卵・胚 1

〔演題O-70～O-74〕 9:00～10:00 座長 寺川 直樹（鳥取大・婦）

O-70 未熟卵子の体外成熟を目的としたFSH受容体遺伝子導入による遺伝子治療の基礎的検討

新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○芹川 武大, 永田 寛, 藤田 和之
田中 憲一

O-71 未熟卵子体外成熟培養における至適採卵条件についての検討

IVF大阪クリニック ○西垣 明実, 河田 淳, 福田 愛作
西岡 純子, 西原 卓志, 當仲 正丈
山崎 雅友, 岩本 英熙, 庄野 明子
中岡 義晴, 森本 義晴
関西医科大学産科学婦人科学教室 神崎 秀陽

O-72 未熟卵体外成熟顕微授精胚の凍結融解胚移植による妊娠例の報告

IVF大阪クリニック ○福田 愛作, 河田 淳, 當仲 正丈
山崎 雅友, 西垣 明実, 岩本 英熙
庄野 明子, 中岡 義晴, 森本 義晴
関西医科大学産科学婦人科学教室 神崎 秀陽

O-73 ヒト未成熟卵子の体外成熟培養および凍結保存との比較

吉田レディースクリニック ○吉田 仁秋, 大宮 由紀, 青野 展也

O-74 マウスおよびヒト卵巣組織より採取した未成熟卵細胞の体外成熟実験

兵庫医科大学産婦人科学教室¹⁾ ○濱田ゆかり¹⁾ 長谷川昭子²⁾
兵庫医科大学先端医学研究所発生生殖部門²⁾ 繁田 実^{2,3)} 小森 慎二^{1,2)}
兵庫医科大学分娩新生児部³⁾ 香山 浩二^{1,2,3)}

卵子・排卵・胚 2

〔演題O-75～O-79〕 10:00～11:00 座長 高山 雅臣（東京医大・婦）

O-75 短時間媒精法に関する検討

北里大学医学部産婦人科 ○中村 水緒, 川内 博人, 石川 雅一
藤田 一博, 西島 正博

O-76 IVF-ETにおける採卵時卵胞液中 PAPP-A濃度と卵の質との関係

東京医科大学産婦人科 ○福嶺 紀隆, 鈴木 良知, 北水万里子
中田 敏英, 白田 三郎, 伊東 宏絵
井坂 恵一, 高山 雅臣

O-77 自然周期における体 impedance (IMP) とホルモン値の推移の検討

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○星合 敏久, 神野 正雄, 佐藤 学
酒井 謙, 岩下 光利, 中村 幸雄

O-78 poor responder に対する growth hormone (GH) および macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) 投与の試み

済生会下関総合病院産婦人科 ○高崎 彰久, 田村 博史, 石松 正也
森岡 均

O-79 排卵前後の自律神経系活動の変化

浜松医科大学産婦人科学教室 ○松山 薫, 高田佳世子, 松浦 俊樹
鈴木 留美, 北村 公也, 後藤 淳子
西口 富三, 金山 尚裕

診断・検査

〔演題O-80～O-84〕 11:00～12:00 座長 玉舎 輝彦 (岐阜大・婦)

O-80 ピエゾマイクロマニプレーターで単離した4細胞期胚の単一割球によるマウス性別診断

兵庫医科大学先端医学研究所発生生殖部門¹⁾ ○長谷川昭子¹⁾, 澤井 英明¹⁾, 濱田ゆかり²⁾
兵庫医科大学産婦人科学教室²⁾ 香山 浩二^{1,2)}

O-81 重複型DMDに対する出生前遺伝子診断法の開発

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○松田 紀子, 末岡 浩, 谷垣 礼子
土屋 慎一, 浅田 弘法, 小澤 伸晃
久慈 直昭, 吉村 泰典

O-82 着床前遺伝子診断における高精度DNA抽出法 (Spanning protocol) の開発と遺伝子診断情報の拡大

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○土屋 慎一, 末岡 浩, 松田 紀子
谷垣 礼子, 田中 宏明, 浅田 弘法
小澤 伸晃, 久慈 直昭, 吉村 泰典

O-83 3D-CT を用いた子宮卵管造影の不妊症診断への有用性の検討

三重大学医学部産科婦人科学 ○田中 慶介, 与那覇 齊, 西浦 理佳
鈴鹿回生総合病院不妊センター* 野田 直美, 竹内 茂人, 箕浦 博之
磯部 哲也*, 田窪伸一郎*, 豊田 長康

O-84 サーモグラフィーを用いた不妊症患者の自律神経機能に関する研究

浜松医科大学産婦人科学教室 ○北村 公也, 高田佳世子, 松浦 俊樹
鈴木 留美, 松山 薫, 後藤 淳子
西口 富三, 金山 尚裕

ART 4

〔演題O-85～O-89〕 13:00～14:00 座長 西島 正博 (北里大・婦)

O-85 Failed AIH 症例に対する受精テストとしての体外受精の有用性とその後の対応

ミオ・ファティリティ・クリニック ○岩浅ゆき穂, 加藤由加里, 源治 由美
波田地由深, 錦織 恭子, 見尾 保幸

O-86 ICSI症例における受精卵の形態と妊娠成否の関連についての検討

内田クリニック ○安藤 幸, 村尾 明美, 内田 昭弘

O-87 Conventional IVF において受精卵の得られない症例に対して施行した ICSI の臨床成績の検討

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○小笠原綾子, 末永 昭彦, 藤原 敏博
東京大学医学部附属病院分院産科婦人科* 大須賀 穰, 矢野 哲, 堤 治*
武谷 雄二

O-88 Long Protocol における卵胞刺激開始時期の遅延は IVF の妊娠率, 着床率を改善する

獨協医科大学産科婦人科学教室 ○三ツ矢和弘, 正岡 薫, 根本 央
中野 貴史, 星野 恵子, 稲葉 憲之

O-89 子宮内膜症治療が体外受精に及ぼす影響についての検討

杉山レディースクリニック¹⁾ ○杉山 力一¹⁾, 小埜 清²⁾, 杉山 四郎¹⁾
医療法人小埜医院²⁾ 白井安砂子¹⁾, 金城 洋²⁾, 高山 雅臣³⁾
東京医科大学産科婦人科³⁾

一般演題

(示説発表-moderated poster)

第6会場「503・504・505会議室」

卵巣・性ホルモン, 卵子・排卵・胚, 卵管・子宮 1

〔演題P-1～P-5〕 13:00～14:00 座長 星合 昊 (近畿大・婦)

P-1 過排卵ラットを用いた卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) 関連分子 VEGF とそのレセプターの発現と
Gonadotropin-releasing hormone agonist の効果について札幌医科大学医学部産婦人科学 ○北島 義盛, 遠藤 俊明, 真名瀬賢吾
西川 鑑, 木谷 保, 逸見 博文
千田 学, 林 巧, 長沢 邦彦
工藤 隆一

P-2 ラット卵巣内 prostaglandin endoperoxide synthase-2 (PGS-2) の局在とその発現機構

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○勝又木綿子, 安藤 索, 安孫子 泉
杏林大学医学部保健学部* 矢崎 智子, 尾崎 恒男, 小菅 浩章
高橋 康一*, 岩下 光利, 中村 幸雄

P-3 ラット卵巣顆粒膜細胞における Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) の発現

群馬大学医学部産科婦人科学 ○土屋 恵, 峯岸 敬, 中村 和人
平川 隆史, 安部 和子, 井上 京子
松田 弘子

P-4 ラット顆粒膜細胞における FSH 受容体 (FSHR), フォリスタチンに対する TGF- β の効果

群馬大学医学部産科婦人科学 ○井上 京子, 峯岸 敬, 中村 和人
五十嵐茂雄, 平川 隆史, 土屋 恵
安部 和子, 松田 弘子

P-5 マウス卵胞内卵子の体外受精後の発生能と初期胚の染色体分析

東京農工大学大学院連合農学研究科 ○佐々木志野, 吉澤 緑
宇都宮大学農学部

卵巣・性ホルモン, 卵子・排卵・胚, 卵管・子宮 2

〔演題 P-6 ~ P-10〕 13:00 ~ 14:00 座長 田中 俊誠 (秋田大・婦)

P-6 マウス未熟卵に対する LPA の体外成熟促進効果の機序の解明

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○小松 淳子, 堤 ゆかり, 森出 直子
山下 瑞穂, 松本 光弘, 檜尾 健二
中川 浩次, 山野 修司, 青野 敏博

P-7 未受精卵に対するエチレングリコール投与後の細胞内カルシウム変化

山形大学医学部産婦人科 ○高橋 俊文, 齋藤 英和

P-8 Oncostatin M による子宮内膜間質細胞の増殖抑制と分化誘導

鳥取大学医学部産科婦人科 ○大畠 順恵, 月原 悟, 坂本 靖子
山内 延広, 藤井亜希子, 伊藤 雅之
谷口 文紀, 吉田 壮一, 岩部 富夫
原田 省, 寺川 直樹

P-9 ヒト子宮内膜における μ -カルパインの存在と, その活性化によるインテグリンへの影響

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○青山 和史, 尾崎 康彦, 鈴木 由佳
名古屋市立城西病院* 佐藤 剛, 松原 寛和, 青木 耕治*
生田 克夫, 鈴森 薫

P-10 ヒト正常子宮内膜における iNOS と caspase-3 の免疫組織学的発現の検討

: 月経発来メカニズムへの寄与の可能性

東北大学医学部産科学婦人科学 ○今野 良, 村上 節, 岡村 州博

精巣・性ホルモン, 精子・排精 1

〔演題P-11～P-15〕 13:00～14:00 座長 布施 秀樹 (富山医薬大・泌)

P-11 精索静脈瘤患者の治療成績—高度乏精子症症例について—

富山医科薬科大学泌尿器科学教室 ○岩崎 雅志, 村上 康一, 野崎 哲夫
太田昌一郎, 布施 秀樹

P-12 c-kit 陽性 spermatogonia と造精機能障害の関与

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○谷垣 礼子, 末岡 浩, 松田 紀子
川崎市立川崎病院産婦人科* 土屋 慎一, 福地 智恵, 岩田 壮吉*
浅田 弘法, 小澤 伸晃, 久慈 直昭
吉村 泰典

P-13 精巣腫瘍症例における造精機能障害と患側精巣摘除術後の精液所見の推移

東邦大学医学部泌尿器科学第一講座 ○野澤 英雄, 三浦 一陽, 工藤 貴正
吉田 淳, 永尾 光一, 原 啓
石井 延久

P-14 SQA II C と CASA による精子運動機能評価法の比較検討

自治医科大学産科婦人科学 ○鈴木 達也, 柴原 浩章, 藤原 寛行
高見澤 聡, 小川 修一, 出居 貞義
佐藤 郁夫
自治医科大学附属病院臨床検査部 角田 啓道

P-15 精子核膨化と核蛋白の免疫蛍光分析

川崎市立川崎病院産婦人科 ○岩田 壮吉
立川病院産婦人科 大澤 淑子
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 末岡 浩, 谷垣 礼子, 吉村 泰典

精巣・性ホルモン, 精子・排精 2

〔演題P-16～P-20〕 13:00～14:00 座長 三浦 一陽 (東邦大・泌)

P-16 精子の DNA fragmentation について

藤野婦人科クリニック ○濱野 晃浩, 宮田 広敏, 福本 純代
横山 綾子, 沖村 匡史, 竹内 和美
西本 真弓, 藤野 祐司

P-17 精子細胞膜蛋白 CD46 の発現と受精能の検討

新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○鈴木 美奈, 永田 裕子, 小島 由美
松下 宏, 菅谷 進, 藤田 和之
倉林 工, 田中 憲一

P-18 ヒト精子先体反応へのプリン受容体の関与

明治薬科大学臨床薬理¹⁾ ○小室 浩¹⁾ 兼子 智^{2,3)}
 東京歯科大学市川総合病院産婦人科²⁾ 竹内 幸一¹⁾ 田辺 清男²⁾
 CREST³⁾

P-19 顕微鏡下精巢内精子採取と細胞質内精子注入法併用による無精子症の治療経験

洛和会音羽病院泌尿器科 ○七里 泰正, 塩山 力也, 北村 健
 西村 昌則

P-20 精漿成分内のマウス初期胚発育抑制因子の検討

藤田保健衛生大学産婦人科 ○門脇 恵, 澤田 富夫, 大橋 由政
 宇田川康博

生殖免疫, 子宮内膜症, 妊娠・流産・不育 1

〔演題P-21～P-25〕 13:00～14:00 座長 山本 樹生 (日本大・婦)

P-21 男性因子を有しない性交後検査不良例における精子不動化試験の有用性について

愛知医科大学産婦人科 ○新美 眞, 浅井 光興, 前田 佳子
 佐藤 英子, 鈴木 正利, 野口 昌良
 中西 正美

P-22 子宮内膜間質細胞の cytokine 産生に対する interferon- γ および IL-4 の作用

大分医科大学産科婦人科学教室 ○奈須 家栄, 浦田健一郎, 檜原 久司
 河野 康志, 宮川 勇生

P-23 子宮内膜症, 子宮腺筋症, および子宮筋腫とエストロゲン受容体 α の遺伝子多型の関連

京都府立医科大学産婦人科学教室 ○石原 広章, 北脇 城, 門 紀子
 小柴 寿人, 楠木 泉, 塚本 克美
 本庄 英雄

P-24 子宮内膜症腹膜病変間質部における GnRH Receptor 発現と GnRH agonist, GnRH antagonist の線維芽細胞, マクロファージに対する作用

岡山大学医学部産科婦人科 ○羽原 俊宏, 中塚 幹也, 野口 聡一
 浅桐 和男, 高田 雅代, 小西 秀樹
 工藤 尚文

P-25 ヒト子宮内膜症組織における growth arrest-specific gene 6 (gas 6) およびレセプター型チロシンキナーゼの発現

岐阜大学医学部産婦人科 ○岩垣 重紀, 操 良, 藤本 次良
 玉舎 輝彦

生殖免疫, 子宮内膜症, 妊娠・流産・不育 2

〔演題P-26～P-30〕 13:00～14:00 座長 宮川 勇生 (大分医大・婦)

P-26 腹腔内マクロファージと子宮内膜症細胞におけるサイトカイン産生能

鳥取大学医学部産科婦人科 ○山内 延広, 津戸 寿幸, 月原 悟
 坂本 靖子, 藤井亜希子, 伊藤 雅之
 大畠 順恵, 谷口 文紀, 吉田 壮一
 岩部 富夫, 原田 省, 寺川 直樹

P-27 腹水中HGF濃度と子宮内膜症進行期

鳥取大学医学部産科婦人科 ○吉田 壮一, 原田 省, 月原 悟
 山内 延広, 坂本 靖子, 藤井亜希子
 大畠 順恵, 伊藤 雅之, 谷口 文紀
 岩部 富夫, 寺川 直樹

P-28 チョコレート嚢胞を有する不妊患者に対するエタノール嚢腫固定術後の妊孕性について

自治医科大学産科婦人科学 ○小池 俊光, 柴原 浩章, 小川 修一
 藤原 寛行, 佐藤 郁夫
 中央クリニック 本山 光博

P-29 GnRH agonist 徐放性製剤の QOL に対する影響の検討 — add back 療法併用との比較 —

東京女子医科大学産婦人科 ○清水 聖子, 安達 知子, 杉崎 亜矢
 斉藤 理恵, 太田 博明

P-30 当院における過去5年間の不育症治療成績

広島大学医学部産科婦人科学教室 ○石井 彩, 原 鐵晃, 吉本真奈美
 三春 範夫, 大濱 絃三

一般演題

(示説発表—unmoderated poster)

第6会場「503・504・505会議室」

卵巣・性ホルモン, 卵子・排卵・胚, 卵管・子宮

〔演題UP-1～UP-23〕

UP-1 PCOSの臨床的検討 —重症度の指標を求めて—

聖粒会慈恵病院産婦人科 ○小山 伸夫, 蓮田 太二

UP-2 多嚢胞性卵巣症候群に対するインスリン抵抗性改善薬メトフォルミンの使用経験

九州大学生体防御医学研究所附属病院産婦人科 ○浅野間和夫, 松田 貴雄, 近藤 晴彦
 加藤 秀則, 和気 徳夫

UP-3 重症卵巣過剰刺激症候群のamrinoneによる治療

東京大学医学部附属病院分院産科婦人科 ○高井 泰, 五十嵐敏雄, 末永 明彦¹⁾
 東京大学医学部附属病院産科婦人科¹⁾ 丸山 正統²⁾, 大須賀 稔¹⁾, 藤原 敏博¹⁾
 丸山正統記念病院産婦人科²⁾ 百枝 幹雄¹⁾, 西井 修, 矢野 哲¹⁾
 堤 治, 武谷 雄二¹⁾

UP-4 クエン酸クロミフェン (クロミッド) により OHSS をおこした一症例

日立製作所日立総合病院産婦人科 ○樽本 祥子, 廣井 久彦, 所 恭子
 横田 治重

UP-5 卵胞壁組織における Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) mRNA 発現の性周期における変動

金沢医科大学産科婦人科学教室 ○郭 一琳, 藤井 亮太, 宮崎さつき
 富沢 英樹, 金子 利朗, 牧野田 知

UP-6 成熟マウスの卵胞発育に対する Androgens の作用

群馬大学医学部産科婦人科学 ○王 華, 安藤 一道, 上条 隆典
 安部由美子, 山田 清彦, 水沼 英樹

UP-7 細胞膜外ドメインがゴナドトロピンレセプターのインターナリゼーションに対する役割について

群馬大学医学部産科婦人科学 ○中村 和人, 峯岸 敬

UP-8 clomiphene citrate (CC) のエストロゲン受容体 α, β を介した作用について

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○廣井 久彦, 百枝 幹雄, 黒澤 貴子
 東京大学医学部附属病院分院産科婦人科* 堤 治*, 武谷 雄二

UP-9 マウス胚の神経外胚葉に発現する NKX2 遺伝子は分泌因子 Shh シグナルに依存的である

旭川医科大学産婦人科 ○田熊 直之, 千石 一雄, 小森 春美
 槌谷 恵子, 石川 睦男

UP-10 成熟および未熟卵の体外培養が卵紡錘体へ及ぼす影響の検討

福島県立医科大学産科婦人科学講座 ○林 章太郎, 柳田 薫, 矢澤 浩之
 片寄 治男, 佐藤 章

UP-11 未成熟卵子の体外培養 一年齢との関連についてー

藤野婦人科クリニック ○竹内 和美, 横山 綾子, 沖村 匡史
 濱野 晃浩, 宮田 広敏, 西本 真弓
 福本 純代, 藤野 祐司

UP-12 long法排卵誘発における prolactin (PRL) 併用投与による卵発育の促進

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○佐藤 学, 神野 正雄, 酒井 謙
 杏林大学医学部保健学部* 星合 敏久, 高橋 康一*, 岩下 光利
 中村 幸雄

UP-13 ヒトおよびラット初期胚におけるapoptosis関連遺伝子の発現に関する検討

秋田大学医学部産科婦人科 ○河村 和弘, 佐藤 直樹, 谷川 秀郎
熊谷 仁, 熊谷 暁子, 村田 昌功
福田 淳, 児玉 英也, 田中 俊誠

UP-14 加齢が透明帯厚におよぼす影響

鹿児島大学医学部産科婦人科 ○中江 光博, 沖 利通, 山崎 英樹
桑波田理樹, 堂地 勉, 永田 行博

UP-15 ヒト卵子RNA抽出におけるハウスキーピング遺伝子としてのG3PDHの有用性

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○久慈 直昭, 田中 宏明, 松田 紀子
福地 智恵, 谷垣 礼子, 浜谷 敏生
浅田 弘法, 小澤 伸晃, 宮崎 豊彦
末岡 浩, 吉村 泰典

UP-16 過剰刺激卵胞における卵胞周囲血管の形態的变化

浜松医科大学産婦人科学教室 ○後藤 淳子, 松山 薫, 北村 公也
西口 富三, 鈴木 留美, 高田佳世子
松浦 俊樹, 金山 尚裕

UP-17 インドメサシンを用いたマウス排卵におけるPGの関与に関する検討

日本大学医学部産婦人科 ○武谷 千晶, 栃木 明人, 藤 嘉敏
川口市立医療センター産婦人科* 水谷 美貴, 山下 有紀, 吉永 陽樹
栃木 武一*, 津端 捷夫, 山本 樹生

UP-18 マウス各成熟期卵子におけるsyntaxin4 mRNAの発現と解析

太田原赤十字病院* ○岩橋 和裕*, 久慈 直昭, 田中 宏明
杏林大学生理学教室** 北岡 芳久*, 白石 悟*, 浅田 弘法
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 浜谷 敏生, 小澤 伸晃, 末岡 浩
吉村 泰典, 藤原 智徳*, 赤川 公朗**

UP-19 ヒト卵胞液からの内分泌攪乱物質ビスフェノールAの検出

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○生月 弓子, 堤 治*, 高井 泰*
東京大学医学部附属病院分院産科婦人科* 末永 昭彦, 小笠原綾子, 大須賀 穰
藤原 敏博, 百枝 幹雄, 久具 宏司
矢野 哲, 武谷 雄二

UP-20 子宮内膜におけるエリスロポエチンおよびエリスロポエチンレセプターの発現

東北大学医学部産科学婦人科学 ○横溝 玲, 松崎 幸子, 村上 節
上原 茂樹, 岡村 州博

UP-21 子宮内膜間質培養細胞を用いた IL-1 β による Steroid sulfatase の抑制効果

昭和大学医学部産科婦人科学教室 ○松岡 隆, 矢内原 敦, 古澤 嘉明
 藤間 芳郎, 盛本 太郎, 岩崎 信爾
 田原 隆三, 齋藤 裕, 矢内原 巧
 岡井 崇

UP-22 ヒト子宮内膜間質細胞の superoxide dismutase (SOD) 発現におよぼす TNF α の影響

山口大学医学部産科婦人科学教室 ○原田 綾子, 杉野 法広, 高山 尚子
 山縣 芳明, 中村 康彦, 加藤 絃

UP-23 ヒト妊娠初期脱落膜の Interleukin-15 産生能

関西医科大学産科学婦人科学教室 ○岡田 英孝, 中嶋 達也, 吉村 智雄
 安田 勝彦, 神崎 秀陽

精巣・性ホルモン, 精子・排精

〔演題UP-24~UP-43〕

UP-24 ラット停留精巣モデルの造精障害におけるキサンチンオキシダーゼ系の関与について

秋田大学医学部産科婦人科 ○熊谷 仁, 佐藤 直樹, 谷川 秀郎
 河村 和弘, 熊谷 暁子, 村田 昌功
 福田 淳, 児玉 英也, 田中 俊誠

UP-25 FSHおよびテストステロン抑制状態でのRatの精巣組織変化—Spermiationの定量化について—

横浜市立大学附属市民総合医療センター ○齋藤 和男
 Prince Henry's Institute of Medical Research O'Donnell L, McLachlan RI
 Robertson DM

UP-26 ラットセルトリ細胞に対するGDNFの増殖と生存維持効果

ビー・エム・エル総合研究所研究開発部 ○五十嵐 晃, 胡 建国

UP-27 遺伝的男性不妊モデルマウスに対する GnRH antagonist (Nal-Glu) 療法

大阪大学医学部泌尿器科 ○宮川 康, 東田 章, 山中 幹基
 三浦 秀信, 西村 憲二, 辻村 晃
 松宮 清美, 奥山 明彦
 大阪大学微生物病研究所 西宗 義武

UP-28 ラット雄性配偶子系列における開口分泌関連蛋白の発現

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○田中 宏明, 久慈 直昭, 土屋 慎一
 谷垣 礼子, 浜谷 敏生, 浅田 弘法
 小澤 伸晃, 宮崎 豊彦, 末岡 浩
 吉村 泰典
 杏林大学生理学教室 藤原 智徳, 赤川 公朗

UP-29 過酸化水素曝露精子を用いたマウスICSIの胚発生能に与える影響

聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室 ○石田 恵理*, 栗林 靖, 阿部 有子
菅原 一朗, 斎藤 要, 石塚 文平
聖マリアンナ医科大学泌尿器科学 岩本 晃明
日本大学生物資源科学部動物細胞学* 佐藤 嘉兵

UP-30 マウス精巢上体精子への過酸化水素暴露による受精能への影響

聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室 ○斎藤 要, 栗林 靖, 菅原 一朗
石田 恵理*, 阿部 有子, 石塚 文平
日本大学生物資源科学部動物細胞学* 佐藤 嘉兵

UP-31 運動精子と精液中活性酸素 (Reactive oxygen species : ROS) との関連性に対する検討 (第2報)
—精液所見から見たROS検出率—

横浜市立大学医学部泌尿器科学 ○湯村 寧, 斎藤 和男, 小川 毅彦
佐藤 和彦, 澤田 卓人, 友田 岳志
穂坂 正彦
横浜赤十字病院泌尿器科 岩崎 皓
藤沢市民病院泌尿器科 広川 信

UP-32 精子運動能に対するクロラムフェニコールの影響

山梨医科大学産婦人科学教室 ○山中 智哉, 正田 朋子, 平田 修司
星 和彦

UP-33 ウシ頸管粘液貫通試験 (Penetrak) によるヒト精子運動機能の評価

自治医科大学産科婦人科学 ○高見澤 聡, 柴原 浩章, 種市 明代
田中 寧子, 小川 修一, 出居 貞義
佐藤 郁夫
自治医科大学附属病院臨床検査部 角田 啓道

UP-34 ヒト精子ミトコンドリアにおけるユビキチン化蛋白の存在

山梨医科大学産婦人科学教室 ○正田 朋子, 平田 修司, 星 和彦

UP-35 精子所見からみたAIHの限界について

高邦会高木病院不妊センター ○田内 悦子, 隈本 巧, 西山和加子
渡邊 英明, 河野由佳子, 野崎あすか
野見山真理, 松本 ゆみ, 小島加代子

UP-36 男性不妊症患者の精液所見とAIH成績の関連性について

自治医科大学産科婦人科学 ○小原ひろみ, 柴原 浩章, 種市 明代
藤原 寛行, 小川 修一, 出居 貞義
佐藤 郁夫
自治医科大学附属病院臨床検査部 角田 啓道

UP-37 運動良好精子数からみた配偶者間人工授精の限界

荒川・大桃エンゼルマザークリニック ○荒川 修, 大橋 浩栄, 大桃 幸夫

UP-38 男子不妊症に対する鍼治療の可能性

安城更生病院泌尿器科 ○窪田 裕樹, 佐々木昌一*, 窪田 泰江*
名古屋市立大学医学部泌尿器科学教室* 矢内 良昌, 梅本 幸裕*, 林 祐太郎*
郡 健二郎*

UP-39 ムンプス精巣炎患者の検討

千葉大学医学部泌尿器科 ○今本 敬, 清水 亮行, 小宮 顕
鈴木 啓悦, 戸辺 豊総, 市川 智彦
伊藤 晴夫

UP-40 TESE-ICSI が考慮される患者に対する顕微鏡下精巣内精子採取法 (micro-dissection TESE) の経験

昭和大学医学部泌尿器科 ○坂本 英雄, 五十嵐 敦, 渡辺 政信
吉田 英機
梅ヶ丘産婦人科 辰巳 賢一

UP-41 重度 tapering 精子の出現頻度による重度奇形精子症の ICSI 成績の予後予測の可能性

立川病院産婦人科 ○大澤 淑子, 末岡 浩*, 岩田 壮吉**
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室* 久慈 直昭*, 木村 裕幸, 原 唯純
川崎市立川崎病院産婦人科** 佐藤 博久, 吉村 泰典*

UP-42 小児精索静脈瘤に対する手術療法の検討

千葉大学医学部泌尿器科 ○鈴木 啓悦, 市川 智彦, 小宮 顕
川鉄千葉病院泌尿器科* 清水 亮行, 今本 敬, 鈴木 孝一
川名 庸子*, 伊藤 晴夫

UP-43 MRI による精索静脈瘤の評価

京都府立医科大学泌尿器科学教室 ○邵 仁哲, 納谷 佳男, 河内 明宏
藤戸 章, 三木 恒治
京都府立医科大学放射線医学教室 伊藤 博敏, 西村 恒彦

生殖免疫, 子宮内膜症, 妊娠・流産・不育

〔演題UP-44～UP-53〕

UP-44 IL-6 と可溶性 IL-6 受容体複合体の精子運動能に及ぼす影響

鳥取大学医学部産科婦人科 ○藤井亜希子, 月原 悟, 坂本 靖子
山内 延広, 伊藤 雅之, 大島 順恵
谷口 文紀, 吉田 壮一, 岩部 富夫
原田 省, 寺川 直樹

UP-45 不妊症患者に於ける抗精子抗体 (精子不動化抗体と凝集素) の意義

社会保険徳山中央病院産婦人科 ○小林 正幸, 手山 知行, 平川 修
伊東 武久

UP-46 Transforming growth factor β の卵胞液および顆粒膜細胞発現に関する検討

千葉大学医学部産科婦人科 ○伊藤 桂, 嘉藤 貴子, 末吉 智博
碓井 宏和, 関 克義, 関谷 宗英

UP-47 ラット子宮内膜症モデルにおける子宮内膜症初期病変の形態学的考察

東邦大学第1産科婦人科学教室 ○内出 一郎, 森田 峰人, 中熊 正仁
栃木臨床病理研究所¹⁾ 井原 智美¹⁾, 菅又 昌雄¹⁾, 三浦 妙太²⁾
東邦大学病院病理学教室²⁾ 久保 春海, 平川 舜

UP-48 子宮内膜症, 子宮腺筋症および子宮筋腫とCYP17の遺伝子多型の関連

京都府立医科大学産婦人科学教室 ○門 紀子, 北脇 城, 石原 広章
小柴 寿人, 楠木 泉, 塚本 克美
本庄 英雄

UP-49 子宮内膜症と子宮腺筋症の正所性, 異所性子宮内膜におけるキサンチンオキシダーゼの発現

秋田大学医学部産科婦人科 ○太田 博孝, 田中 俊誠

UP-50 子宮内膜症合併不妊症患者におけるART治療後妊娠の転帰について

兵庫医科大学分娩新生児部¹⁾ ○繁田 実^{1,3)}, 濱田ゆかり²⁾, 長谷川昭子³⁾
兵庫医科大学産婦人科学教室²⁾ 霞 弘之²⁾, 小森 慎二²⁾
兵庫医科大学先端医学研究所発生生殖部門³⁾ 香山 浩二^{1,2,3)}

UP-51 チョコレート嚢胞に対する手術療法後の卵巣機能の評価 —術後 IVF-ET の成績から—

東海大学医学部産婦人科学教室 ○鈴木 隆弘, 和泉俊一郎, 松林 秀彦
奥脇 伸二, 新井 正, 牧野 恒久

UP-52 ART後に経験した discordant twin (DT) の2症例

自治医科大学産科婦人科学 ○平野 由紀, 柴原 浩章, 鈴木 達也
大野 貴史, 高見澤 聡, 出居 貞義
水上 尚典, 佐藤 郁夫

UP-53 宇宙環境が妊娠に及ぼす影響 —マウスを用いた微小重力航空機実験—

名古屋市立大学医学部泌尿器科学教室 ○池内 隆人, 佐々木昌一, 田貫 浩之
小島 祥敬, 神谷 浩之, 山本 洋人
郡 健二郎

一般演題

第 2 日

〈11月24日（金）〉

第2日 11月24日 (金)

一般演題 (口頭発表)

第1会場「メインホール」

ART 5

〔演題O-90～O-94〕 9:00～10:00 座長 加藤 紘 (山口大・婦)

O-90 体外受精・胚移植における子宮動脈血流異常症例に対する低用量アスピリンの有用性に関する検討

新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○菅谷 進, 鈴木 美奈, 永田 裕子
小島 由美, 藤田 和之, 倉林 工
田中 憲一

O-91 Blastocyst stage における凍結融解胚移植の臨床成績

生長会府中病院不妊センター ○原田真木子, 半田 雅文, 唐澤 康広
島田 知代, 浜井 晴喜, 加藤 浩志
小林真一郎, 磯島 晋三

O-92 EFS液を用いたガラス化法による胚の凍結保存の臨床応用の検討

聖隷浜松病院H・ARTユニット ○大塚 仁世, 佐藤 和文, 西垣 新
岡田 久, 渋谷 伸一

O-93 採卵時卵胞洗浄の必要性の検討 (卵胞無洗浄採卵における卵子回収率の解析より)

加藤レディースクリニック ○奥野 隆, 小林 保, 山下 直樹
貝嶋 弘恒, 寺元 章吉, 加藤 修

O-94 ヒト卵子および胚のガラス化保存

加藤レディースクリニック ○桑山 正成, 加藤 修

ART 6

〔演題O-95～O-99〕 10:00～11:00 座長 平原 史樹 (横浜市大・婦)

O-95 Prophase卵を Metaphase-II まで培養した卵の凍結融解後の受精能・胚発生能

立川総合病院産婦人科 ○星野 明生, 平沢 浩文, 小林 弘子
荒川 正人
立川総合病院不妊センター 水沢 直人, 小玉真由美, 服部 和裕

O-96 桑実胚/胚盤胞移植の臨床的検討

弘前大学医学部産科婦人科 ○福井 淳史, 葛西剛一郎, 木村 秀崇
樋口 毅, 藤井 俊策, 齊藤 良治

O-97 前核期融解胚盤胞移植の有用性の検討 (新鮮胚盤胞移植と比較して)

竹内病院トヨタ不妊センター ○横井 寿江, 上畑みな子, 越知 正憲
 藤田保健衛生大学坂文種報徳会病院産婦人科 山口 陽子, 金倉 洋一, 米谷 國男

O-98 前核期凍結融解胚移植後の余剰胚の継続培養により得られた胚盤胞のガラス化法による再凍結胚移植について

加藤レディースクリニック ○内山 一男, 林 輝明, 青木麻紀子
 桑山 正成, 寺元 章吉, 加藤 修

O-99 体外受精における品胎予防策として導入した胚盤胞移植の臨床成績

生長会府中病院不妊センター ○小林真一郎, 半田 雅文, 唐澤 康広
 島田 知代, 原田真木子, 浜井 晴喜
 加藤 浩志, 磯島 晋三

第2会場「国際会議室」

ART 7

〔演題O-100～O-104〕 9:00～10:00 座長 豊田 長康 (三重大・婦)

O-100 胚盤胞の急速凍結法 (Vitrification 法) の有用性について

横田産婦人科医院 ○佐藤 節子, 横田美賀子, 横田 英巳
 横田 佳昌
 高度生殖医療技術研究所 荒木 康久

O-101 前核期胚形態の胚盤胞形成予測能

八千代病院不妊センター ○鈴木 守男, 上田 眞, 吉村 俊和
 丸山 邦之, 近藤 正利

O-102 胚盤胞移植における複数培養の有効性の検討

蔵本ウイメンズクリニック ○江頭 昭義, 元石 睦郎, 杉岡美智代
 梅林 ツナ, 福田貴美子, 東島 利紀
 蔵本 武志

O-103 IVF-ET における Kaufmann 療法後の排卵誘発成績

鹿児島大学医学部産婦人科 ○桑波田理樹, 沖 利通, 丸田 邦徳
 山崎 英樹, 中江 光博, 堂地 勉
 永田 行博

O-104 乏精子症・精子無力症に対する直接的腹腔内人工授精法の有用性とその限界

三重大大学医学部産科婦人科学 ○箕浦 博之, 竹内 茂人, 野田 直美
 鈴鹿回生総合病院不妊センター* 与那覇 斉, 田中 慶介, 西浦 理佳
 磯部 哲也*, 田窪伸一郎*, 豊田 長康

ART 8

〔演題O-105～O-109〕 10:00～11:00 座長 石川 睦男（旭川医大・婦）

O-105 凍結保存した精巣精子を用いての非モザイク型クラインフェルター症候群の妊娠例

越田クリニック ○今野 彰, 片山 弥佳, 望月真佐子
 上田裕美子, 神谷 和美, 越田 光伸
 神戸大学医学部泌尿器科 岡田 弘, 守殿 貞夫

O-106 40代のART

蔵本ウイメンズクリニック ○東島 利紀, 元石 睦郎, 江頭 昭義
 杉岡美智代, 梅林 ツナ, 福田貴美子
 蔵本 武志

O-107 本邦における不妊カウンセラー・IVFコーディネーターの活動状況について

聖隷三方原病院産婦人科 ○塩沢 直美, 高林香代子, 中西 洋乃
 平出理絵子, 杉本 利幸, 岡田 喜親
 望月 修

O-108 卵子提供に対するターナー症候群患者の意識調査

豊橋市民病院不妊センター ○菅沼 信彦, 若原 靖典
 総合上飯田第一病院不妊センター 安藤 智子
 市立半田病院産婦人科 古橋 円
 もりもり小児科 森 理
 小川クリニック 小川 正道

O-109 当科における高度不妊治療後の精神的問題に関する一考察

聖隷三方原病院産婦人科 ○平出理絵子, 高林香代子, 中西 洋乃
 塩沢 直美, 杉本 利幸, 岡田 喜親
 望月 修

第3会場「401・402会議室」

授精・着床 1

〔演題O-110～O-114〕 9:00～10:00 座長 星 和彦（山梨医大・婦）

O-110 当院における体外受精・胚移植の多精子受精発生に関する臨床的検討

スズキ病院産婦人科 ○村川 晴生, 高橋 重智, 立花 郁雄
 飯田 修一, 高橋 克幸, 森 滋
 鈴木 雅洲

O-111 IVF-ETにおける採卵前卵巣血流と受精卵の quality との関連に関する研究

島根医科大学医学部産科婦人科学教室 ○尾崎 智哉, 高橋健太郎, 大西 雄一
 金崎 春彦, 宮崎 康二

O-112 核小体配列パターンと妊娠率

倉敷成人病センター不妊治療部 ○藤井 好孝, 本山 洋明

O-113 胚移植カテーテルへの血液付着が体外受精成績に及ぼす影響について

聖隷三方原病院産婦人科 ○岡田 喜親, 杉本 利幸, 山口万紀子
大石 晃良, 坂田麻理子, 望月 修

O-114 顕微授精の未受精例に対する電気刺激法の効果に関する検討

山梨医科大学産婦人科学教室 ○笠井 剛, 小川 恵吾, 水野 薫子
永井聖一郎, 内田 雄三, 大田 昌治
星 和彦

授精・着床 2

〔演題O-115～O-119〕 10:00～11:00 座長 田中 憲一（新潟大・婦）

O-115 窒素ガス発生装置を用いた低酸素培養法によるヒト胚盤胞培養の検討

永遠幸マタニティクリニック ○豊北 美穂, 桑山 正成*, 藤波 隆一
加藤レディースクリニック* 加藤 修*, 山崎 裕行, 道倉 康仁

O-116 過排卵刺激時における子宮内膜の内視鏡的評価

豊見城中央病院不妊・内分泌センター ○徳永 義光, 本間 裕朗, 佐久本哲郎

O-117 bromocriptine-rebound 法 (BR法) による子宮着床能の改善：子宮内腔液中ホルモン測定のための内腔液採取器具の開発

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○神野 正雄, 星合 敏久, 菅原 新博
酒井 謙, 矢崎 智子, 小野寺潤子
岩下 光利, 中村 幸雄
北里サブライ 井上 保

O-118 精漿による頸管細胞からのインターロイキン-8 産生促進効果

浜松医科大学産婦人科学教室 ○金山 尚裕, 北村 公也, 松山 薫
後藤 淳子, 鈴木 留美, 高田佳世子
松浦 俊樹, 西口 富三

O-119 夫リンパ球移植術の流産阻止作用の性差

医療法人假野クリニック ○假野 隆司, 古殿 正子, 加納万里子
石井みさ子
(株)ファルコバイオシステムズ 前田 豊
大阪医科大学産婦人科学教室 植木 實

第4会場「502会議室」

精子・排精 2

〔演題O-120～O-124〕 9:00～10:00 座長 宮川 征男（鳥取大・泌）

O-120 精子 Ca^{2+} independent PLA2 の先体反応への関与についての検討

大阪大学医学部産婦人科 ○中嶋 敦子, 大橋 一友*, 中村 仁美
 関西労災病院産婦人科* 木村 正, 古山 将康, 東 千尋
 大阪大学分子生理化学(修士)** 村田 雄二, 東城 博雅**

O-121 ヒト精漿および血漿中アデニルプリン構成比と精子先体反応

東京歯科大学産婦人科¹⁾ ○兼子 智,^{1,3)} 小室 浩,²⁾ 郡山 智¹⁾
 明治薬科大学臨床薬理²⁾ 赤星 晃一,¹⁾ 黒島 正子,¹⁾ 宮越 敬¹⁾
 CREST³⁾ 佐久間雄一,¹⁾ 富永英一郎,¹⁾ 竹内 幸一²⁾
 田辺 清男¹⁾

O-122 Long PCR 法によるヒト精子ミトコンドリア DNA 全長の増幅

山梨医科大学産婦人科学教室 ○内田 雄三, 正田 朋子, 平田 修司
 星 和彦

O-123 精子鞭毛に存在する構造蛋白質遺伝子Tektinの単離および解析とhumanへの応用

大阪大学医学部泌尿器科 ○中村 吉宏, 宮川 康, 松宮 清美
 奥山 明彦
 大阪大学微生物病研究所 田中 宏光, 井口 尚子, 野崎 正美
 西宗 義武

O-124 ヒト H19 遺伝子における精子 imprinting mark のメチル化解析

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○浜谷 敏生, 丸山 哲夫, 酒井のぞみ
 山本百合恵, 吉村 泰典

精子・排精 3

〔演題O-125～O-129〕 10:00～11:00 座長 並木 幹夫（金沢大・泌）

O-125 精子受精能評価法に関する検討

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○Victor Takane, 藤原 敏博, 末永 昭彦
 東京大学医学部附属病院分院産科婦人科* 小笠原綾子, 藤本 晃久, 大井なぎさ
 大須賀 稯, 矢野 哲, 堤 治*
 武谷 雄二

O-126 精子中心体機能評価：受精過程後半の胚発生能を予知する新しいアッセイ

東北大学医学部産科学婦人科学 ○寺田 幸弘, 佐藤 由実, 森田 順子
 村上 節, 岡村 州博

O-127 ヒト造精細胞（第一精母細胞）の体外培養下における減数分裂完成の為の培養法の検討

セントマザー産婦人科医院 ○田中 温, 永吉 基
 栗田松一郎, 馬渡 善文, 竹本 洋一
 高崎 博幸, 井手 紀子, 岩本 智子
 長野重紀子, 鍬田 恵里, 竹本 佳世
 神戸大学農学部附属農場 楠 比呂志

O-128 ヒト各種造精細胞の染色体レベルでの鑑別

セントマザー産婦人科医院 ○田中 温, 永吉 基, 栗田松一郎
 馬渡 善文, 田中威づみ, 竹本 洋一
 高崎 博幸, 井手 紀子, 岩本 智子
 長野重紀子, 鍬田 恵里, 竹本 佳世
 神戸大学農学部附属農場 楠 比呂志

O-129 ヒト円形精子細胞の精子への体外成熟培養の検討 - vero cells との共培養 -

セントマザー産婦人科医院 ○田中 温, 永吉 基, 栗田松一郎
 馬渡 善文, 田中威づみ, 竹本 洋一
 高崎 博幸, 井手 紀子, 岩本 智子
 長野重紀子, 鍬田 恵里, 竹本 佳世
 神戸大学農学部附属農場 楠 比呂志

第5会場「501会議室」

内視鏡・手術 1

〔演題O-130～O-134〕 9:00～10:00 座長 工藤 隆一（札幌医大・婦）

O-130 当科における卵管鏡下卵管形成術の成績と予後について

東北大学医学部産科学婦人科学 ○結城 広光, 村上 節, 寺田 幸弘
 岡村 州博

O-131 経卵管采卵管鏡下卵管形成 (TFFT) の適応と妊孕性回復の意義

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○谷垣 伸治, 末岡 浩, 谷垣 礼子
 松田 紀子, 土屋 慎一, 浅田 弘法
 小澤 伸晃, 久慈 直昭, 宮崎 豊彦
 吉村 泰典

O-132 TCR施行症例の術後妊娠の検討

愛知医科大学産婦人科 ○松下 聡, 浅井 光興, 野口 昌良
 中西 正美
 総合大雄会病院産婦人科 増田 知之, 酒向 香

O-133 不妊患者に対する外来 Transvaginal hydrolaparoscopy (THL) の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○佐藤 雄一, 櫻井 明弘, 中野 義宏
 地主 真理, 武内 裕之, 三橋 直樹

O-134 不妊症患者の子宮筋腫核出術後の妊娠に関する検討

岐阜大学医学部産婦人科 ○青木 生美, 操 良, 古井 辰郎
今井 篤志, 岩垣 重紀, 玉舎 輝彦

内視鏡・手術 2

〔演題O-135～O-139〕 10:00～11:00 座長 大濱 紘三 (広島大・婦)

O-135 腹腔鏡補助下子宮筋腫核出術の妊娠成立に対する有用性

鈴鹿回生総合病院不妊センター ○磯部 哲也, 田窪伸一郎
三重大学医学部産科婦人科学 箕浦 博之, 竹内 茂人, 野田 直美
与那覇 斉, 田中 慶介, 西浦 理佳
豊田 長康

O-136 卵巣チョコレート嚢腫に対する腹腔鏡下手術後の妊娠についての検討

富山県立中央病院産婦人科 ○橋本 学, 舟本 寛, 前 喜代子
中島 正雄, 飴谷 由佳, 佐竹紳一郎
小嶋 康夫, 中野 隆, 館野 政也

O-137 多嚢胞性卵巣症候群に対する holmium laser を使用した ovarian drilling の治療成績

済生会神奈川県病院産婦人科 ○岸 郁子, 村田 美穂, 木村 陽子
小西 康博, 中野眞佐男
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 浅田 弘法

O-138 子宮外妊娠に対する腹腔鏡下手術と自然治癒待機療法についての検討

横浜市立大学医学部産婦人科 ○高島 邦僚, 石川 雅彦, 近藤 芳仁
石山 朋美, 村瀬真里子, 横井 夏子
池田万理郎, 平原 史樹

O-139 子宮内膜症合併不妊に対する腹腔鏡下手術の検討

浜の町病院産婦人科 ○大隈 明子, 福原 正生, 小野山一郎
渡辺 良嗣, 佐野 正敏, 中村 元一

一般演題

(示説発表-moderated poster)

第6会場「503・504・505会議室」

授精・着床, ART 1

〔演題P-31～P-35〕 13:00～14:00 座長 田中 忠夫 (慈恵医大・婦)

P-31 ヒト子宮内膜間質細胞の生存および分化に及ぼす Oncostatin M と LIF の意義

大阪市立大学医学部産科婦人科 ○田中 哲二, 阪本 知子, 増田 真希
王 春蓮, 深山 雅人, 荻田 幸雄
和歌山県立医科大学産婦人科 梅咲 直彦

P-32 子宮内膜におけるヘパリン結合性成長因子 Midkine の検出

東京医科大学産婦人科 ○中田 敏英, 井坂 恵一, 鈴木 良知
伊東 宏絵, 臼田 三郎, 福嶺 紀隆
高山 雅臣

P-33 子宮内膜の菲薄に対するエストロゲン療法の効果について

新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○小島 由美, 鈴木 美奈, 永田 裕子
菅谷 進, 藤田 和之, 倉林 工
田中 憲一

P-34 Bromocriptine-rebound 法を併用することで胚の quality が向上するのか?

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○森出 直子, 中川 浩次, 堤 ゆかり
山下 瑞穂, 松本 光弘, 小松 淳子
山野 修司, 青野 敏博

P-35 低分子量G蛋白質Rhoの妊娠初期絨毛における発現と生理的役割

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○酒井 謙, 塩川 滋達, 葉梨 秀樹
杏林大学医学部保健学部* 鈴木 典子, 高橋 康一*, 岩下 光利
中村 幸雄

授精・着床, ART 2

[演題P-36~P-40] 13:00~14:00 座長 金山 尚裕 (浜松医大・婦)

P-36 hCG投与日のE₂値が胚盤胞移植の妊娠率に与える影響に関する検討

生長会府中病院不妊センター ○半田 雅文, 小林真一郎, 原田真木子
唐澤 康広, 島田 知代, 浜井 晴喜
加藤 浩志, 磯島 晋三

P-37 当院における Assisted hatching の臨床成績

レディースクリニック京野 ○千葉せつよ, 福永 憲隆, 松尾 優子
佐藤 智子, 拝郷 浩佑, 針生 光夫
京野 廣一

P-38 GnRHagonist を投与しない IVF-ET の成績

ウィメンズクリニック糸数 ○高宮城直子, 中里 和正, 糸数 健*
糸数病院* 上原 尚, 花城 孝子, 金城利恵子

P-39 体外受精における受精卵の形態と妊娠成否の関連についての検討

内田クリニック ○村尾 明美, 安藤 幸, 内田 昭弘

P-40 不妊因子別および回数別にみたARTの成績

セント・ルカ産婦人科 ○平井 香里, 工藤 英子, 熊迫 陽子
佐藤 真紀, 長木 美幸, 広津留恵子
宇津宮隆史

授精・着床, ART 3

〔演題P-41～P-45〕 13:00～14:00 座長 平川 舜 (東邦大・婦)

P-41 当科における受精卵凍結保存法の工夫

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科 ○田谷 順子, 斉藤 正博, 伊東 宗毅
林 直樹, 石原 理, 木下 勝之
(株)朝日ライフサイエンス 小杉 武夫

P-42 胞胚腔収縮処理を行った胚盤胞凍結法の開発

蔵本ウイメンズクリニック ○元石 睦郎, 江頭 昭義, 杉岡美智代
梅林 ツナ, 福田貴美子, 東島 利紀
蔵本 武志

P-43 ICSI法によりマウス卵に授精させたヒト形態異常精子および不動精子の染色体異常

旭川医科大学生物学教室 ○渡邊 誠二, 上口勇次郎

P-44 当科における体外受精胚移植法 (IVF-ET) による妊娠例の検討

東京医科歯科大学医学部附属病院産科婦人科 ○水口 玲子, 清水 康史, 己斐 秀樹
坂本 秀一, 久保田俊郎, 麻生 武志

P-45 当院における脊髄損傷男性不妊に対する体外受精の検討

社会保険相模野病院母子センター ○本橋恵美子, 根本 玲子, 望月 愛郎
内野 直樹
社会保険相模野病院泌尿器科 佐藤 和彦

診断・検査, 内視鏡, 手術

〔演題P-46～P-50〕 13:00～14:00 座長 峯岸 敬 (群馬大・婦)

P-46 不妊症婦人における血液、腹水中の高感度測定によるビスフェノールA値

東海大学医学部産婦人科学教室 ○奥脇 伸二, 和泉俊一郎, 鈴木 隆弘
松林 秀彦, 村野 孝代, 牧野 恒久

P-47 細径腹腔鏡手術における生理食塩水注入後穿刺法の試み

北海道大学医学部産婦人科 ○佐藤 修, 小田切哲二, 武田 真光
三國 雅人, 工藤 正尊, 藤本征一郎

P-48 THL (transvaginal hydrolaparoscopy) を用いて骨盤内所見はどの程度把握できるのか?

—腹腔鏡下の観察と比較して—

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○武内 裕之, 佐藤 雄一, 三橋 直樹

P-49 妊孕能向上を目的とした保存的手術療法の有効性の検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○西村佳与子, 松浦 講平, 小野田 親
田中 信幸, 岡村 均

P-50 高周波細径プローブを用いた Laparoscopy-assisted intrapelvic sonography による卵巣の観察

三宅医院産婦人科 ○妹尾 大作, 國方 健児, 三宅 馨
香川医大母子科学講座周産(生)期学 秦 利之

統計, その他 1

〔演題P-51～P-55〕 13:00～14:00 座長 梅咲 直彦 (和歌山県医大・婦)

P-51 男性不妊患者における染色体変異の検討

東邦大学医学部泌尿器科学第一講座 ○工藤 貴正, 三浦 一陽, 吉田 淳
永尾 光一, 原 啓, 西見 大輔
中島 耕一, 石井 延久

P-52 当院における機能性不妊症の診断と治療成績

近畿大学医学部産婦人科 ○辻 勲, 高瀬規久也, 向林 学
三橋 洋治, 中野 太郎, 星合 昊

P-53 クラミジア抗体価と卵管周囲癒着に関する検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○小堀 宏之, 武内 裕之, 三橋 直樹

P-54 採卵時麻酔後の回復過程と不妊治療成績: プロポフォールとケタミンの比較

埼玉医科大学総合医療センター麻酔科 ○照井 克生, 半田 富美, 川添 太郎
埼玉医科大学総合医療センター産婦人科 田谷 順子, 伊東 宗毅, 斎藤 正博
林 直樹, 石原 理, 木下 勝之

P-55 日本人正常男性の生殖機能についての国際調査—非選択的若年者を対象として—

聖マリアンナ医科大学泌尿器科学 ○西田 智保, 岩本 晃明, 矢島 通孝
星野 孝夫, 馬場 克幸, 松下 知彦
山川 克典, 宮野 佐哲, 吉池 美紀
野沢資亜利

統計, その他 2

〔演題P-56～P-60〕 13:00～14:00 座長 石丸 忠之 (長崎大・婦)

P-56 男性不妊症の実態に関する研究

東邦大学医学部泌尿器科学第一講座 ○三浦 一陽, 永尾 光一
博慈会記念総合病院 白井 將文

P-57 自然妊娠カップルの出生児における健康アンケート調査結果

—妊婦のパートナーを対象とした男性生殖機能国際調査より—

聖マリアンナ医科大学泌尿器科学 ○宮野 佐哲, 岩本 晃明, 矢島 通孝
星野 孝夫, 馬場 克幸, 松下 知彦
山川 克典, 西田 智保, 吉池 美紀
野沢資亜利

P-58 不妊クリニックにおけるカウンセリングの構成と機能

IVF大阪クリニック ○山口 美穂, 岩本 英熙, 中岡 義晴
河田 淳, 福田 愛作, 森本 義晴

P-59 不妊治療の満足度調査

岡山二人クリニック ○林 伸旨, 名越 一介, 杉山喜代美

P-60 生殖補助医療技術に対する国民および医師の意識調査

昭和大学医学部産科婦人科学教室 ○岩崎 信爾, 田原 隆三, 藤間 芳郎
矢内原 敦, 齋藤 裕, 矢内原 巧
岡井 崇
山梨医科大学保健学Ⅱ講座 山縣然太郎

一 般 演 題

(示説発表—unmoderated poster)

第6会場「503・504・505会議室」

受精・着床, ART

〔演題UP-54～UP-92〕

UP-54 脱落膜および絨毛における 20α -ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (HSD) の発現

関西医科大学産科学婦人科学教室 ○中嶋 達也, 岡田 英孝, 吉村 智雄
中嶋真由美, 安田 勝彦, 神崎 秀陽

UP-55 トロンピンはトロフォブラストの浸潤能を matrixmetalloproteinase (MMP) を介して促進する

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生殖機能協同学 ○己斐 秀樹, 清水 康史, 坂本 秀一
久保田俊郎, 麻生 武志

UP-56 マウス子宮における Neuropeptide Y の発現と着床前後期における時間的空間的推移

三重大学医学部産科婦人科学 ○与那覇 齊, 箕浦 博之, 竹内 茂人
野田 直美, 田中 慶介, 西浦 理佳
豊田 長康

UP-57 ヒトとマウスの子宮内膜におけるインテグリン $\beta 3$ の発現

いしかわクリニック ○大門江津子, 石川 元春
大阪府立母子保健総合医療センター研究所 和田 芳直
大阪大学蛋白質研究所 関口 清俊

UP-58 ヒト子宮内膜におけるアミノペプチダーゼA/アンギオテンシナーゼの発現

名古屋大学医学部産婦人科 ○安藤 寿夫, 戸田 繁, 塚原慎一郎
小谷 芳明, 正橋 鉄夫, 水谷 栄彦

UP-59 ヒト子宮内膜における胎盤性ロイシンアミノペプチダーゼ／オキシトシナーゼの発現

名古屋大学医学部産婦人科 ○戸田 繁, 安藤 寿夫, 塚原慎一郎
小谷 芳明, 正橋 鉄夫, 水谷 栄彦

UP-60 マウス胚由来長期培養系の樹立と性状

石渡産婦人科病院¹⁾ ○時枝由布子,¹⁾ 石渡 勇,¹⁾ 井口めぐみ¹⁾
聖マリアンナ医科大学東横病院産婦人科²⁾ 石渡千恵子,¹⁾ 岡根 夏美,¹⁾ 木口 一成²⁾
東京慈恵会医科大学解剖³⁾ 立花 利公,³⁾ 橋本 尚詞,³⁾ 佐藤 嘉兵⁴⁾
日本大学生物資源科学部動物細胞学⁴⁾ 石川 博³⁾

UP-61 マウス卵細胞質移植における卵細胞質の注入量の検討

山梨医科大学附属病院産婦人科 ○永井聖一郎, 笠井 剛, 星 和彦
ハワイ大カピオラニ病院産婦人科 Thomas Huang

UP-62 腹水濾過濃縮再還流法による卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) の治療

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室 ○伊藤嘉奈子, 間崎 和夫, 渋谷 幸裕
塩川 素子, 橋田 英, 中野由起子
雀部 豊, 池永 秀幸, 安部 裕司
久保 春海, 平川 舜

UP-63 ARTに伴うOHSS入院の統計と低用量ドーパミン-フロセミド併用療法

川鉄千葉病院産婦人科 ○赤間 晴雄, 遠藤 詩織, 嘉藤 貴子
布山 隆史, 内藤 正文

UP-64 高純度FSH製剤単独によるART卵胞刺激

倉敷成人病センター不妊治療部 ○本山 洋明, 藤井 好孝

UP-65 GnRHaを使用しないホルモン補充周期胚移植 (nonGnRHa HRC-ET) におけるホルモン動態の解析

加藤レディースクリニック ○寺元 章吉, 小林 保, 奥野 隆
山下 直樹, 貝嶋 弘恒, 加藤 修

UP-66 Influence of Endometrial Thickness and Pattern on Pregnancy Rates in IVF-ET

自治医科大学産科婦人科学 ○Tawati. A, 柴原 浩章, 小原ひろみ
平野 由紀, 鈴木 達也, 高見澤 聡
出居 貞義, 佐藤 郁夫

UP-67 凍結胚移植のHRCに用いるエストラダームM, estradiol 17 β valerate の筋注の効果

斗南病院産婦人科 ○東口 篤司, 金沢 朋扇, 枳尾 和美
高階 俊光, 野田 雅也, 竹内 瑞絵

UP-68 凍結融解精巣内精子を用いた反復ICSIの有効性

レディースクリニック京野 ○福永 憲隆, 松尾 優子, 千葉せつよ
佐藤 智子, 拝郷 浩佑, 針生 光夫
京野 廣一

UP-69 凍結分割胚蘇生率向上の為の凍結融解条件の検討

セントマザー産婦人科医院

○楢田 恵里, 田中 温, 永吉 基
栗田松一郎, 馬渡 善文, 田中威づみ
竹本 洋一, 高崎 博幸, 井手 紀子
岩本 智子

UP-70 選択的2個胚移植の有用性について

聖隷浜松病院不妊内分泌センター

○西垣 新, 岡田 久, 渋谷 伸一
佐藤 和文, 大塚 仁世

UP-71 胚移植時の培養液量と妊娠率に関する検討

荒川・大桃エンゼルマザークリニック

○大橋 浩栄, 大桃 幸夫, 荒川 修

UP-72 体外受精・胚移植時の腹水中サイトカイン濃度測定の意義

済生会下関総合病院産婦人科

○石松 正也, 田村 博史, 高崎 彰久
森岡 均

UP-73 胚移植時, 移植後の ritodrine hydrochloride と NSAID 併用の有効性

諏訪リプロダクションセンター

諏訪マタニティークリニック

○吉川 文彦, 滝沢 洋美, 宮坂 美穂
朝日 佑香, 矢島 深雪, 船木 圭美
龍田真由美, 根津 八紘

UP-74 良好胚を得られなかった IVF-ET 不成功例に対する次回 IVF 前の Danazol 投与の有用性

トヨタ記念病院不妊センター

○森脇 崇之, 日比 博子, 早川 美奈
岸上 靖幸, 鈴木 正樹, 小口 秀紀
三輪 忠人

UP-75 マウス前核置換卵子の前核の同期化が体外発生に及ぼす影響の検討

加藤レディースクリニック

○水野 仁二, 桑山 正成, 山下 直樹
奥野 隆, 小林 保, 加藤 修

UP-76 マウス卵子における極体-MII plate の位置関係

加藤レディースクリニック

○大久保 毅, 水野 仁二, 青野 文仁
桑山 正成, 加藤 修

UP-77 FISH法による極体診断の試み

セントマザー産婦人科医院

○馬渡 善文, 田中 温, 永吉 基
栗田松一郎, 田中威づみ, 竹本 洋一
高崎 博幸, 井手 紀子, 岩本 智子

UP-78 ICSI自体が兄の異常を引き起こしうるか? ICSIでの異常なヒト精子頭部脱凝縮と first cell cycle of fertilization.

東北大学医学部産科学婦人科学

○寺田 幸弘, 佐藤 由実, 森田 順子
村上 節, 岡村 州博

UP-79 ヒト胚の染色体核型分析におけるSKY法の有用性の検討

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○佐藤 剛, 青山 和史, 鈴木 由佳
松原 寛和, 生田 克夫, 鈴森 薫

UP-80 Conventional IVF と GIFT の治療成績の比較

松戸市立病院産婦人科 ○橋本 和美, 平川 正喜, 大森万里子
金子 透子, 小竹 和美, 田巻 勇次

UP-81 原因不明受精障害に対するICSIの臨床成績

高邦会高木病院不妊センター ○渡邊 英明, 隈本 巧, 河野由佳子
田内 悦子, 西山和加子, 野崎あすか
野見山真理, 松本 ゆみ, 小島加代子

UP-82 当院における無精子症患者の治療成績

蔵本ウイメンズクリニック ○梅林 ツナ, 元石 睦郎, 江頭 昭義
杉岡美智代, 福田貴美子, 東島 利紀
蔵本 武志
小野田市立病院泌尿器科 瀧原 博史
原三信病院泌尿器科 小松 潔

UP-83 当科における TESE-ICSI の臨床成績

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室 ○渋井 幸裕, 安部 裕司, 間崎 和夫
伊藤嘉奈子, 塩川 素子, 橋田 英
中野由起子, 雀部 豊, 池永 秀幸
久保 春海, 平川 舜
東邦大学医学部泌尿器科学第一講座 三浦 一陽

UP-84 MESA, TESE を用いた ICSI の臨床成績と病理検査

広島大学医学部産科婦人科学教室 ○香月 孝史, 原 鐵晃, 大濱 紘三

UP-85 TESE-ICSI の治療成績

木場公園クリニック ○吉田 淳, 神山 洋, 吉田 マキ
高橋 暁子, 鈴木 寛規
東邦大学医学部泌尿器科学第一講座 三浦 一陽

UP-86 顕微鏡下精巣組織採取術

愛知医科大学泌尿器科教室 ○日比 初紀, 瀧 知弘, 山田 芳彰
本多 靖明, 深津 英捷
富士小山病院 山本 雅憲
ナカジマクリニック不妊センター 浅田 義正

UP-87 反復AIH施行症例における妊娠成立寄与因子に関する検討

弘前大学医学部産科婦人科 ○葛西剛一郎, 木村 秀崇, 福井 淳史
樋口 毅, 藤井 俊策, 齊藤 良治

UP-88 精巣内精子採取術における精巣組織テストステロン値の意義

鳥取大学医学部泌尿器科 ○山本 泰久, ニコラオス ソフィキティス
宮川 征男

UP-89 機能性不妊症に対する clomifene+FSH 療法の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○桜井 明弘, 島貫 洋人, 佐藤 雄一
武内 裕之, 三橋 直樹

UP-90 Kartagener症候群と cystic fibrosis との鑑別が必要とされる CBAVD の一例

セントマザー産婦人科医院 ○栗田松一郎, 田中 温, 永吉 基
馬渡 善文, 田中威づみ
九州大学生体防御医学研究所附属病院遺伝外来 松田 貴雄, 小川 昌宣, 吉河 康二

UP-91 IVF-ET 後の子宮内外同時妊娠 (頸管妊娠) の一例

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○小野田 親, 末永 義人, 本田 律生
大場 隆, 松浦 講平, 岡村 均

UP-92 IVF-ET における卵巣妊娠の2症例

石渡産婦人科病院 ○石渡 勇, 横田 治重*, 廣井 久彦*
日立製作所日立総合病院産婦人科* 樽本 祥子*, 岡根 夏美, 石渡千恵子
時枝由布子, 井口めぐみ

診断・検査, 内視鏡, 手術

〔演題UP-93~UP-104〕

UP-93 hCG 投与後の卵巣血行動態解析による排卵予知法における最適指標に関する検討

金沢医科大学産科婦人科学教室 ○早稲田智夫, 渡辺 之夫, 藤井 亮太
金子 利朗, 牧野田 知

UP-94 腹腔鏡下手術におけるラリンジアルマスクの安全性

東京大学医学部附属病院分院産科婦人科 ○石山 巧, 西井 修, 高井 泰
五十嵐敏雄, 木戸 道子, 竹内 亨
小島 俊行, 加藤 賢朗, 堤 治

UP-95 腹腔鏡前後の心理状態と精神的ストレス

セント・ルカ産婦人科 ○實崎 美奈, 柴田 令子, 広瀬美代子
倉橋千鶴美, 指山実千代, 宇津宮隆史

UP-96 腹腔鏡下での卵管鏡下卵管形成 (FT) システムの有用性の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○中野 義宏, 桜井 明弘, 佐藤 雄一
地主 真理, 武内 裕之, 三橋 直樹

UP-97 腹腔内筋腫核出操作が有効であった靱帯内筋腫のLAVH症例

鹿児島大学医学部産婦人科 ○山崎 英樹, 沖 利通, 桑波田理樹
 中江 光博, 吉永 光裕, 堂地 勉
 永田 行博

UP-98 腹腔鏡施行患者における月経痛に関する検討

長崎大学医学部産科婦人科学教室 ○蓮尾 敦子, 藤下 晃, 宮村 泰豪
 北島 道夫, カレク・ネワズ・カーン
 増崎 英明, 石丸 忠之

UP-99 多嚢胞性卵巣症候群における腹腔鏡下卵巣蒸散術の有用性の検討

三重大学医学部産科婦人科学 ○竹内 茂人, 箕浦 博之, 田中 慶介
 鈴鹿回生総合病院不妊センター* 与那覇 斉, 野田 直美, 二村 典孝
 磯部 哲也*, 田窪伸一郎*, 豊田 長康

UP-100 当院における腹式子宮筋腫核出術の妊娠予後に対する検討

東北大学医学部産科学婦人科学 ○門脇 正裕, 村上 節, 森田 順子
 佐藤 由美, 中村 聡一, 寺田 幸弘
 岡村 州博

UP-101 PCOに対する腹腔鏡下多孔術の予後についての検討

東邦大学医学部附属佐倉病院産科婦人科学教室 ○矢野ともね, 難波安哉美, 斎藤 智博
 大高 究, 木下 俊彦, 伊藤 元博

UP-102 不妊症における子宮内膜ポリープにTCRをおこなうべきか?

荻窪病院産婦人科 ○北村 誠司, 竹原 祐志, 片山恵利子
 杉山 武, 飯田 悦郎

UP-103 当院における日帰り手術

本場公園クリニック ○神山 洋, 吉田 淳
 東京大学医学部附属病院分院産科婦人科 西井 修, 堤 治
 上尾中央総合病院麻酔科 佐々木 健, 藤岡 丞

UP-104 単角子宮卵管切除後, 切除側の残存卵管と対側卵管を端々吻合した4例

虎ノ門病院産婦人科 ○塩田 恭子, 古屋 智, 山田 義治
 佐藤 孝道

統計, その他

[演題UP-105~UP-119]

UP-105 不妊専門クリニックにおける男性不妊に関する臨床的検討

岡山大学医学部泌尿器科学教室 ○永井 敦, 渡部 昌実, 井口 裕樹
 公文 裕巳
 岡山二人クリニック 林 伸旨, 名越 一介

UP-106 男性不妊と心理（意識調査の分析）

昭和大学藤が丘病院泌尿器科 ○坂本 正俊, 池内 隆夫
昭和大学藤が丘病院精神科 北村 勉

UP-107 ARTを受ける患者の年齢による心理過程の比較

蔵本ウイメンズクリニック ○伊藤 弥生, 福田貴美子, 蔵本 武志

UP-108 不妊治療を終えて養子縁組を選択した夫婦の場合

医療法人三秀会中央クリニック ○浜崎 京子, 松田 光枝, 菅原真理子
輪島 順子, 伊澤 由美, 本山 光博

UP-109 二人目不妊症患者のメンタルヘルスケアを考える ―事例を通して―

医療法人三秀会中央クリニック ○菅原真理子, 松田 光枝, 輪島 順子
伊澤 由美, 浜崎 京子, 本山 光博

UP-110 不妊治療中に流産となった患者の心理

セント・ルカ産婦人科 ○品矢 悦子, 原井 淳子, 指山実千代
宇津宮隆史

UP-111 不妊治療経験が母性理念に与える影響

セント・ルカ産婦人科 ○柴田 令子, 原井 淳子, 斉高 美穂
二宮 睦, 宿利 佳子, 内藤 多恵
宇津宮隆史

UP-112 「配偶子（精子／卵子）提供による体外受精および代理母出産」に関する不妊治療中の夫婦の意識調査

越田クリニック ○齋藤 良子, 坂本美弥子, 片山 弥佳
越田 光伸

UP-113 配偶者間人工授精の妊娠率に影響を及ぼす因子の検討

愛知医科大学産婦人科 ○佐藤 英子, 浅井 光興, 前田 佳子
鈴木 正利, 野口 昌良, 中西 正美

UP-114 不妊相談センターを開設して

香川県立中央病院産婦人科 ○川田 清弥

UP-115 不妊外来におけるクリニカルパス導入の試み

蔵本ウイメンズクリニック ○福田貴美子, 山下 美和, 東島 利紀
蔵本 武志

UP-116 抗うつ剤SSRI内服が著効した、早漏を主要因とする不妊カップルの一例

両津市民病院産婦人科 ○加藤 龍太

UP-117 KAL遺伝子異常を認めたKallmann症候群の兄弟例

東京大学医学部泌尿器科学教室 ○高橋さゆり, 箕和田 滋, 北村 唯一
 国立小児病院小児医療研究センター 佐藤 直子, 勝又 規行, 田中 敏章

UP-118 妊娠が成立した早発閉経の3例

北里大学医学部産婦人科 ○藤田 一博, 川内 博人, 石川 雅一
 中村 水緒, 西島 正博

UP-119 不妊治療により子宮内外同時妊娠・流産となり, その手術時に偶然見つかった卵巣悪性腫瘍の1例

県西部浜松医療センター産婦人科 ○中島 彰, 前田 真

招 請 講 演
特 別 講 演
教 育 講 演

招請講演 1

FSH RECEPTOR MUTATION AND MALE INFERTILITY

Juha Tapanainen

Department of Obstetrics and Gynecology,
Oulu University Hospital, 90220 Oulu, Finland

Follicle-stimulating hormone (FSH) is essential for normal reproductive functions. FSH together with luteinizing hormone (LH), is necessary for the growth and differentiation of mammalian gonads in both sexes. In the ovary, FSH is needed for normal development of follicles. In the testis, FSH is generally considered essential for the pubertal initiation of spermatogenesis, and in adults it is required for normal spermatogenesis.

Mutations of the gonadotropin genes are extremely rare. On the other hand, several gonadotropin receptor mutations have been recently discovered. Most of these reports describe mutations in the LHR gene, and only four inactivating and one activating mutation of FSHR gene have been described. The phenotype of the inactivating mutation has been described both in men and women, but the activating mutation has only been characterized in a male with gonadotropin deficiency.

The first inactivating mutation of the FSHR gene was found in the Finnish women with hypergonadotropic ovarian dysgenesis (ODG). All of them had primary amenorrhea and infertility. The mutation was found in the extracellular ligand-binding domain of the protein. A C566T transition in exon 7 of FSHR predicting an Ala to Val substitution at residue 189 was found to cause ODG. Functional analysis demonstrated a dramatic reduction of binding capacity and signal transduction, but apparently normal ligand binding affinity, of the mutated FSHR. Five of 15 male sibs of the affected females appeared homozygous for the FSHR mutation. All of them had normal serum testosterone levels and were normally masculinized. Although the affected men had low-normal to clearly low testicular volume, none of them was azoospermic, and two of them had fathered children. Our recent stimulation studies on patients with inactivating FSHR mutation have confirmed that the mutation at residue 189 causes a complete blockade of FSH action. This demonstrated that in contrast to earlier contentions normal FSH action is not an absolute requirement for spermatogenesis as it is for ovarian follicle maturation. Studies with FSH β and FSHR knock-out mice support this concept. FSH deficient male mice had smaller testes than wild-type and heterozygous littermates, but were fertile.

These findings indicate that spermatogenesis and fertility occur despite lacking FSH action and suggest that FSH is more important for female than male fertility. Thus, it seems that the female reproductive tract is predominantly FSH dependent and possibly less dependent on LH action. On the contrary, the male reproductive organs may be more sensitive to changes in LH and androgen activity, and less strictly dependent on normal FSH activity.

招請講演2

Inhibins, activins and female reproduction.

Felice Petraglia, Stefano Luisi,
Pasquale Florio, Luigi Cobellis.

Chair of Obstetrics and Gynecology, University
of Siena, Siena, Italy.

The inhibin-related family is composed by multifunctional glycoproteins involved in the control of various organs and systems, but the major role seems to be related to the development and function of the female reproduction system, in particular ovary, uterus and placenta.

In the ovary, activin induces FSH receptors and enhances the proliferation of granulosa cells in vitro, while inhibin antagonize this effect, characterizing an autocrine regulation of granulosa cell proliferation. The ovarian follicles, before the menarche, produce inhibins in strict proportion, and in progressively greater amounts as puberty proceeds. The serum levels of inhibins change during the menstrual cycle, while activin A concentration does not change significantly both during puberty and during the ovulatory cycle. Two major forms of inhibins are recognized: inhibin A levels are low in the early follicular phase and rise in the late follicular phase, to reach highest concentration in the luteal phase, inhibin B levels rise rapidly from the beginning of the follicular phase, with a peak following the FSH rise and a progressive fall during the remainder of the luteal phase. The concentrations of inhibin A and inhibin B at day 1-4 are not better than age and number of oocytes in predicting the IVF outcome, although lower FSH and higher inhibin B are associated with greater chance of pregnancy, however, during ovarian stimulation, higher concentration of inhibin A and B in serum are associated with successful IVF.

In post-menopause, both inhibin concentrations are lower, becoming nearly undetectable and this fall is precocious for inhibin B levels. The serum levels of activin A do not vary significantly after menopause suggesting that ovary is not the major source of circulating activin A. Serum inhibin levels decrease in premature ovarian failure, while levels of activin A are higher in patients with hypotalamic hypogonadotropic amenorrhea.

Postmenopausal women with ovarian cancer show high levels of inhibin A or inhibin B. In particular, serum levels of inhibin B are elevated in patients with granulosa cells tumors, while inhibin A levels are high in some patients with serous or mucinous ovarian tumors. Activins have a potent mitogen effect on the granulosa cells, and a different expression of inhibin and activin subunits may contribute to an abnormal cellular proliferation. In fact, several patients with epithelial tumors have elevated also activin A concentration.

The endometrium is another source of activin A and inhibins. They may have a local effect on cell proliferation and high levels of activin A have been found in women with endometrial carcinoma. In peritoneal fluid of healthy women are observed high levels of inhibin A and B which mimic the serum cyclic changes. Endometriotic women have normal levels of inhibins or activin A, even though high concentration has been found in ovarian endometriotic cystic fluid.

During pregnancy the placenta is the main site of production of these proteins. Throughout gestation inhibin A and activin A concentration have a similar pattern of secretion with an increase during the third trimester to reach a peak at term. Inhibin B levels are similar to those of before the pregnancy and show a significant rise during the third trimester. In amniotic fluid, activin A is measurable in high amounts during the second and the third trimester of pregnancy, and cocloomic fluid levels are significantly higher than in maternal serum and amniotic fluid. Increased activin A levels in amniotic fluid at midtrimester have been described in a group of women who later had fetal demise. High inhibin A levels at midtrimester have been described in pregnant women carrying Down's syndrome. Increased activin A and inhibin A levels at midtrimester may predict those patients who will later develop preeclampsia. Maternal levels of two factors are also high in hypertension pregnant women. Pregnant women with gestational diabetes or preterm labor show high levels of activin A. The increased mRNA activin expression in placenta and membranes of women with maternal labor support a possible role of activin A in the local mechanisms of parturition.

In conclusion, inhibins and activins play an important biological role in the regulation of hypothalamus-pituitary-ovary axis, and further studies will elucidate the physiological and clinical implications of these proteins.

特別講演1

内分泌攪乱物質と生殖能

東京大学医学部分院産科婦人科学教室

堤 治

二十世紀後半の科学文明の爆発的展開は人類にかつてない繁栄をもたらすと同時に、地球環境の汚染という大きな問題を生じた。環境汚染物質中には毒物としての性質以外に、環境中に存在する濃度で正常なホルモン作用に影響を与え内分泌攪乱物質（環境ホルモン）として働くものがある。「奪われし未来」に示されたように内分泌攪乱物質のいくつかは野生動物の生殖異常を引き起こし、動物種によっては絶滅の危機に瀕しているものもある。実験動物でも生殖機能を中心に従来の毒物学では理解できない、low dose effect の研究が開始されている。ヒトへの健康影響への有無は不明な点が多いが、内分泌攪乱物質は蓄積性が高く、食物連鎖の頂点にある人類において生殖能との関連を解明すべき時に至っていると考ええる。

内分泌攪乱物質としてかつて大量に使用されたPCB、DDTが挙げられる。これらは使用が中止されて数十年がたった今も汚染物質として検出されている。ダイオキシンは法規制により99年耐容一日摂取量が4pg/kg/dayに設定され削減が図れている。これに対してビスフェノールA (BPA)、フタル酸、ノニルフェノール、スチレン多量体等は年間数十万トンレベルで多量に生産消費されている。これらはngないしμgのオーダーで摂取されているのが現状である。これら物質のヒトへの汚染の実態を調査すると、血液、脂肪組織等はもちろん卵胞液や精液、羊水等からも検出され、生殖系への汚染も無視できない。またダイオキシンは母乳中に濃縮され乳児期の摂取は100pg/kg/dayに及ぶ。

我々は汚染の評価をおこなう一手段として各種動物実験モデルを使用している。その中で最も鋭敏と考えられるのは初期胚発育モデルである。ダイオキシンでは1pM、BPAでは1nM程度で毒性で見られる抑制効果とは逆の促進効果を認め、いわゆる low dose effect が検出され则认为。これらの被爆胚は子宮に移植することにより産子を得ることができ、着床前の感受性の高い時期の被爆の次世代への影響も検出できる。また胚におけるエストロゲンレセプター(ER α , β)の発現や分子レベルの研究は内分泌攪乱物質作用の解明という研究分野を拓く可能性もある。serendipityという言葉は思いがけないものの発見や求めずして思わぬ発見をする能力をさすが、内分泌攪乱物質研究には生殖能に限らず様々な医学や科学の分野に結びつく抜け道があるように思う。2000年というこの時に人類の未来と内分泌攪乱物質の関係を考えるとともに、我々の最新の研究成果も報告したい。

特別講演2

真の意味での男性不妊治療はどこまで進んだか

神戸大学医学部泌尿器科学教室

岡 田 弘

神戸大学医学部附属病院泌尿器科では、1967年初代の故石神教授が赴任されて以来30年以上特殊外来として男性不妊外来を開設している。1960年代から1970年代にかけてAIH、AIDが開始されたり、内分泌学的検査法の進歩と相俟って卵巣機能異常が原因の不妊症の治療は大きな進歩をとげた。さらに1980年代には生殖補助技術(ART)として体外受精(conventional IVF-ET)が開始され、卵管因子による不妊症に福音をもたらした。すなわち、女性不妊の治療は大きな成功をおさめた。さらに、ARTは conventional IVF-ET から GIFT, SUZI, ICSIへと変遷を経てきた。ARTが男性不妊患者に女性同様に福音をもたらしたかを、ART実施施設に対して、乏精子症・精子無力症・奇形精子症などの男性不妊患者を送ってきた、男性不妊患者を扱うアンドロロジストの立場から集計すると、ICSI出現以前は30～35%の対患者当り妊娠率にすぎなかったものが、ICSIにより75%にまで改善した。すなわち、ICSIが行えるようになって初めて男性不妊患者はARTの恩恵を受けたことになる。

この間の男性不妊治療をふりかえると、女性不妊におけるARTの出現に見られるようなドラマチックな変化は見られていない。このため、男性不妊の究極の治療はICSIであると考えられがちである。しかし、理想的な不妊治療の最終目標をカップル間の自然な性交による妊娠・出産とするならば、ICSIに代表される modern ART は児を得る手段で、『真の意味での男性不妊治療』とは言えないと考えられる。

本講演では、まず男性不妊に対する我々の行ってきた種々の治療法について『真の意味での男性不妊治療』としてどのような意味を持っているのかを以下の観点から述べる。

1. 男性不妊に対する薬物療法（非内分泌療法・内分泌療法）の成績と問題点。
2. 男性不妊に対する外科的療法の成績と問題点。特に精索静脈瘤に対する外科的治療・閉塞性無精子症に対する精路再建術。

次に、ICSIにより男性不妊患者カップルが挙児可能になったために生じた遺伝学的問題点に関して、先天性両側精管欠損症患者カップルにおける囊法線維症の責任遺伝子 CFTR gene の解析結果、乏精子症患者におけるY染色体長腕の microdeletion の解析結果を中心に述べる。

さらに、genetic counseling の重要性和問題点について、精巢精子採取法を手術用顕微鏡下に microdissection 法によっておこなうことにより、50%の患者で精子回収可能となったKlinefelter症候群患者カップルを例にとって述べる。

最後に、男子不妊症のうち大半を占める特発性造精機能障害患者に対する治療法の開発につながる in vitro での精子形成実験の現状と将来展望について述べる。

教育講演1

Genetic counseling の目的と限界

虎の門病院産婦人科

佐藤 孝道

遺伝、不妊、癌、生活習慣病など医療のさまざまな分野でcounselingの必要性が訴えられている。しかし、診療行為として広く認められるには至っていない。Genetic counseling(以下、GC)もそうした医療counselingの一つであるが、実際の診療行為としては我が国でも30年近い歴史を持っている。

遺伝、不妊、癌、生活習慣病などでは、医療が進歩し患者はそれぞれの『疾患』から解放される可能性も出てきているが、なお『疾患』との共存が求められる場合が多い。『疾患』との共存のために患者は自分自身の価値観や人生観の変更を余儀なくされるだけではなく、自分と周囲との新たな関係の構築が求められる。患者が『自分の存在価値』に自信を失うこともある。GCでは、遺伝性疾患を持った人たちやその家族が、(1)疾患や自分の状況を客観的に評価し、(2)医療あるいは関連した適切な情報を得ることを通して、(3)自分自身および周囲との関係の再構築を自律的に行うことを支援する。

GCの場合において、counselee(来談者)はcounselorとのcommunication processを通して自律的判断をすることになるが、その判断は、しばしば社会の考え方や動きに大きく左右される。

不妊治療の分野でも近年のARTの進歩によって、reproductionと、とりわけ染色体異常の間の密接な関係が明らかになった。ICSIや着床前診断も新たな問題を投げかけており、この分野でもGCの充実が求められている。

counseleeの最大の関心事が、未来の自分たちの子どもである点に、この分野のGCの特徴がある。counseleeにとって子どもはまだ具体的存在ではなく、イメージとしてしか捉えられない。つまり社会の考え方や動きに強く影響される可能性があり、counselorとしてはcounseleeの自律性(autonomy)を尊重するとともに、社会に対する適切な情報提供も併せて行う必要がある。

教育講演2

卵形成と排卵

東北大学大学院農学研究科動物生殖科学分野

佐藤 英明

哺乳類の卵形成、排卵について、遺伝子改変マウスや突然変異モデルラットを用いた研究が進んでいるが、演者らも卵形成、成熟、排卵についてブタなどの家畜やc-mosノックアウトマウスや遺伝的小人症(rdw)ラットを用いていくつかの事実を明らかにしたので紹介したい。

卵成熟開始については哺乳類では下等動物とは異なった機構が存在するが、演者らは卵成熟誘起シグナルをうけて卵母細胞内の maturation-promoting factor (MPF) が活性化する過程にMAPキナーゼカスケードのリン酸化がかかわることや核内に導入した活性化MAPキナーゼが卵成熟誘起を誘導することを観察している。一方、成熟卵は第二減数分裂中期で休止し、排卵され、受精を待つが、c-mosノックアウトマウスを用いた解析により、この休止にc-mos遺伝子産物がかかわることを明らかにした。すなわち、c-mosノックアウト卵母細胞では活性化が高頻度で誘起されるとともに、受精しても「第三減数分裂中期」となり減数分裂から脱出できない卵母細胞が多い。

排卵数の決定には性腺刺激ホルモンの分泌、およびそれに対する卵巣の受容機構の2つがかかわっているが、それらを結びつけるものは血管である。このようなことから血管網の新生・退行を制御することにより、性腺刺激ホルモンの作用効率が上昇し、その結果、排卵数が増加すると予想される。さらに卵巣の血管網の発達には局所性があるが、このような局所性がなくなれば、卵胞発育の選択性もなくなると予想される。このような考えの下に排卵不全のrdwラットの排卵について解析してきたが、甲状腺ホルモンを投与することにより、排卵が可能となり、体外受精により子どもが得られた。rdwラット卵巣の血管網を観察すると、卵胞を包む血管網は疎で萎縮などの退行像が観察されるが、甲状腺ホルモンにより、VEGFmRNAなどの発現が誘導されるとともに、卵胞血管の発芽・分岐が誘導され、退行血管像が消失する。これに伴い卵胞の発育促進も観察された。このように甲状腺ホルモンは卵巣血管に作用し、卵胞発育・排卵を制御している。

シンポジウム 1

「病態からみた不妊治療の適応と限界」

シンポジウム 2

「不妊治療における内分泌学の関わりとその進歩」

シンポジウム1「病態からみた不妊治療の適応と限界」

1) hMG-hCG療法の問題点

神戸大学医学部産科婦人科学教室

山辺 晋吾, 岡田 十三, 望月 恵

大森 伸哉, 丸尾 猛

hMG-hCG療法は無排卵に対する治療法として考案され、近年では生殖補助医療の進歩と普及に伴いその卵巣刺激として頻用されるようになってきた。自然排卵周期ではLH surgeが排卵のトリガーとなるが、排卵誘発周期ではLHの抽出が容易でないためにLHに比較して体内半減期の長いhCGをトリガーとして投与しているのが現状である。そこで、ヒト尿中より抽出した高純度LH(LH活性; 608 IU/mg, デンカ製薬)とhCGを用いてPMSG処理未成熟ラットに排卵誘発、黄体補助を行い、LHとhCGの体内作用の相違点からhMG-hCG療法の問題点につき検討し、考察を加えた。

まず、排卵誘発の実験では、PMSG 10 IU投与未成熟ラットに対して、LH 10 IU以上の投与はhCG 5 IU以上の投与と同様の排卵誘発効果を示した。排卵が惹起されたラットの排卵数は、hCGまたはLHの投与薬剤種、投与量にかかわらず一定であった。排卵誘発18時間後の血中E2値、48、72時間後の血中P4値はLH排卵群に比較してhCG排卵群で高値であった。次に排卵誘発と黄体補助(排卵誘発後48時間)にLHを投与したLH群といずれにもhCGを投与したhCG群の比較をおこなった。黄体補助24時間後の血中E2/P4比はLH群に比較してhCG群で明らかな高値を示した(LH群: 4.39 ± 0.755 , hCG群: 13.1 ± 3.51)。そこで採血と同時に採取した卵巣組織を用いて、PCNA免疫染色とin situ DNA 3' end-labeling (TUNEL)法により各卵胞における顆粒膜細胞の細胞増殖能とアポトーシスにつき検討を行った。径400 μ m以上の卵丘形成のあるlate antral follicle(ヒトの月経周期では黄体期末期から月経周期初期以降の卵胞に相当する)ではTUNEL陽性率はhCG群 $53.4 \pm 17.1\%$ とLH群 $64.6 \pm 8.4\%$ に差を認めなかったが、PCNA陽性率はLH群 $12.7 \pm 9.0\%$ よりもhCG群 48.8 ± 1.5 で明らかに高率であった。また、径400 μ m以下のantral follicleではPCNA陽性率はLH投与群 $22.1 \pm 13.3\%$ よりhCG投与群 $57.1 \pm 12.8\%$ で高率で、TUNEL陽性率はhCG投与群 $21.0 \pm 13.0\%$ よりLH投与群 $49.3 \pm 27.1\%$ で高率であった。

以上の成績はLHがhCGと同様に排卵誘発に有効で、LHを排卵誘発に用いることによりOHSSを軽減させ得ることを示唆した。卵巣過剰刺激症候群(OHSS)の原因は十分明らかにされていないが、顆粒膜、顆粒膜黄体細胞で産生される血管透過性亢進物質が発症に深く関係していると考えられている。体内半減期の長いhCGはlate antral follicleの顆粒膜細胞を非生理的に存続させて血中E2/P4比の解離の原因となるばかりでなく、OHSSに関係する血管透過性亢進物質の産生を高める可能性が推察される。また、hCGは小卵胞での顆粒膜細胞をも存続させ、次周期の卵胞発育に影響を及ぼすことが明らかとなった。

シンポジウム1「病態からみた不妊治療の適応と限界」

2) 卵胞発育刺激法における low quality oocyte の治療の試み

山形大学医学部産科婦人科学教室

齊 藤 英 和

体外受精・胚移植法や顕微授精法においては、卵を多数採取し、複数の胚を胚移植し、妊娠率を高率にするため種々の卵胞発育刺激法が用いられている。しかし、症例のなかには卵胞発育刺激法により、多くの卵が採取され、複数の胚を胚移植しているにもかかわらず妊娠に至らない症例や卵が受精しない症例、受精しても卵球の分割が不均等な胚や、フラグメンテーションが多い胚の症例が存在する。この場合には、卵・精子・胚の因子、着床部位である子宮の因子のいずれかが原因と考えられる。

我々は最近、卵の質を評価する方法として卵の周囲に存在する顆粒膜細胞のアポトーシスを検討したところ、卵の質を鋭敏に反映する指標であることが判明した。受精し均等に分割しフラグメンテーションが存在しない良好胚に発育した卵周囲の顆粒膜細胞のアポトーシス出現率は、受精しなかったり、受精しても不均等に分割しフラグメンテーションが存在する不良胚に発育した卵周囲の顆粒膜細胞のアポトーシス出現率に比較し有意に低値を示した。また、妊娠した症例の卵周囲の顆粒膜細胞のアポトーシス出現率は妊娠しなかった症例の顆粒膜細胞のアポトーシス出現率より低値を示した。

また、卵胞の発育にはアポトーシスが関与していることがよく知られている。卵胞発育に関連するホルモンのうち卵胞刺激ホルモンやエストラジオールは顆粒膜細胞のアポトーシスを抑制し、テストステロンやGnRHアゴニストはアポトーシスを誘発すると言われている。

そこで、今回顆粒膜細胞のアポトーシス出現率等を用いて、排卵誘発時における卵胞発育刺激法と卵の質との関連について検討し、卵の質の向上または、劣化させない誘発法を検討した。

自然周期に比較しHMG周期は卵の質が向上した。HMGとGnRHアゴニストの併用は卵の質を低下させる。またビタミンEをHMG、GnRHアゴニストと併用すると卵の質には影響がなく、アスピリンをHMG、GnRHアゴニストと併用すると卵の質は低下した。このように排卵誘発時に用いられる薬剤は卵の質に影響を及ぼす可能性が高く、慎重に薬剤、その容量、使用法を決めなければならないと考えられる。

シンポジウム1「病態からみた不妊治療の適応と限界」

3) 造精機能障害の評価とARTへの応用

兵庫医科大学産科婦人科学教室

小 森 慎 二

ARTの進歩に伴い従来の不妊治療では妊娠が不可能であった夫婦にも児を得ることが可能となってきた。一方で、近年、男性不妊症の無精子症および乏精子症例の中にY染色体長腕上に微小欠失をもつ症例の存在することが明らかとなってきた。これらの症例に対するART適応に関しては議論のあるところであるが、本講演では、顕微授精の対象となる原因不明男性不妊症でのY染色体の微小欠失の有無、ヒト精子での微小欠失の検討、顕微授精で男児を出産した症例でのY染色体の微小欠失の有無につき検討したので報告する。

1) 精液所見より、Ⅰ群：無精子症（非閉塞性）、Ⅱ群： $0 \sim 1 \times 10^5/\text{ml}$ 、Ⅲ群： $1 \times 10^5/\text{ml} \sim 1 \times 10^6/\text{ml}$ 、Ⅳ群： $1 \times 10^6/\text{ml} \sim 10 \times 10^6/\text{ml}$ の4群に分類し、総数157例の患者より承諾を得た後に採血し、末梢血細胞よりDNAを分離し、Y染色体の長腕にある造精機能に参与しているAZFc領域を中心に16組のプライマーを合成し、PCR法をもちいて増幅をおこなった。さらに、サザンブロット法にて欠失の有無を確認した。その結果、12例に欠失を認め、かつ微小欠失が存在したすべての症例ではその精子数が $1 \times 10^6/\text{ml}$ 以下であった。

2) 末梢血DNAでDAZ領域プライマー(sY254)において微小欠失を認めた患者について、その射精精子からマイクロマニピュレーターを用いて単一精子を分離した。DTTを含むアルカリ溶液で変性し、PEP法 (primer extension preamplification) を行った後、DAZ領域のプライマー(sY254)を用いてPCRを行った。その際にはY染色体の有無を、SRY領域のプライマーを用いてPCRを行い確認した。その結果、単一精子を用いてPCRを行ったところ、30サンプル中11サンプルでSRY領域が増幅され、Y染色体を有することが確認できた。さらに、これらのサンプルについてDAZ領域のプライマー(sY254)を用いてPCRを行ったところ、DAZ領域が増幅されるサンプルはなかった。

3) Y染色体長腕上に微小欠失を持つ男性精子を用いて顕微授精を施行し、男児が得られた症例中、インフォームドコンセントにて同意が得られた3症例の臍帯血および児末梢血中DNAを調べ、父親の末梢血DNAと同様な微小欠失が認められるかどうかを検討した。

その結果、症例1、2ともに父親の末梢血と男児臍帯血中のDNAにも全く同じprimerに対応する部位の微小欠失が認められた。症例3では、父親に認められた微小欠失よりも広範囲に欠失を認めた。

以上のことより、重症造精機能障害（精子数が $1 \times 10^6/\text{ml}$ 以下）の男性精子を用いて顕微授精を施行する場合にはY染色体の微小欠失の存在の可能性を認識することが大切である。さらに、男児に同様の微小欠失が移行する可能性も認識する必要がある。しかし、現在のところ欠失により父親と同様に造精機能が障害されるか否かは未だ明らかではないが、Y染色体長腕上に微小欠失をもつ男性の精子を用いて顕微授精を施行する場合には、男児が生まれた場合に父親からの微小欠失が受け継がれ、造精機能が障害される可能性につきあらかじめ十分に患者にインフォームドコンセントを行いARTの実施をすべきである。

シンポジウム1「病態からみた不妊治療の適応と限界」

4) 精索静脈瘤の外科的治療の適応と限界

神戸大学医学部泌尿器科学教室

藤 澤 正 人

Assisted Reproductive Technology の進歩により、以前は治療が不可能とされていた男性不妊患者さんの不妊治療が可能となってきた。しかしながら、依然として男性不妊の原因の多くを占める造精機能障害の原因はほとんど解明されていない。精索静脈瘤は最も良く知られている原因のひとつであり、内精静脈の結紮により精液所見が改善することが知られている。我々の経験では約半数の患者さんの精液所見が改善され約20%の患者さんが自然妊娠に至ることが分かっている。しかしながら、残りの約半数は依然として精液所見は改善されず、約30%の患者さんは精液所見が改善されても妊娠には至らず最終的にはICSIなどのARTの技術に頼らざるを得ないのが現状である。このような事実を踏まえ、どのような患者さんが内精静脈結紮をするのが最もよいか、あるいは、術前に結紮術後の精液所見の改善の程度を予測する因子がないかを再検討する必要があると考えている。女性が高齢のカップルでは、術前から結紮術後の経過が芳しくないと予測できる場合は早急にARTを併用するのが妥当であろう。一方、年齢が若く、明らかに改善が予測できる場合は、自然妊娠を期待してしばらくは経過を観察しても良いだろう。このように予測を術前に的確に行うことができれば手術を受けられる患者さんに非常に有益と考える。現在、我々は、精索静脈瘤に対して積極的に結紮術をおこなっており、治療後約6ヶ月間は無投薬で経過を観察している。改善傾向なければその後、クロミッドによる薬物療法を行っている。我々はすでに精液改善因子ならびに妊娠の予測因子として術前と術後6か月のLH-RH負荷テストが有用であることを報告している。しかし、これでは術前にその改善度を予測するのは困難である。現在のところ術前に完全に予後を推測するのは困難と考えているが、本シンポジウムでは、いくつかの因子が精液所見の改善因子になるかどうかを検討し、それぞれのカップルに対して無駄のない的確な治療計画の立て方について言及できればと考えている。

シンポジウム1「病態からみた不妊治療の適応と限界」

5) 精路閉塞および性機能障害による男性不妊

東邦大学医学部第一泌尿器科

永尾 光一, 三浦 一陽, 石井 延久

1. 全国泌尿器科29施設の精路再建術治療成績¹⁾

手術は1981年～1999年の19年間で閉塞性無精子症580例（精管精管吻合術392例，精巣上体精管吻合術213例）に施行された。年齢は，夫18～67歳（中央値35歳）妻19歳～46歳（中央値29歳）で，閉塞原因は精管切断術241例(42%)，単径ヘルニア手術146例(25%)，精巣上体炎53例(9%)，先天性21例，ヤング症候群7例，その他8例，原因不明104例であった。閉塞期間は中央値14年，観察期間は中央値11カ月であった。精液所見は580例中63%に精子出現，精子濃度2000万/ml以上が37%，精子運動率30%以上が26%であった。妊娠は6カ月以上観察できた392例中116例30%が妊娠（自然妊娠95例，AIH 10例，不明11例）した。自然妊娠の時期は術後中央値10カ月で18カ月までに75%が妊娠した。ICSIによる妊娠率21.1%²⁾に対して初回精路再建術後の自然妊娠率は22.4%で差がなくICSIでの女性への侵襲，費用，流産などを考えると精路再建が治療の第一選択と考えられた。

2. 精路再建術後，47%に自然妊娠の可能性

平成4年5月から平成11年5月の約7年間に東邦大学大森病院で顕微鏡下精路再建術を施行したのは98例で，術後6ヶ月以上経過観察できた51例について検討し，自然妊娠の限界は当院リプロダクションセンターを通院し自然妊娠した277例279回の妊娠時の精液所見の20パーセントイル値で精子数540万/ml・運動率30%（運動精子数162万/ml）と考えた³⁾。自然妊娠可能例はヘルニア術後8例(40%)，パイプカット16例(59.3%)，合計24例(47.1%)であった。

3. 全国10大学病院での男性不妊のバイアグラ療法⁴⁾

1999年3月から2000年1月の約11か月間で全国10大学病院調査施設で，一般男性不妊患者数は657例で，勃起障害患者のうち挙児希望の患者数は172例であった。両者の合計829例が真の男性不妊患者数となり男性不妊の原因の20.7%が勃起障害であることが判明した。バイアグラ治療の有効性は性交の試み頻度の増加81.0%，挿入頻度の改善70.2%，腔内射精頻度の改善63.1%と高い有効性を示し，妊娠例は7.1%で重篤な副作用はなかった。

【文献】1) 松田公志，岩本晃明，伊藤直樹，他（2000）閉塞性無精子症に対する精路再建術の成績：全国多施設での調査報告。日不妊会誌 45：143-149

2) 藤本征一郎（1999）平成10年度診療研究に関する倫理委員会報告（平成9年度分の体外受精・胚移植等の臨床実施成績および平成11年3月における登録施設名）。日産婦誌 51：361-367

3) 原啓，三浦一陽（2000）自然妊娠の限界，治療目標として。Pharma medica 18：73-79

4) 永尾光一（2000）男性不妊の実態及び治療等に関する研究。平成11年度厚生科学研究（子ども家庭総合研究事業）報告書。主任研究者矢内原巧，東京，pp 892-894

シンポジウム2「不妊治療における内分泌学の関わりとその進歩」

1) 摂食調節障害と視床下部・下垂体機能

徳島大学医学部産科婦人科学教室

苛 原 稔

「やせ」や「肥満」が排卵障害を引き起こし、月経異常や不妊症の原因になることはよく知られた事実であり、摂食機能と生殖機能の間に密接な関係があることが推定される。視床下部にある摂食調節機構の中枢では、様々な摂食調節因子が複雑なネットワークを形成し、摂食に関連する情報を統合しているが、これらの摂食調節因子は同様に視床下部に存在する生殖機能の中枢とも密接に関連することが報告されている。そこで、摂食調節障害により変動する可能性のある摂食調節因子が、視床下部・下垂体機能に及ぼす影響を検討した。

短鎖有機酸の一種である 2-buten-4-olide (2-B4O) は、絶食により血中で増加する摂食抑制物質であり、臨床的には神経性食欲不振症における摂食行動異常との関連が示唆されている。雌ラットに 2-B4O を慢性投与すると性周期が遅延または消失した。また脳室内投与すると LH のパルス状分泌が抑制され、この抑制はナロキソンの同時投与で解除された。さらに 2-B4O の投与により弓状核での POMC 遺伝子の発現が有意に増加した。以上より、2-B4O は視床下部において内因性オピオイドを介して GnRH 分泌を抑制し、生殖機能を抑制することが判明した。

また、オレキシンは絶食により産生が促進される摂食促進物質である。雌ラットにオレキシンを脳室内投与すると、LH パルス状分泌が抑制され、この抑制はナロキソンの同時投与で解除されたことから、オレキシンも 2-B4O と同様にオピオイドを介して GnRH 分泌を抑制する可能性が示唆された。

一方、レプチンの血中濃度は体脂肪量と相関し、体重の増加に伴った増えることが知られている。雌ラットの下垂体初代培養系において、レプチンは低濃度ではゴナドトロピンの産生・分泌を促進する一方、この作用は高濃度になると消失した。最も促進効果が強かった濃度は、6週齢の思春期ラットの血清レプチン値とほぼ一致していた。以上より、レプチンは下垂体からのゴナドトロピンの産生・分泌促進作用を有するが、この作用には至適濃度が存在することが判明した。すなわち、思春期では体重増加による血中レプチン値の増加が性周期開始に関連する可能性が示唆された。また、高濃度のレプチンは性機能を逆に抑制することから、極度の肥満で性機能が抑制される機序の一端が明らかとなった。

シンポジウム2「不妊治療における内分泌学の関わりとその進歩」

2) 不妊と甲状腺ホルモンー卵胞発育と絨毛機能へのかかわりー

神戸大学医学部産科婦人科学教室

松尾 博哉, 村越 誉, 武木田茂樹

丸尾 猛

甲状腺機能異常婦人では高率に卵巣機能障害を伴うのみならず, 妊娠が成立しても高い流産率を示す。そこで, 甲状腺ホルモンの卵巣顆粒膜細胞の機能分化ならびに胎盤絨毛外栄養膜細胞 (extravillous trophoblast: EVT) アポトーシスへの関わりを述べるとともに, 甲状腺機能と無月経ならびに切迫流産の予後についての臨床成績を提示する。

FSHと至適濃度の L-triiodothyronine (T_3) あるいは L-thyroxine (T_4) 同時添加により, 培養ブタ顆粒膜細胞は類円形細胞へと変化し, LH/hCG 結合能, P_4 と E_2 産生, 3β -HSD と aromatase 活性は有意に増加することから, 至適濃度の甲状腺ホルモンと FSH の協調作用が, 顆粒膜細胞の機能分化において重要な役割を担うことが示唆された。また, Scatchard 解析からブタ顆粒膜細胞の核分画に T_3 受容体の存在を認めた。各種無月経患者のうち体重減少性無月経患者の血中甲状腺ホルモンレベルは正常群のそれに比して有意に低く, 血中 T_4 値が 80ng/dl 以下ではクロミフェンによる排卵誘発率は 0% であったが, $120\sim 170\text{ng/dl}$ では排卵誘発率は 80% 以上であった。

したがって, 甲状腺機能異常婦人に高率にみられる卵巣機能障害は, FSH 作用の増幅因子としての甲状腺ホルモンの卵巣作用が十分に発揮されないことに起因すると考えられた。甲状腺機能低下を伴う無月経患者では, まず甲状腺ホルモン補充療法によって血中甲状腺ホルモンレベルを正常化することがクロミフェンによる治療効果を高めるうえで重要である。

一方, EVT のアポトーシス発現は脱落膜浅部に比して深部で高く, その発現は Fas/Fas-L と Bcl-2 蛋白により調節されていると推察された。脱落膜深部の trophoblastic cleft を形成する EVT では Bcl-2 蛋白のより強い発現が観察され, アポトーシス発現は極めて低いことから, 例外的に強いアポトーシス抑制機構が存在すると考えられた。また, 培養 EVT に T_3 受容体が存在し, 至適濃度の T_3 は EVT の Fas/Fas-L 発現を低下させることを認め, 甲状腺ホルモンは EVT のアポトーシスを抑制すると考えられた。臨床的に切迫流産予後不良群の血中甲状腺ホルモンレベルは予後良好群のそれに比して有意に低く, 予後良好群では血中 T_4 , T_3 値が妊娠前に比して妊娠後上昇するのに対して, 予後不良群では横這いしないし低下傾向を示した。また, 流産率は甲状腺剤非投与群での 43.1% に対して甲状腺剤投与群では 16.7% と有意に低値を示した。

このことから甲状腺ホルモンは EVT のアポトーシス抑制を介して妊娠初期維持機構の中で重要な役割を果たす可能性が示唆された。

シンポジウム2「不妊治療における内分泌学の関わりとその進歩」

3) 成長ホルモンの新しい標的臓器としての精巣

神戸大学医学部 泌尿器科学教室

神 崎 正 徳*

成長ホルモン(GH)欠損症やGH不応症ではしばしば性腺発達遅延やhCG負荷テストに対する反応低下が認められ、GHと精巣Leydig細胞(LC)発達の関係が示唆されてきた。従来その作用はIGF (insulin-like growth factor)-1を介した間接作用であると考えられていたが、我々はGHレセプター(GHR)がラットLeydig細胞に発現していることをはじめて明らかにした¹⁾。本シンポジウムではLeydig細胞におけるGHRの発現様式、転写経路、作用について我々が得た知見を提示する。

1. 発現様式：ラットLeydig細胞はその発達段階によってprogenitor (PLC), immature (ILC), adult (ALC)の3タイプに分けられるが、GHRはmitotic activityの最も高いPLCに強く発現している。対照的にLHRは発達に従って発現が増加することが知られており、GHとLHの成長期における分泌パターンと類似が認められる。
2. 転写経路：GHはPRLと共にJAK (Janus kinase) 2-STAT (signal transducer and activator of transcription) 5転写因子のリン酸化を介して下流遺伝子のプロモーター領域のGAS (gamma activated site) DNA sequenceとSTAT5との結合を活性化する。モデルとして用いたMA-10 Leydig 腫瘍細胞ではGHおよびPRL共にJAK2-STAT5のリン酸化を認めたが、分離精製したPLCではGHのみSTAT5の活性化とGAS sequence結合能の増加を認めた。また、ALCではGHによるSTAT5の活性化を認めなかった²⁾。
3. steroidogenesisへの関与：培養PLCおよびALCにGHを添加すると、テストステロン合成酵素のStAR (steroidogenic acute regulatory protein), 3 β -HSDの発現が増加した。StARの発現増加はcycloheximideの添加で変化を認めないことから、GHのLCへの直接作用が示唆された³⁾。また、私達は以前IFN γ RがラットLCに発現していることを報告した。IFN γ はLCのSTAT1を活性化し、単独ではsteroidogenesisに作用しないが、GHによるandrogen産生をStARの発現抑制を介して減少させる⁴⁾。
4. ヒト精巣におけるGHRの発現：RT-PCRおよびサザンブロットによりヒト精巣にGHRおよびSTAT5の発現を認めたが、その局在は明らかでない。

(文献)

- 1) Kanzaki M and Morris PL (1999) Endocrinology 140; 1681
- 2) Kanzaki M and Morris PL (1998) Endocrinology 139; 1872
- 3) Kanzaki M and Morris PL, in preparation
- 4) Kanzaki M and Morris PL (1998) Endocrinology 139; 2636

*現 大分泌尿器科病院勤務

シンポジウム2「不妊治療における内分泌学の関わりとその進歩」

4) 生殖機能とレプチン

京都大学大学院医学研究科婦人科学産科学教室

佐 川 典 正

レプチンは脂肪組織由来の新しいエネルギー代謝調節因子であるが、生殖機能の発現、維持のために必須であることが明らかになりつつある。例えば、レプチン遺伝子に異常があり正常に機能するレプチンを持たない遺伝的肥満のob/obマウスでは、雌雄ともに生殖機能を欠如しているが、外因性にレプチンを投与すると機能が回復し、妊娠可能となる。また、正常な幼若マウスにレプチンを投与すると性周期の発来が早められるが、この際、FSHおよびLH分泌が増加する。さらに、遺伝子操作により脂肪細胞を破壊したマウスでは、レプチン分泌が極端に低下し、生殖機能も低下することが知られている。

一方、レプチンが過剰量存在した場合の生殖機能への影響に関しては不明の点が多い。

本研究では、レプチン過剰発現トランスジェニックマウス(Tg)を用いて、持続的な高レプチン血症が雌性マウスの生殖機能におよぼす影響を検討した。ちなみに、このTgマウスでは血中レプチン濃度が対照群の約5～10倍に増加しており、全身の脂肪組織が消失するほどの痩せが持続的に認められる。

この雌性Tgマウスでは性機能の成熟過程が早期に開始し、また、10週齢では妊孕性が保たれていた。すなわち、全身の脂肪組織が消失した状態にもかかわらずレプチンが生殖機能を維持する作用を有していることが確認された。

一方、高レプチン血症が長期間持続した状態である21週から30週齢において、雌性Tgマウスの妊孕能は低下し、視床下部、下垂体系の生殖関連内分泌機能は低下していた。さらに、卵巣における卵胞発育も抑制された。しかし、25週齢で卵胞発育が抑制されている雌性Tgの卵巣は、妊娠ウマ血清ゴナドトロピン(PMSG)およびヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)を用いた過排卵刺激に反応して腫大し、刺激後の卵巣には対照群と有意な差が見られなかった。以上より長期間持続した高レプチン血症による雌性Tgの生殖機能低下は主に視床下部性の変化であると考えられた。

本研究の結果、レプチンは生殖機能の発現および維持に不可欠で、視床下部下垂体卵巣系の機能を促進することが確認された。一方、レプチンが長期間過剰に存在した場合には、視床下部下垂体系を介して生殖機能を抑制する可能性が示唆された。

シンポジウム2「不妊治療における内分泌学の関わりとその進歩」

5) 不妊症におけるインヒビン，アクチビンの意義

群馬大学医学部産科婦人科

伊 藤 理 廣

インヒビン (INH) とアクチビン (ACT) は、TGF- β のスーパーファミリーに属する糖蛋白である。INH 値は抗ウシ INH 抗体 TNDH-1 を用いて測定した。

卵巣は、発育卵胞数を INH 分泌量で下垂体に伝達し、下垂体からの FSH 分泌量を調節し、卵胞の成熟度をエストラジオール (E2) の分泌量として、視床下部と下垂体に伝達し、LH サージを誘起している。PCOD 患者で基礎 INH 値の比較をすると、卵胞期初期で、INH は 10.7 U/ml と有意に上昇していた。下垂体性無月経患者では、3.2 U/ml であった。PCOD では月経周期がなく絶えず高濃度の INH に暴露されているので、FSH 分泌を抑制していると考えられる。

hMG 療法中、INH と E2 は両方同時に上昇し、OHSS では有意に上昇していた。内因性 FSH の上昇は OHSS の際の高濃度の INH によっても抑制されなかった。PCOD では pure FSH の投与量、投与日数、最大卵巣径との間に有意な相関はなかった。

体外受精周期で、基礎 INH 値は発育卵胞数 ($R=0.67$, $P<0.01$) と採卵数 ($R=0.67$, $P<0.01$) の予測に有用だった。特に INH B が卵胞発育や加齢の指標として重要視されている。

ゴナドトロピン欠損症において、hMG 投与では10日目から INH と E2 が上昇した。pure FSH の投与では INH は10日目から上昇したが、E2 は20日目から上昇し、総分泌量も少なかった。hMG と pure FSH 投与の比較により、INH も E2 も顆粒膜細胞で作られるが、その分泌制御は別の機序によるものであることがわかった。すなわち、卵胞期において、E2 産生には LH が必要だが、INH には不要であった。

黄体期では、INH の分泌に LH は重要で、黄体期に hCG を投与すると、INH とプロゲステロンが明らかに上昇し、FSH は減少した。

INH は黄体に高濃度に存在し、これが黄体期の INH 主産生の部位である。黄体機能不全では INH は低値を示した。妊娠例では INH 25 IU/ml 以上だった。GnRHa による Down regulation 後、HRT による解凍 ET をおこなった場合、すなわち、黄体がない場合の妊娠例でも初期では INH A は分泌されなかった。よって、INH A の主産生部位は黄体である。

ACT A は、ラット、ヒトの未成熟卵の GVBD を促し、卵成熟を促進させる作用がある。また、子宮内膜において、ACT が分化増殖に関与している知見も得たので報告する。

ワークショップ 1

「精液検査の標準化はどこまで可能か」

ワークショップ 2

「明日の不育症診療へ」

ワークショップ1「精液検査の標準化はどこまで可能か」

1) 精液採取条件にかかわる諸問題

京都大学大学院医学研究科器官外科学講座

泌尿器病態学

奥 野 博

精液採取に関しては各施設で基本的にはWHOのマニュアルに準じ行われているが、現実には各施設間、各個人（患者）間で様々な条件・方法で実施されている（実施せざるを得ない）のが実状と考えられる。ここでは精液検査の標準化を行うにおいて精液採取条件を整えることの意義・問題点について検討する。

今回 WHO laboratory manual 第4版(1999)における採取条件の標準は下記のように定義されている。

1. 精液採取・搬送に関する患者への説明は書面あるいは口答にて事前に行う。
2. 禁欲期間は48時間～7日以内とするが、基本的には期間を一定にする。
3. 採取回数は1～3週間以内の間隔で少なくとも2回施行する。2回の結果に大きな相違がある場合はさらに検査を行う。
4. 採取場所は精液検査室に近い個室で行う。これが困難な場合は1時間以内に搬送できる所で採取する。
5. 採取容器は清潔で口径の広いガラスあるいはプラスチック容器をマスターベーションにて採取する。マスターベーションで採取困難な場合にはコンドームを用いる方法もあるが、この場合ラテックス性のコンドームは精子の活性を劣化するため使用しない。膣外射精での採取は、特に精子濃度の高い初期射精をこぼす可能性が高いため避ける。
6. 採取した検体は20～40℃に加温した状態で搬送・検査する。
7. 採取した検体には採取記録（名前、ID、禁欲期間、採取時間、採取状態、搬送条件、提出時間など）を付記する。

本来は自然な夫婦生活で射精された精液の所見をみる必要があるが、現実には困難であり、これにより近い条件での所見を把握する努力が必要と考えられる。また、条件が異なることにより精液所見がどの程度異なってくるのかも定かではない。実際にこの点については十分な考察が行われていないのが現状である。ここでは国内外のデータからそれぞれにつき検討する予定である。最後に、ある一定の条件下で精液採取を行うという過酷な状況を、我々は今一度患者立場になり真摯に受け止め、環境条件の改善等に十分配慮していくべきと考えられる。また精液採取以外に男性の妊孕能を正確に評価できる基礎的研究も勧めていく必要があると考えられる。

ワークショップ1「精液検査の標準化はどこまで可能か」

2) 精子濃度測定における目視下と自動化での比較

大阪大学大学院医学系研究科臓器制御医学
器官制御外科学（泌尿器科）
松 宮 清 美

近年、内分泌かく乱物質との関連をもって精子濃度の減少についての検討が行われているが、いまだ議論の途上にある。その理由としては、対象となる検体の母集団の不均一性、精子濃度測定法の相違による比較の困難さなどが挙げられる。こうした意味からも測定法の共通化、あるいは測定法による差を明らかにすることは重要な問題である。母集団をどう選定するかは別にしてここでは精子濃度測定法の問題を取り上げたい。

現在まで、精子濃度測定のためにはMakler計算板、血球計算板などを用いた目視法とCASAに代表される自動分析装置が普及している。WHOマニュアルでは血球計算板を用いる方法が推奨されているが、目視法においては精液の不均一性、希釈法の規定などがあって煩雑である。

なぜ、精子濃度の測定において自動化が要求されているか？そのメリットは、①一回の測定精子数を増加させることによる測定精度の向上、②多数の検体を処理可能、③施設間、検者間の測定誤差が少ない、などが考えられるが、目視法の利点も捨てがたい。自動化に際しての障害の多くのものでは、目視法においては認識可能である。精漿の問題ではゴミなどの異物、円形細胞、白血球、debrisなどの混入、粘液の残存による不均一性、精子の問題では精子凝集、極端な奇形精子、高度乏精子症などをどう計測するかが課題になる。自動化で有利なこととしては、測定板上での精子拡散の偏りについては測定精子数を増やすことで対応可能である。

我々は、現在、男性不妊症患者と、パートナーの自然妊娠を確認した健常者の精液検査で血球計算板を用いた目視法とCASA(Hamilton-Thorne社製)の比較、さらにMakler計算板とCASAの比較を行っている。これらの結果を以上の観点から報告する。

また、CASAの設定を変更した改良型と現機種との比較も行いたい。

ワークショップ1「精液検査の標準化はどこまで可能か」

3) 精子運動能測定と精子形態測定の自動化へ向けて

聖マリアンナ医科大学泌尿器科

岩 本 晃 明

東工大生命理工学部生物

石 島 純 夫

造精機能評価のパラメーターとして、精子濃度と同様に精子運動能および精子形態についても測定法は施設毎で異なっており必ずしも標準化されていない。精液検査の標準化は環境ホルモンの男性生殖機能への影響に関する疫学調査の目的だけでなく、臨床例での各施設の治療成績の比較、新規薬物の治験の共同研究等、に今後重要な役割を果たすものと思われる。この目的のためには運動率を目視で測定するのではなく、客観性を有し迅速に行える精子自動分析機(CASA)を使用すべきである。前演者がすでに述べた問題点から各施設に備わっているCASAの設定を標準品のデータに合わせなければ同一データを得ることはできない。もしくはCASA自体の標準機器を作製しなければならない。

精子運動能の標準化の取り組み：兼子らと共同で精子運動率の測定のための標準品を作成している。精子濃縮後、swim down 法を用いて運動精子を分離し、運動率97%の精子懸濁液を調整し、その半量を加熱にて不動化した0%運動率精子懸濁液と混合して、0.25, 50, 75, 100%となるように精子懸濁液(精子濃度 4 million/ml)を調整した。なお希釈液には精子以外の細胞、結晶等も精液には含まれることから、無精子症の精液を用いた。この標準品の運動率がCASAにて同様な値が出るように調整する。一方演者の一人石島はヒト精子の運動特性を解析し、その解析結果がCASAで表せるように新しいCASAの機器を開発中であり、その一端を報告する。

精子形態測定の標準化の取り組み：高感度のデジタルカメラをノマルスキー微分干渉顕微鏡に装着し、まず生きたままの精子像を撮影しデジタルフォトリンタで印刷し、頭部の形態や鞭毛の長さを解析した。さらにコンピュータのハードディスクのメモリーに直接取り組み、画像解析ソフトを用いて解析し、前者のデータと比較した。その結果、従来法にかなり近い画質が得られ、デジタル処理の高精度化と効率化が期待できる。しかしながら画像解析装置を用いての計測でどこまで自動化できるのか問題点もある。本法はインターネットで全世界に転送が可能で、データの互換性、世界規模での調査研究にも大いに期待できるものと思われる。その取り組みを報告する。

本研究は厚生科学研究およびCREST(戦略的基礎研究推進事業)の援助による。

ワークショップ1「精液検査の標準化はどこまで可能か」

4) 新しい精子濃度自動測定装置

神戸大学医学部泌尿器科学教室

岡田 弘, 辻 功, 藤澤 正人
守殿 貞夫

精液検査のうち近年内分泌攪乱物質との関連で問題となっている精子濃度測定は、比濁法を除いて一定量の精子浮遊液を計算盤にのせ顕微鏡でその数を測定することが基本となっている。これは、通常の外来検査で行われている目視による方法も、自動精液検査装置を用いた場合も同様である。しかし以前は同様な計算盤を測定に用いてきた末梢血液検査（赤血球濃度・白血球濃度・血小板濃度等の測定）ではその主役はフローサイトメトリーにとって替わられている。これは、計算盤法には同時再現性・日差再現性に問題があり、特に施設間での比較が困難であった事に困っている。

我々は、現在多くの中央検査室で採用されているフローサイトメトリーを用いた尿中有形細胞分析装置 UF-100(Sysmex社) のプログラムを一部改変したS-FCMを開発し従来の計算盤法と比較した。

Makler chamberとS-FCMを比較した結果、 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の乏精子症での同時再現性のCVはS-FCM, Makler chamberでそれぞれ2.1~4.1%, 17.7~28.7%, 日差再現性でそれぞれ5.3%, 24.0%であった。Makler chamberとS-FCMの相関性は slope 1.203 $r=0.918$ ($p<0.01$) と良好であった。

S-FCMによる精子濃度測定は、1検体当たり70秒で観察者に左右されない再現性の高い検査法であり、多施設協同のグループ研究には極めて有用な検査法と考えられた。

ワークショップ1「精液検査の標準化はどこまで可能か」

5) ヒト精液検査の標準化に向けて 一将来への展望一

東京歯科大市川総合病院産婦人科

兼子 智, 田辺 清男

聖マリアンナ医科大学泌尿器科

岩本 晃明

精液検査に関する当面の課題は、コンピューター支援画像解析装置(CASA)を用いる一般精液所見(精子濃度、運動率、速度、奇形率等)測定における精度向上と標準化であり、具体的には標準品、検量線の設定、測定用チャンバーの設定を行うことである。

将来的課題としては、より高次の精子・精巣機能情報を精液検査により得るために、新規パラメーターの開発と標準化が挙げられる。具体的には、a. 新規造精機能評価モデルの構築：精液所見不良は精子産生が質的、量的に低下した状態と考えられてきた。精子形成過程において一部の精子は減数分裂前期以降の精母細胞死により消滅し、その過程にはアポトーシスが関与すると考えられている。これは射出精子量が産生量と消去量との相対的な差であることを示唆しており、両者の動的バランスを解析し得る新たな解析モデルが必要と考えられる。b. 精子染色体の評価：精子が染色体運搬細胞であることを考慮すると、精子染色体の正常性に言及せざるを得ない。我々は精子染色体を組織化学的(TUNEL法)および細胞電気泳動的に観察した結果、射出精子の一部に染色体の断片化が観察され、一般精液所見不良症例では正常例に比してその比率が有意に高いことを認めている。すでに重度の精液所見不良症例に対してICSIが臨床応用されており、染色体構造異常精子の選択的排除法およびその評価法の確立が急務である。c. 正常精子の定義：我々は機能良好精子を1. 前進運動能、2. 成熟性、3. 先体反応誘起能を有し、4. 染色体構造異常を認めないものと定義し、射精精液から項目1～3.に該当する精子を精製した。精製精子のほとんどが楕円形頭部を有しており、項目4の染色体構造異常率に関しても低下していることを認めた。精子形態のと各種精子機能の相関に関しても、今後の課題である。

ARTの進歩、すなわち授精法の高度化に伴ない、各種媒精法に対応したより詳細な精子・精巣機能情報が必要とされる。本演題では、精液検査における新規パラメーターの開発と標準化の目標について、我々の試みを中心に報告する。

本研究の一部は厚生科学研究およびCREST(戦略的基礎研究推進事業)の援助による。

ワークショップ2「明日の不育症診療へ」

1) 染色体異常と不育症

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

小澤伸晃

全妊娠の約10～15%が自然流産に至るとされ、その約50～60%は胎児染色体異常によると考えられている。流産を繰り返す不育症患者夫婦においては染色体異常を示す割合が一般集団より高い傾向があり、夫婦の染色体異常と習慣流産との関連性も示唆されている。現在不育症一般検査においても夫婦染色体検査は必須のものとなっており、理論的な確率に基づいた患者への説明が行われている。しかし実際に不育症患者が流産に至った場合の胎児染色体異常の有無に関する報告は少なく、その真の因果関係については明らかではない。そのため不育症患者に夫婦染色体検査を行うだけでなく、妊娠し流産に至った場合は胎児染色体検査を施行し、細胞遺伝学的な異常が不育症の発生機構にどう関与しているか検討していくことが必要である。

当院での不育症患者夫婦では正常変異と考えられる9番染色体の逆位も含めると、患者夫婦全体では約5.1%、夫では3.9%、妻では6.3%に染色体異常が認められた。既往流産回数と染色体異常の発現頻度との間に明らかな相関関係は見出せなかったものの、不育症発症要因として重要視されている均衡型の構造異常が特に妻側において高頻度に観察された。そのなかで相同染色体間に生じたロバートソン転座や21番に関連した相互転座も数症例に認められ、染色体検査を行う前に十分な患者夫婦のインフォームドコンセントを得る必要性が再認識させられた。

一方流産胎児染色体検査では、過去に報告されている自然流産における頻度と同様に約67%に異常が認められた。母親の年齢の上昇と共に染色体異常の頻度が上昇した。染色体異常の種類別では従来の報告通り常染色体トリソミーの頻度が高く、原因は不明であるが女性型を示す症例が多かった。両親のどちらかが染色体異常を示す場合は、胎児染色体異常を示す割合は高い傾向であったものの、致死的な胎児染色体異常を示した症例の中で両親の染色体異常と直接的な関連性が疑われたのは構造異常の一部であった。

最近ではFISH法により比較的容易に染色体の数的異常と構造異常の診断が可能となっている。同手法を用いて転座保因者における精子レベルでの不均衡型配偶子の発現頻度を解析することにより、不育症を来す夫側要因としての精子染色体異常の関与について解明されることが期待される。

ワークショップ2「明日の不育症診療へ」

2) 内分泌機能失調と不育症

横浜市立大学医学部産婦人科

安 藤 紀 子

不育症の原因は多種多様であり、その主なものは染色体異常、子宮形態異常、感染、自己免疫異常および内分泌異常とされているが、まだ、その全容が解明されているわけではない。内分泌異常としては、耐糖能異常、甲状腺機能異常、黄体機能異常、プロラクチン分泌異常などが挙げられる。不育症患者におけるこれらの頻度は報告により差はあるが、当科不育症外来のデータではそれぞれ1.3%、2.7%、19.5%、29.8%となっている。

黄体機能不全は多因性の患者であるが、高プロラクチン血症も原因の一つである。当科不育症外来において黄体機能不全を認めた症例のうち約半数がプロラクチン分泌異常を合併（高プロラクチン血症 22.8%、潜在性高プロラクチン血症 23.9%）していた。これらプロラクチン分泌異常合併黄体機能不全症例に対し、ブロモクリプチン療法を行ったところ妊娠継続率は60.0%であったが、ブロモクリプチン・プロゲステロン補充療法では90.9%の妊娠継続率を得た。一方、黄体機能不全単独症例に対しては、プロゲステロン補充療法を行ったが、68.2%と低率であった。

不育症例にプロラクチン分泌異常が数多く含まれることはこれまでも報告してきたが、プロラクチン分泌異常症例のうち、黄体機能不全を含む他の異常を認めないものは67.9%あった。これら症例に対しブロモクリプチン療法を行ったところ、ブロモクリプチン投与例における妊娠維持率は85.7%と、非投与例（妊娠維持率52.4%）に対し有意に高率であり、また、妊娠初期における血中プロラクチン値は妊娠維持例では流産例に比し有意に抑制されていたことから、プロラクチン分泌動態を正常化することは妊娠維持のために重要であると考えられている。

他方、血中LH基礎値の単独高値あるいはLH/FSH比の高値（ $LH/FSH \geq 1.0$ ）は、排卵障害・不妊症だけでなく不育症との関連も深いと言われており、実際に、血中LH基礎値の単独高値（ $LH \geq 7IU/L$ ）を示した症例は黄体機能不全症例の24.3%、プロラクチン分泌異常症例の30.0%に認められ、 $LH/FSH \geq 1.0$ を示した症例はそれぞれ37.1%、42.0%であった。しかしこれまでの不育検査において異常を認めない原因不明症例においても血中LH基礎値の単独高値を示したものは19.5%、 $LH/FSH \geq 1.0$ は25.0%に認められた。今後、不育症との関連や機序、対応法についての検討、あるいは多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)との関連についても検討が必要であろう。

ワークショップ2「明日の不育症診療へ」

3) 抗リン脂質抗体症候群を中心に

東海大学医学部産婦人科

松 林 秀 彦

現在の抗リン脂質抗体症候群の診断基準案には抗 cardiolipin (CL) 抗体と lupus anticoagulant (LA) が含まれている。抗CL抗体もLAも妊娠中後期の流死産と関連があることで知られているが、頻度は高いものではない。CLは細胞膜に存在しないため、また対応抗原（コファクター）である β 2GPIの役割が不明であるため、抗CL抗体の病原性には説得力がない。LAの対応抗原はprothrombinと陰性荷電リン脂質であり、凝固異常をおこすことは理解できるが、産婦人科の臨床の場ではほとんど検出されない。私達は、見過ごされた抗リン脂質抗体の存在を明らかにするために、その他の細胞膜リン脂質に対する抗体、特に抗 phosphatidylserine (PS) 抗体や抗 phosphatidylethanolamine (PE) 抗体の検討を行うとともに、レーザー散乱光による血小板凝集能検査を取り入れている。その結果、習慣流産患者において抗PE抗体・抗PS抗体が高率に存在し、それらの患者は微小血小板凝集塊が出現しやすいことを見いだした。

胎盤内の母体血液は endovascular cytotrophoblast と syncytiotrophoblast 内を流れ、通常の血管内皮細胞内を流れる場合とは異なった動態をとっている。trophoblast表面はPSが豊富であり抗PS抗体が活躍する場が与えられているともいえる。抗PS抗体はtrophoblastの分化・増殖・結合を障害し、またhCGやhPL分泌を減少させるなど、形態のみならず機能面でも胎盤に対する影響が示されている。これらの報告は流産・子宮内胎児死亡・IUGR・妊娠中毒症と抗リン脂質抗体（抗PS抗体）の関連を説明するものである。このように現在、胎盤での抗リン脂質抗体を論じる上で最も重要なのは抗PS抗体である。このために私達はPSに特異的に結合する蛋白で抗凝固作用をもつ、アネキシンVにも注目している。抗アネキシンV抗体(IgG)は習慣流産患者で有意に高率に存在していた。

産婦人科領域の抗リン脂質抗体症候群は原因究明よりも治療方針確立主導型で進んできた。様々な治療が試みられ、prospectiveな研究がいくつも報告されている。副腎皮質ホルモン投与で妊娠中毒症や前期破水が有意に高いことから、現在原発性抗リン脂質抗体症候群に対して推奨される治療法はアスピリン・ヘパリン療法となっている。

抗リン脂質抗体症候群の研究は現在発展途上の分野であり、過去10年急速な進歩を遂げてきた。診断・治療も年々変化しており、最新情報に注目する必要がある。

ワークショップ2「明日の不育症診療へ」

不育症における免疫機構の関与 — 3回以上連続流産回数別の習慣流産患者に対する免疫療法の効果 —

名古屋市立大産婦人科

杉 浦 真 弓

習慣流産の明らかな原因、予知因子としてコンセンサスの得られているものは、抗リン脂質抗体、夫婦の染色体転座、子宮形態異常の一部、胎児染色体異常であり、当院のそれぞれの頻度は17.4%、4.2%、1%、18%であった。それらを除く60%が原因不明であり、異種免疫異常、内分泌異常、凝固異常などがあると推定されている。異種免疫異常については、世界的規模による共同研究により、習慣流産の夫リンパ球皮内免疫療法の有効性が報告されたが、その効果は全体的に約10%であった。また、これに対して否定的な報告も存在し、一定の見解は得られていない。そこで今回、当施設における既往妊娠の流産回数別の治療成績を調べ、習慣流産の重症度別治療効果を検討した。また、OK-432による治療成績についてもこれらと比較して検討した。

1987年から1996年までに反復流産の精査、治療のため当院を受診した患者のうち抗リン脂質抗体などの明らかな異常の認められない232例について、夫リンパ球皮内免疫治療法による生児獲得率を既往流産回数別に調査した。コントロール群として、1980年と1981年に当科を受診したすべての患者の後方視的調査の結果、無治療にて3回以上連続流産した97例を調査した。また、1996年から1999年までに施行したOK-432による免疫療法についても検討した。

夫リンパ球皮内免疫療法施行例における成功率は全体として73% (169/232)、コントロール群の成功率は48% (47/97)であった。既往妊娠の流産回数別に検討すると既往流産が3回の症例では77%、55% ($p=0.001$)、4回の症例では70%、38% ($p=0.01$)、5回の症例では56%、27% (有意差なし、 $p=0.2$)の成功率であった。

OK-432による免疫療法施行例における成功率は全体として72.4% (76/105)であった。

夫リンパ球皮内免疫療法は、全体的なその有効性は確認された。また、OK-432についても夫リンパ球を用いた免疫療法と同様に効果が確認された。しかし、5回以上の連続流産症例については有効とは判断できなかったため、その治療法の再検討が必要であると考えられた。

一 般 演 題
(口 頭 発 表)

O-1 卵辺縁部を穿刺する新しい細胞質内精子注入法について

東京歯科大学市川総合病院産婦人科 ○郡山 智, 兼子 智, 岡崎 雅子
赤星 晃一, 佐久間雄一, 黒島 正子
宮越 敬, 富永英一郎, 柏木 哲
田辺 清男

【目的】細胞質内精子注入法 (ICSI) において卵に穿刺針を刺入する際、卵の赤道面から卵細胞質に対して直角に刺入するのが一般的 (以下、従来法) であるが、卵細胞膜は弾性に富みその穿破にしばしば困難を伴う。われわれは、卵辺縁部を細胞膜に対して斜めに針を刺入することにより細胞膜の穿破を容易に行う方法 (以下、辺縁法) を考案したので、その有用性を検討した。

【対象・方法】ICSI症例を施行した症例のうち、運動精子が得られたものを対象とした。第一極体が12または6時になるように卵を把持し、3時方向の赤道面より約45度上方から針を刺入した。刺入位置の確認は、透明帯および細胞膜に生じる皺により行った。刺入角度はdish底面に水平方向とした。18周期に従来法を、10周期に辺縁法を施行し、一回の刺入で細胞膜の穿破が可能であった割合、胚生存率、分割率、妊娠率を両法間で比較した。

【結果】88個の卵に従来法を、59個の卵に辺縁法を施行し。精子注入が可能であった84個 (95.5%)、56個 (94.5%) のうち、一回で穿破できたのは従来法21個 (23.9% 施行卵数) に対して辺縁法48個 (81.4%) と、辺縁法が有意に高率であった。従来法、辺縁法における胚発生率は88.6%、86.4%、分割率は47.7%、47.5%と両法に有意差を認めなかった。妊娠は従来法5周期 (27.8%)、辺縁法4周期 (40.0%) であり、有意ではないが、辺縁法で高い傾向を認めた。

【考察】辺縁法は従来法に比して卵細胞膜の穿破が容易であった。穿刺針を卵細胞膜に対して斜めに刺入することにより細胞膜の進展、卵の変形を最小限とすることができ、卵への侵襲を低減することができた。

O-2 卵細胞質内精子注入法 (ICSI) における穿刺方法が胚発生に与える影響

獨協医科大学産科婦人科学教室 ○星野 恵子, 正岡 薫, 三ツ矢和弘
済生会前橋病院産婦人科* 野口 崇夫, 河津 剛*, 稲葉 憲之

【目的】ICSI における卵の細胞膜穿刺方法が胚発生にどのような影響を与えるかを検討した。

【方法】1998年8月より2000年5月までに済生会前橋病院にて施行したICSI 62症例 94周期を対象とした。平均年齢は 34.3 ± 4.5 歳、卵胞刺激法はGnRH agonist 併用の long protocol 38周期, short protocol 56周期であった。採卵した卵は前培養後、80IU/ml hyaluronidase にて顆粒膜細胞を除去後、第1極体が確認された metaphase II 卵 570 個を ICSI に使用した。ICSI の穿刺方法は穿刺直後に卵細胞膜が破れる (I 群), 細胞膜を吸引せず、穿刺を繰り返して破る (II 群), 吸引のみで破る (III 群) に分類した。胚の質は Veeck の形態分類にて評価した。

【成績】①各群における ICSI 後の卵の生存率は I 群が 114/161 (70.8%), II 群が 217/257 (84.4%), III 群が 147/152 (96.7%) であり、III 群が他の 2 群より有意に高かった ($p < 0.001$)。②受精 (2PN) 率は I 群 168/257 (65.4%), II 群 91/161 (56.5%), III 群 118/152 (77.6%) であり、III 群が他の 2 群より有意に高かった ($p < 0.01$)。③2PN 卵あたり分割率は I 群 98.9%, II 群 95.8%, III 群 99.2% であり、各群間に有意差はなかった。④Veeck の grade 番号で表した胚の質は平均すると I 群 2.86 ± 1.09 , II 群 2.86 ± 1.19 , III 群 2.97 ± 1.10 であり、各群間に有意差はなかった。また、割球数も I 群 3.8 ± 1.1 , II 群 3.9 ± 1.0 , III 群 3.8 ± 1.1 であり、各群間に有意差はなかった。

【結論】吸引によって細胞膜を破る III 群が、卵の生存率と正常受精率において他の 2 穿刺法群より有意に高いことが判明した。また、細胞膜の穿刺法による発生胚の grade の違いはなかった。以上より、ICSI における卵細胞膜穿刺法は吸引法が最も卵へのダメージが少なく、受精効率が高いことが明らかとなった。

O-3

ARTにおける移植胚の透明帯厚に関する検討

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○末永 昭彦, 小笠原綾子, 藤原 敏博
 東京大学医学部附属病院分院産科婦人科* 大須賀 穰, 矢野 哲, 堤 治*
 武谷 雄二

【目的】体外受精において成績を左右する胚の因子として Grade は勿論であるが、透明帯厚もそのひとつであると考えられ、厚い透明帯に対して assisted hatching が試みられている。今回、我々は当科の胚移植可能であった ART 症例 233 症例について移植胚の透明帯厚と年齢、妊娠、年齢別妊娠率との関連について検討したので報告する。

【方法】対象症例は、当科における 1999 年 1 月から 12 月までの ART 症例のうち、胚移植時の子宮内膜が 8mm 以上の 233 症例とした。移植胚は day3 において 4cell 以上に分割した良好胚 (Veeck 分類 Grade3 以上) とし、移植胚の透明帯厚を測定したうえで胚移植を施行した。透明帯厚は移植胚中の平均厚と最低厚を各々算出し、年齢、妊娠率、年齢別妊娠率との関連を検討した。

【成績】年齢別に区切った透明帯の平均厚、最低厚は、29 歳以下 (13.5 μ m, 11.4 μ m)、30~34 歳 (13.4 μ m, 11.9 μ m)、35~39 歳 (13.8 μ m, 12.6 μ m)、40 歳以上 (13.2 μ m, 12.3 μ m) であった。透明帯厚別 (最低厚) による妊娠率は、15 μ m 未満 (21.3%)、15~20 μ m (13.3%)、20 μ m 以上 (0%) であった。更に、同年齢層での透明帯厚の別 (15 μ m 未満, 15~20 μ m, 20 μ m 以上) による妊娠率を検討すると 29 歳以下 (38.5%, 50%, 0%)、30~35 歳未満 (16.1%, 20%, 0%)、35~39 歳 (24%, 10.5%, 0%)、40 歳以上 (14.3%, 0%, 0%) であった。

【結論】移植胚における透明帯厚と年齢の関連は、平均厚として差を認めないものの最低厚においては高齢ほど厚くなる傾向を示した。また、透明帯厚が厚いほど有意に妊娠率が低い結果となった。更に、同程度の透明帯厚では高齢ほど妊娠率が低く、かつ高齢においては透明帯の最低厚が 15 μ m 以上の場合、妊娠が極めて困難であることが示唆された。

O-4

胚移植日別、胚の形態学的分類による妊娠率

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室 ○間崎 和夫, 伊藤嘉奈子, 渋谷 幸裕
 塩川 素子, 橋田 英, 中野由起子
 雀部 豊, 池永 秀幸, 安部 裕司
 久保 春海, 平川 舜

【目的】胞胚期移植が行われるようになって、胚移植が4~8細胞期から胞胚期まで広がってきた。そこで胚移植日の形態学的分類による妊娠率を検討した。【対象】1997年1月より1999年12月までに当院で行った通常の体外受精胚移植 (IVF-ET) 116 周期、顕微授精胚移植 (ICSI-ET) 321 周期を対象とし、採卵日を Day 0 とした Day 2, Day 3, Day 4, Day 5 ET において胚の形態学別に妊娠率を比較した。なお Day4, Day5 ET 群は反復 ART 不成功症例または Day 2, Day 3 において Veeck 分類で 3 個以上同じ Grade の胚があり、その中の胚を選択するために胚移植を延長した症例である。【結果】Day 2, Day 3, Day 4, Day 5 ET において平均年齢には有意差を認めなかった。既往 ART 回数は ICSI 症例においては、それぞれ 1.1 ± 1.6 , 0.8 ± 1.2 , 2.1 ± 2.1 , 2.5 ± 2.6 回で、Day 4, Day 5 群は Day 2, Day 3 群に比べ有意に既往 ART 回数が多かった。IVF-ET における妊娠率は Day 2, Day 3, Day 4, Day 5 ET でそれぞれ 29.0% (18/62), 27.0% (10/37), 37.5% (3/8), 22.2% (2/9), Day 2, Day 3 で Veeck 分類 Grade 1, 2 の胚を移植した場合はそれぞれ 26.1% (12/46), 38.5% (10/26), Grade 3 のみを胚移植した場合はそれぞれ 37.5% (2/8), 0% (0/4), Day 4, Day 5 で桑実胚, 胞胚を移植した場合はそれぞれ 100% (3/3), 33.3% (2/6) であった。同様に ICSI-ET における胚移植日別の妊娠率はそれぞれ 35.1% (54/154), 40.0% (38/95), 42.9% (9/21), 29.4% (15/51), Day 2, Day 3 で Grade 1, 2 の胚を移植した場合はそれぞれ 39.3% (44/112), 49.3% (33/67), Grade 3 のみを移植した場合はそれぞれ 27.3% (6/22), 20.0% (2/10), Day 4, Day 5 で桑実胚, 胞胚を移植した場合はそれぞれ 40.0% (4/10), 38.9% (14/36) であった。【考察】胚移植日別の妊娠率には有意差はなかったが、反復 ART 不成功例には Day 4, Day 5 ET も考慮すべきひとつの方法と考えられた。また形態良好胚を得るための工夫が、妊娠率の向上につながると考えられた。

O-5

多胎妊娠防止のための二胚移植の成績とその限界

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科 ○伊東 宗毅, 石原 理, 斉藤 正博
林 直樹, 堀籠 邦子, 清水 香子
田谷 順子, 木下 勝之

補助生殖技術による妊娠の問題点のひとつに、多胎妊娠例の急増がある。当科では97年まで体外受精(IVF)および顕微授精(ICSI)症例における胚移植(ET)数を、原則として三個としていたが、97年に施行したETで、15例の双胎および4例の品胎妊娠例を経験した。そこで、98年から35才未満の初回治療症例に限定して、二胚ETに変更した。そこで、今回この両期間における症例の背景因子、ET数などのパラメーターと妊娠率および多胎妊娠率との関連を検討した。

97年に施行したET178症例において、ETあたりの妊娠率は34%、妊娠例のうち双胎率および品胎率は、それぞれ29%および8%であった。一方、98-99年施行のET518例では、妊娠率35%、妊娠例のうち双胎率および品胎率は、それぞれ21%および5%であった。二胚移植例227例では、ETあたりの妊娠率36%、双胎率17%であった。また、35歳以上あるいは第二回目以後の症例である三胚ET例191例では、ETあたりの妊娠率41%、双胎率および品胎率は、27%および7%であった。

以上より、ET数を2個にしても、妊娠率の低下を伴わずに多胎発生率を半減させ、品胎の発生を防止することができた。しかし、双胎妊娠の防止は困難であり、多胎妊娠を完全に防止するためには、今後、一胚移植が不可欠であることが示唆された。また、三胚ET例では、依然として多胎妊娠率が高いことから、現在の治療水準では、極めて特殊な例を除いて、もはや三個のETを続ける必要性はなく、今後一律に二胚ETを行なうことが望ましいと考えられた。

O-6 IVF-ETにおける新しい胚移植法—2 step embryo transfer—の開発

滋賀医科大学産科学婦人科学教室 ○後藤 栄, 高倉 賢二, 竹林 浩一
中西 桂子, 廣瀬 雅哉, 木村 俊雄
秋山 稔, 木村 文則, 藤原 睦子
野田 洋一

われわれはこれまでに、マウスを用いて、胚が積極的に子宮内膜に働きかけて子宮内膜の胚受容能を高めることを*in vivo* および*in vitro*で明らかにしてきた。これは着床前の、胚による、胚受容に向けた子宮内膜分化であり、これを *embryo-priming* として新しい概念を構築した。この臨床応用として、2 step embryo transfer (2段階法)を考案し、従来法との比較により若干の知見が得られたのでここに報告する。2段階法は体外受精胚移植法において採卵後2日目に *embryo-priming* のための胚を2個移植し、5日目に胚盤胞を1個移植するものである。【方法】IVF-ET施行症例のうち受精後2日目に4細胞期以上の胚を4個以上有するものを2段階法適応症例とした。1999年6月～2000年6月においてインフォームド・コンセントが得られた9症例(10周期)に対して2段階法を行い、2段階法施行以前の98年4年～99年5月において2段階法適応基準を満たした8症例10周期と比較した。両法における卵巣刺激法、胚移植の手法、黄体補充療法は同じ方法を用いた。胚移植は、従来法では受精後2日目に3個の胚を子宮腔内に移植したが、2段階法では受精後2日目に2個の胚を子宮腔内に移植し、その他の胚はさらに培養を続け発育させ5日目に1個の胚(胚盤胞期胚)の移植を行った。胚培養には受精後2日目まではP1メディアムを用い、3日目以降はプラスチストメディアムを用いた。【結果】臨床妊娠率は2段階法、従来法でそれぞれ70% (7/10)、40% (4/10) であり、また着床率はそれぞれ30.0%、13.3%であり、有意差はみとめなかったが、2段階法において高い成績を得ることができた。【結語】2段階法は高い妊娠率を得ることができる有効な胚移植法であることが示唆された。今後症例数を増やしてさらに検討を行う予定である。

O-7

体外受精胚移植における移植胚数2個制限の治療成績

琉球大学医学部産科婦人科学教室 ○野原 理, 神山 茂, 上原貴美子
金澤 浩二

【目的】体外受精胚移植では移植胚数を3個以上に増やしても、妊娠率は変わらないばかりか、多胎率は増加し、産科的リスクが増えることから、現在では移植胚数は3個に制限されている。しかしいまだに多胎率は20-30%程存在するため、妊娠率を減少させることなく多胎妊娠を減らすさらなる方法が必要と考えられる。当科では1998年9月以降、女性側の条件および受精卵の状態により、移植胚数を2個に制限する試みを行ってきたのでその治療成績を報告する。

【対象および方法】移植胚数を2個に制限する条件は、女性の年齢が40歳未満で、hCG注射時の子宮内膜厚が10mm以上、さらに移植胚に1個以上の良好胚を含むものとした(A群)。また1988年1月から1998年8月で上記条件を満たし、3個以上の胚移植をした群(B群)と比較検討した。

【結果】12周期に移植胚数を制限し2個の胚移植が行われた(A群)。また、B群では227周期に平均3.3個の胚移植が行われた。女性の年齢、採卵数、受精卵数は両群間に有意差を認めなかった。妊娠率はA群6/12(50.0%)で、1例が双胎であった(17%)。これに対しB群では97/227(42.7%)で多胎率は26/97(27%)、24例の双胎と2例の品胎を認め、A群で多胎率がやや低い傾向を認めたが明らかな有意差は認めなかった。

【結論】女性の年齢、子宮内膜厚、移植胚などの条件のよい症例では、移植胚数を2個に制限することにより、妊娠率を低下させずに多胎妊娠を減少させることが可能と考えられた。

O-8

胚移植時子宮内膜厚別の妊娠率、流産率、多胎率、
および各種因子との関連性についての検討

セントマザー産婦人科医院 ○永吉 基, 田中 温, 栗田松一郎
馬渡 善文, 田中威づみ, 竹本 洋一
高崎 博幸, 井手 紀子, 岩本 智子

【目的】①胚移植時子宮内膜の厚さ別に、妊娠率、流産率、多胎率を調べる。②移植時内膜別の、各種因子との関連性について検討する。【方法】当院において体外受精を行った518症例を、胚移植時子宮内膜を6mmから1mmごとに7群と、13mm以上の1群の計8群(a-h)に分類し、妊娠率、流産率、多胎率を調べた。また、子宮内膜と、年令、採卵数、排卵誘発法、排卵誘発日数の関連性について検討した。分割は、4細胞2個以上、移植は最大3個までとし、スムーズに移植できた症例とした。【結果】①妊娠率は、a)18.5%(5/27) b)25%(10/40) c)34.9%(30/86) d)36.7%(44/120) e)40.2%(33/82) f)36.8%(25/68) g)38.2%(13/34) h)37.7%(23/61)となり、平均35.3%(183/518)だった。②流産率は、a)0%(0/5) b)20%(2/10) c)26.7%(8/30) d)13.6%(6/44) e)21.2%(7/33) f)16%(4/25) g)7.7%(1/13) h)13.0%(3/23)となり、平均16.9%(31/183)であった。③多胎率は、a)20%(1/5) b)10%(1/10) c)23.3%(7/30) d)36.4%(16/44) e)24.2%(8/33) f)28%(7/25) g)30.8%(4/13) h)21.7%(5/23)となり、平均26.8%(49/183)であった。④年令では、a)33.4±4.1才 b)36.6±4.4才 c)34.0±4.7才 d)33.1±4.0才 e)33.2±3.8才 f)31.8±3.3才 g)32.4±3.2才 h)34.0±4.2才であった。⑤採卵数では、a)8.0±2.6個 b)5.0±2.7個 c)10.7±5.7個 d)10.4±5.9個 e)11.5±5.6個 f)14.2±8.3個 g)9.8±4.5個 h)12.0±4.3個であった。⑥排卵誘発法では、各群の多い2方法を列記すると、a)short II(SII)と、new short II(NSII)、b)clomifene+HMG, clomifene c)short900(S9)、SII d)S9, SII e)S9, SII f)S9, SII g)S9, NSII h)SII, S9であった。⑦排卵誘発日数では、a)5.6±3.0日 b)4.6±3.4日 c)6.5±2.1日 d)7.2±1.4日 e)7.2±1.1日 f)7.6±1.6日 g)6.5±1.2日 h)7.1±1.3日であった。【結論】①妊娠率、流産率、多胎率を総合的に考慮すると、妊娠予後の安定した胚移植時子宮内膜厚は、9mm以上と思われる。また、一番妊娠予後の高い内膜厚は、12mm代であった。②7mm代を除けば、子宮内膜厚と年令、採卵数、排卵誘発法、排卵誘発日数に各群間において有意差は認められなかった。

O-9 ホルモン補充療法による凍結胚移植時の内膜肥厚度，形態と妊娠率の比較

レディースクリニック京野 ○佐藤 智子，福永 憲隆，千葉せつよ
松尾 優子，拝郷 浩佑，針生 光夫
京野 廣一

【目的】子宮内膜は様々な着床因子が関与しており、実際の臨床検査で着床の予後判定することは難しい。ホルモン補充療法が内膜の厚さや形態に影響して妊娠率に差を生じるものなのか否かを検討した。

【対象・方法】H11.7月からH12.4月までに凍結胚移植を行った38症例42周期を対象とした。内膜肥厚測定は経膈超音波断層法で移植(ET)時に行った。内膜形態が木の葉状(triple-line pattern)のものをPattern I、内膜の境界不鮮明で均一(homogeneous pattern)のものをPattern IIとした。凍結は初期胚のものを緩慢凍結法で行った。ホルモン補充療法はエストラダーム、プレマリンで行った。【結果】凍結胚移植の平均移植胚数は2.8ヶで周期当たりの妊娠率33.3%であった。治療別の妊娠率はエストラダーム40.0%(4/10)、プレマリン38.5%(5/13)、自然周期26.3%(5/19)であった。ET時の内膜の厚さを比較した結果、エストラダーム、プレマリン、自然周期の妊娠群で各々 12.6 ± 4.2 (mm)、 10.3 ± 0.6 、 9.4 ± 1.5 に対し、非妊娠群の内膜は各々 12.5 ± 2.8 、 9.3 ± 2.0 、 10.4 ± 2.4 であった。ET時内膜形態の出現率頻度を見ると、いずれもPattern IよりPattern IIが高かった。【結論】凍結胚移植において、ホルモン補充療法は自然周期に比して子宮内膜の厚さ、妊娠率に差は認められなかった。形態的にPattern IIを示す症例は非妊娠群に比して、妊娠群の方に多い傾向があった。妊娠率は自然周期、プレマリン、エストラダームの順に高くなり、明確な差はないものの着床率向上の為には、ホルモン補充療法が有効と考えられた。

O-10 体外受精胚の各発育段階における染色体数の正常性の検討 —着床前診断の胚生検は何細胞期胚が適当か—

セントマザー産婦人科医院 ○竹本 洋一，田中 温，永吉 基
栗田松一郎，馬渡 善文，田中威づみ
高崎 博幸，井手 紀子，岩本 智子

【目的】より正確な着床前診断を行うためには、胚生検に最適な時期はどの細胞期であろうか。この目的のために今回我々は、体外受精胚の各発育段階における染色体数の正常性について検討したので報告する。

【対象】患者の同意の元に得られた、体外受精後2-3日目に凍結したヒト余剰初期(4-8細胞期)胚、17個を対象とした。【方法】初期胚を0.25%プロナーゼ内で透明帯を溶解、Ca, Mg, freeのPBS(PBS(-))内でピペッティングし、得られた全ての割球を10%HTFで洗浄後37℃30分間インキュベートする。割球をPBS(-)で洗浄し、75mM-KClで低張処理後、第1固定液(メタノール：酢酸：水=3：1：4)内に注入し細胞質を溶出させ、1枚のスライドグラスに1-8個の割球を乗せる。裸核した後に、カルノア液(メタノール：酢酸=3：1)で固定し風乾後FISH処理に供する。DNAプローブはVysis社製CEP18/X/Yを使用し、HYBriteにて75℃3分間変性させ、37℃ overnightでハイブリダイゼーションを行った。【結果】良好胚(n個の核が得られたn細胞期胚)は4-8細胞期胚でそれぞれ4個、1個、4個、1個、0個であり、各細胞期胚の割球で正常なシグナル(XX1818又はXY1818)が得られた割合は4細胞期胚で94%(15/16)、5細胞期胚60%(3/5)、6細胞期胚50%(12/24)、7細胞期胚57%(4/7)であった。一方、核数が異常であった胚はそれぞれ2個、2個、0個、1個、2個であり、正常なシグナルが得られた割合は4細胞期胚で40%(2/5)、5細胞期胚50%(4/8)、7細胞期胚60%(3/5)、8細胞期胚18%(3/17)であった。【結論】良好胚の場合、4細胞期胚では、その割球の94%が染色体数は正常であったが、5細胞期胚以上では、染色体数の正常性は50%から60%であった。一方、核数異常胚では4細胞期胚でも染色体数の正常性は40%であった。従って、良好な4細胞期胚は5細胞期以上の胚に比べて染色体数の正常性が高く、着床前診断の胚生検には良好な4細胞期胚が適当と考えられた。

O-11

経子宮頸管胚移植法の新しい試み

IVF大阪クリニック ○熊谷明希子, 福田 愛作, 河田 淳

當仲 正丈, 山崎 雅友, 岩本 英熙

中岡 義晴, 森本 義晴

関西医科大学産科学婦人科学教室 神崎 秀陽

体外受精胚移植法における最終ステップである胚移植法に関し、経子宮筋層胚移植法の開発以外には経子宮頸管移植法について大きな進歩はみられていない。今回われわれは胚移植に広く用いられているファイコンカテーテル（富士システムズ株式会社）をピンセットで直接触れることなく、また硬質の外筒にて頸管通過操作を施行せずに胚移植を行い、妊娠率および着床率の向上を得たので報告する。従来のピンセットを用いて行った胚移植55例（使用群）と、新しいピンセットを用いない胚移植55例（不使用群）について妊娠率、着床率および流産率について比較した。不使用群では、ファイコンカテーテルにストロー状の鞘を被せることにより子宮経管挿入時にピンセットでの把持および外筒カテーテルによる頸管導入操作を不要とした。一旦挿入したファイコンカテーテルはストローの中を滑らせるようにして緩やかに子宮内に挿入し、子宮底部より0.5～1.0 cmの部分に移植胚を注入した。胚移植操作は膀胱充满状態で経腹超音波観察下に行われた。妊娠率は不使用群で49.1%（27/55）と使用群の34.5%（19/55）に比べ高い傾向（ $P < 0.1$ ）にあった。着床率では不使用群が28.6%（34/119）と有意に（ $P < 0.05$ ）使用群の17.9%（22/123）より高率であった。流産率では両者に差は認められなかった。以上の結果より、ピンセットで直接胚移植カテーテルに触れない胚移植法が妊娠率の向上をもたらした。その要因として、腔内細菌や分泌物の子宮内混入の減少、子宮頸管や子宮内膜へのダメージの軽減などが考えられる。更に他の条件も検討して胚移植法技術の改善を目指したい。

O-12

採卵日固定法により可能となった新鮮精巣精子を用いたICSI

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○堤 ゆかり, 中川 浩次, 森出 直子

山下 瑞穂, 松本 光弘, 小松 淳子

山野 修司, 青野 敏博

徳島大学医学部泌尿器科学教室 奈路田拓史, 香川 征

【目的】精巣精子を用いたICSIを行う場合、大学病院などでは、精巣精子採取術（TESE）および採卵術を同じ日に行うことは困難で、TESEで得られた新鮮精巣精子をICSIをできない場合が多い。当科においても凍結保存しておいた精巣精子をICSIに供していたが、その臨床成績は思わしくなかった。そこで過排卵刺激に採卵日固定法を用いることにより新鮮精巣精子を用いた卵細胞質内精子注入法（ICSI）を施行することが可能であるか否かを検討した。

【対象&方法】閉塞性無精子症4症例、非閉塞性無精子症3例をTESE-ICSIの対象例とした。卵巣刺激を行う約1カ月前に泌尿器科医師と相談のうえTESEを施行する日を予め決定した。TESE施行日を採卵日とし、それに向けてGnRHaを用いた採卵日固定法を実施した。採卵日固定法は、GnRHa使用中の月経発来後、予め決めた採卵予定日の11日前からFSH 225IU/日を4日間、それに引き続いてHMG 150IU/日5日間を投与方法である。

【結果】7症例11周期にスケジュールを組み、キャンセル例はなく全例が予定日に採卵することができた。また、卵胞径が十分であるのに採卵日をTESE施行日に合わせるためにhCGの投与を延期した症例もなかった。また全例でTESEにより精巣精子が採取できた。採取卵数、ICSI施行卵数、受精卵数は平均でそれぞれ9.3、7.0、3.5個であった。受精率は49.2%（38/77）、分割率は92.1%（35/38）であった。11周期中9例に胚移植を施行することができ、平均移植胚数は2.3個、移植胚に占める形態良好胚の割合は61.9%であった。2例が妊娠し、妊娠率は22.2%であった。1例は健常女児を出産し、他の1例は現在妊娠継続中である。

【結語】採卵日固定法を用いることにより、新鮮精巣精子を用いたICSIをより確実に行うことができた。

O-13

ICSI後受精障害に対する人為的卵活性化の臨床成績

福島県立医科大学産科婦人科学講座 ○片寄 治男, 柳田 薫, 林 章太郎
矢沢 浩之, 佐藤 章

【目的】生存精子が獲得されればICSIにより受精, 妊娠が可能となるが, 精子に卵活性化能が欠如あるいは低下している症例の成績は不良である。人為的卵活性化はICSI後受精障害のrescueになる可能性があり, 臨床的に本法の有用性を検討した。【方法】1996年1月から2000年5月までの間に, 卵細胞質膜の穿破および細胞質内への精子注入が確実なPiezo-ICSIを実施した1125治療周期のうち受精率25%未満の126周期(受精率0%未満は91周期)を対象とした。人為的卵活性化には電気刺激法を選択し, 1.5kV/cm, 100 μ secの設定で無血清D-PBS中で未受精卵に1パルスを加した。2周期連続ICSI後受精率が0%であった20周期(15症例)に対しては3回目のICSI直後に加した。その後卵を10%SSS添加HTFで培養し(5%CO₂, 5%O₂, 90%N₂, 95%湿度), day2あるいはday3に子宮内に移植した。尚, 人為的卵活性化は患者の同意を得て行った。【成績】ICSI後未受精卵に電気刺激を行わなかった29周期(28症例)では追加培養後も卵割が観察されなかった。ICSI後未受精卵に電気刺激を行った77周期(62症例)では前核形成が76.7 $\pm$ 35.5%, 卵割が69.8 $\pm$ 43.5%に見られ, 2例(2.6%対周期, 3.2%对患者)に臨床的妊娠が確認され, 1例は初期流産, 1例が正期産(単胎)で健児を得ている。ICSI直後に電気刺激を行った例では前核形成が84.3 $\pm$ 31.6%, 卵割が93.8 $\pm$ 22.4%に見られ, 4例(20.0%対周期, 26.7%对患者)に臨床的妊娠が確認され, 1例は初期流産, 1例が正期産で健児(双胎)を得, 現在2例がon going(いずれも単胎)である。【結論】臨床的にヒトICSIと併用した人為的卵活性化法にはCa ionophoreと電気刺激が報告されている。今回の結果より卵活性化障害によると思われる受精障害例への電気刺激の有用性を確認できた。

O-14

Maturation arrest に対する新しい試み(第二報)
円形精子細胞の卵活性化能, ならびに円形精子細胞注入時間の検討

加藤レディースクリニック ○青野 文仁, 桑山 正成, 貝嶋 弘恒
寺元 章吉, 加藤 修
永遠幸マタニティクリニック 道倉 康仁
藤野産婦人科クリニック 藤野 祐司

【目的】我々は先の受精着床学会において, maturation arrest に対する Donor sperm を用いた活性化誘起方法を報告した。本実験では円形精子細胞の卵活性化能, ならびに ICSI 後の円形精子細胞の注入(ROSI)時間について検討した。

【材料ならびに方法】インフォームドコンセントの得られた患者から提供された射出精子, Spermiogenesis の認められた精巣組織より得られた円形精子細胞(ROS)ならびに卵子を供試した。実験1, ROS の卵活性化能の検討; 精子ならびに ROS を過排卵処理した BDF1 マウスから回収したMII卵子にピエゾマイクロマニピュレーターを用いて, ICSI あるいは ROSI を行った。また, 注入操作のみを行い対照区とした。注入6時間後にPB2を有し1個以上の前核を形成したものを活性化卵と判定した。実験2, ICSI 後の ROSI までの時間の検討; 患者より提供された卵子に ICSI を行い, ICSI から1-2, あるいは4-5時間目に ROSI を行った。ICSI から6-8時間目に精子由来と判定された前核を除去し, その後6時間以内に ROS 由来の前核が形成されたものを正常卵子と判定した。

【結果】実験1; ICSI 区, ROSI 区および対照区の卵活性化率はそれぞれ, 85 (11/13), 11 (2/18) および 5% (1/22) であった。実験2; ICSI から ROSI までの時間が1-2 および 4-5時間目における前核形成率, 除核率, ならびに正常卵子率はそれぞれ 100 (13/13), 100 (13/13) ならびに 69% (9/13), および 100 (8/8), 88 (7/8) ならびに 0% (0/7) であった。

【結論】実験1において ROS の卵活性化率は精子に比べ有意に低かったことから, ROSI にあたっては, 卵活性化処理が必要なが確認された。また ICSI から ROSI までの時間は精子細胞由来の前核形成に影響を及ぼすことが示され, 1-2時間区で69%の高い正常卵子率が得られた。今後はさらに In vitro での発生率等, 胚の正常性を明らかにしていきたい。

O-15

ヒト割球における間期染色質より分裂期染色体への
新しい誘導法の検討

セントマザー産婦人科医院 ○高崎 博幸, 田中 温, 永吉 基
栗田松一郎, 馬渡 善文, 田中威づみ
竹本 洋一

【目的】染色体異常に起因する習慣性流産の受精卵診断は従来間期核を対象としたFISH分析にて行われてきたが間期核を用いるFISH解析では各核期におけるDNA量の差、標識部分が重なった場合の各々の識別の困難さなどの限界が問題となる。この従来法の限界を克服する為に分裂期における染色体分析(ギムザ染色、FISH法)の開発の重要性が急務とされている。我々は、4～6細胞期胚を経時的に観察し核膜の消去した割球を取り出すことにより、ほぼ全例で分裂中期染色体を得る事が出来る様になった。我々は更に効率的に分裂中期染色体を得る方法として、第18回日本受精着床学会ではVrlinskyらの方法(1999年)を検討したが、その成功率は十分ではなかった。そこで今回我々は電気融合の条件に改良を加え臨床上有用と思われる結果を得たので報告する。【方法】I、体外授精により得られたマウス(B₆C3F₁)の受精卵を0.25%プロナーゼにて透明帯を除去し、ヒト分割胚より取り出した間期割球を共にフィトヘマグルチニン(300 μ g/ml)中に注入し、くっつけた。その後①AC20V、1秒・DC1000V/cm、50 μ sec(アルミ電極)②AC15V、2秒・DC800V/cm、50 μ sec(白金電極)のパルスを印加し融合を行った。II、サイトカラシン(5 μ g/ml)に浸漬した割球より核を分離し、ピエゾマイクロマニピレーターを用いて電気融合せずにマウス受精卵に注入した。I及びIIをビンブラスチン(0.1 μ g/ml)を含む10%血清添加HTF中でマウスの前核及びヒト間期割球の核膜が消失するまで培養し消失後30分～1時間で染色体検査を行った。【結果】I、融合の成功率は、①56%(13/23)②86%(12/14)であった。そのうち分裂中期染色体を観察できたものは①77%(10/13)②83%(10/12)であった。残りの①23%(3/13)②17%(2/12)は、マウスの前核及びヒト間期割球の核膜の消失を認めなかった。II、分裂中期染色体を観察できたものは33%(4/12)であった。

O-16

子宮内膜症の診断における腫瘍マーカーCA19-9の意義
～CA125と比較して～

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生殖機能協同学 ○原田 達也, 久保田俊郎, 麻生 武志

【目的】子宮内膜症において腫瘍マーカーCA125の臨床診断的意義は既に報告されているが、CA19-9の意義に関してはいまだコンセンサスが得られていない。今回我々は子宮内膜症における腫瘍マーカーCA19-9の診断的意義について、CA125と比較検討することを目的とした。

【方法】子宮内膜症患者68例より術前に採取された血清をEIA法によりCA125・CA19-9を測定し、R-AFS子宮内膜症重症度分類との関連性、子宮腺筋症・子宮筋腫の有無による差について検討した。次に患者の同意のもとに採取された検体の子宮内膜症組織を用いてこれら腫瘍マーカーの免疫組織染色を行い、その発現部位と採取部位による差を検討した。

【結果】1) CA19-9は陽性率41.2%であったが、R-AFS分類で重症なほど陽性率・平均値とも高くなっており子宮内膜症の重症度との関連性が認められた。一方でCA125は陽性率61.8%であったが、R-AFS分類で陽性率・平均値に差を認めず、重症度との関連性は認められなかった。また子宮腺筋症のある群ではない群に比し、その平均値は高値を示したが陽性率には差を認めなかった。2) 免疫組織染色では、CA125・CA19-9ともに子宮内膜症組織の内膜腺上皮に発現が見られた。CA19-9は内膜症性嚢腫で13例中9例に発現しており子宮腺筋症では5例中3例に発現していたが、CA125では内膜症性嚢腫で13例中1例に、子宮腺筋症では5例中4例に発現が見られた。

【結論】子宮内膜症においてCA19-9は、R-AFS分類度との関連が強く術前の重症度の判定が可能であり、また免疫組織染色でも内膜腺上皮に強く発現が認められていることから子宮内膜症との強い関連性が示唆された。以上よりCA19-9はCA125と比較し子宮内膜症の診断に対しCA125とは異なった意義を有しており、CA19-9の測定も子宮内膜症診断に有用であると考えられた。

O-17 Flowcytometryを用いた子宮内膜症腹腔内環境の解析

高知医科大学産科婦人科 ○泉谷 知明, 山本 寄人, 木元 正和
石元 志保, 林 和俊, 前田 長正
森岡 信之, 深谷 孝夫

【目的】子宮内膜症の腹腔内および末梢血単核球の免疫学的性状について検討し、子宮内膜症における宿主免疫応答および病態の解析を目的とした。【方法】腹腔鏡下に採取した腹水および末梢血を用い、単核球の表面マーカーをFlowcytometryにて測定した。抗体はCD3、CD4、CD8(T細胞)、CD19(B細胞)、CD16(natural killer:NK)、CD14(単球/macrophage)、また単球/macrophage 活性化の指標としてCD54(ICAM-1)、抑制性NKとしてCD158(killer inhibitory receptor:KIR)を用い、内膜症群、非内膜症群について比較検討した。末梢血および腹水の採取は患者より同意を得た。【結果】1) CD3、CD4、CD8、CD19、CD16、CD14 はいずれも末梢血、腹水ともに内膜症群、非内膜症群間で有意差を認めなかった。2) 両群とも腹水中のCD14とCD16の間に正の相関を認めた。3) 腹水および末梢血中CD14のCD54発現強度の比は内膜症群で有意に低下していた。4) 腹水中CD16に占めるCD158の割合は内膜症群で有意に増加していた。5) 末梢血中CD16に占めるCD158の割合は内膜症群で有意に増加していた。【結論】腹腔内単核球のT、B、NK、単球の比率は両群間で差を認めなかった。両群とも単球、NKは強い関連をもって腹腔内に遊走していたが、内膜症群では、単球は腹腔内への遊走においてICAM-1の発現が低くsignal transduction系の抑制が考えられた。さらに腹腔内NKに占める抑制性NKの割合が高く細胞障害能は低いと考えられた。以上の結果から内膜症では腹腔内の単球/macrophageとNKの免疫応答が低下していると推察された。また、抑制性NKは内膜症群で末梢血中に有意に増加しており、内膜症発症機序にも関与していることが明らかとなった。

O-18 当院においてIVF-ETを行った子宮内膜症症例のホルモン動態とその前治療の有用性について

埼玉医科大学産婦人科学教室 ○梶原 健, 大井川智子, 小川 博和
渡辺 芳明, 高橋 通, 畑 俊夫

（目的）当院において子宮内膜症による不妊にて体外受精・胚移植（IVF-ET）を行った症例の臨床背景及び各種内分泌動態を妊娠群、非妊娠群に分けその相関を検討した。更にIVF-ET施行前の前治療の有用性を検討するため治療群、未治療群に分け同様の検討も行った。（対象・方法）1992年3月～2000年4月までに当院において腹腔鏡もしくは開腹術にて子宮内膜症と診断されIVF-ETを施行した18症例38周期を対象とした。CA125値、R-AFS score、hMG総投与量、採卵数、受精卵数、胚移植数及びhCG投与日、採卵日、胚移植日のFSH、LH、プロラクチン、エストラジオール、プロゲステロン値を妊娠群、非妊娠群分け比較検討した。更にIVF-ET施行前にGnRH-analogueもしくはダナゾールによる加療を行った後にIVF-ETを施行した治療群と治療を行わなかった未治療群に分け同様の検討を行った。IVF-ETのための排卵誘発は前周期の黄体中期からGnRH-analogueを併用し月経3日目以降よりhMG製剤を連日投与し超音波断層法にて主席卵胞径が18mm以上になった時点で入院管理として同日hCG10,000IU投与し、35時間後に経膈超音波下に採卵し、2日後に胚移植を行った。（結果）妊娠群/非妊娠群における比較検討ではCA125値(IU)に関しては19.8/41.5と非妊娠群が有意に高値であった($P<0.05$)がR-AFS score48.2/48.4、hMG総投与量(IU)3057.1/2937.9、採卵数7.1/6.3(個)、受精卵数6.1/3.3(個)、胚移植数3.1/2.0(個)に関しては有意な差は認められず、各種ホルモン値においても有意差は認められなかった。一方、治療群における対周期妊娠率は33.3%(4/12)であり、未治療群の12.5%(3/24)に対して統計学的有意差はないものの高い妊娠率であった。（考察）子宮内膜症症例においては早急にIVF-ETを行うのではなく、IVF-ET施行前にGnRH-analogue、ダナゾールによる十分な加療を行った後にIVF-ETを施行した方が良いと考えられた。

O-19 血中各種ホルモン動態からみた2種類の Gn-RH agonist 徐放性製剤の子宮内膜症に対する臨床効果の比較

帝京大学市原病院産婦人科 ○合阪 幸三, 大岡 史子, 渡邊 剛也
定月みゆき, 梁 善光, 貝原 学
帝京大学医学部産婦人科 森 宏之

〔目的〕 Buserelin 徐放性製剤 (スプレキュア MP、以下 B) は leuporelin 徐放性製剤 (リュープリン 1.88、以下 L) に比べて血中 estradiol (E) 値が極端に低下しないことから、副作用が発現しにくいとされている。そこで、この2種類の Gn-RH agonist を投与した際の臨床効果、血中各種ホルモン値、骨密度を比較した。〔方法〕 十分なインフォームドコンセントの下に子宮内膜症の24症例 (B, L それぞれ12例) に対して Gn-RH agonist を投与した。治療中の不正子宮出血の出現の有無、血中 FSH, LH, E, CA-125 値の変化 (投与前、投与1, 3ヶ月後に採血)、および DEXA 法による骨密度 (BMD, L_{1-4} , 投与前、3ヶ月後) を比較した。〔成績〕 ①不正子宮出血は投与1, 3ヶ月後で、それぞれ B: 83.3, 41.7 vs. L: 16.7, 8.3% と B で有意に増加していた ($p < 0.01$)。②投与前、投与1, 3ヶ月後で、FSH (B: $6.1 \pm 2.8 \rightarrow 5.1 \pm 3.9 \rightarrow 4.4 \pm 3.2$, L: $7.2 \pm 3.4 \rightarrow 3.8 \pm 2.5 \rightarrow 2.5 \pm 1.6$ mIU/ml)、LH (B: $5.8 \pm 3.1 \rightarrow 3.4 \pm 3.6 \rightarrow 3.5 \pm 3.4$, L: $6.2 \pm 3.3 \rightarrow 2.4 \pm 1.9 \rightarrow 1.4 \pm 1.0$ mIU/ml)、E: (B: $224.6 \pm 95.2 \rightarrow 168.5 \pm 124.6 \rightarrow 105.6 \pm 97.4$, L: $241.0 \pm 89.4 \rightarrow 42.2 \pm 22.7 \rightarrow 18.3 \pm 9.4$ pg/ml)、CA-125: (B: $157.6 \pm 120.1 \rightarrow 162.1 \pm 100.4 \rightarrow 142.6 \pm 97.2$, L: $142.4 \pm 124.6 \rightarrow 106.4 \pm 86.3 \rightarrow 86.4 \pm 57.6$ U/ml) と L に比べて B の方が抑制効果は弱かった ($p < 0.05 \sim 0.001$)。③BMD は B: $1.10 \pm 0.22 \rightarrow 1.07 \pm 0.26$, L: $1.08 \pm 0.24 \rightarrow 1.00 \pm 0.16$ g/cm² と、L の方が著明に低下していた。〔結論〕 この2製剤は血中 gonadotropin, estradiol 値の抑制効果が異なることから、症例に応じた使い分けを行うことが可能であると考えられた。

O-20 酢酸ブセルリン1.8MPと酢酸リュープロレリン1.88の子宮内膜症治療効果比較検討ならびに酢酸リュープロレリン3.75治療前後におけるMRI、腹腔鏡所見の比較検討

医療法人小嶋医院 ○小嶋 清
杉山レディースクリニック 杉山 力一
日本医科大学産婦人科 明楽 重夫
東京歯科大学市川総合病院産婦人科 兼子 智

子宮内膜症は成熟期女性に高率にみられる疾患で、最近では環境ホルモン、ある種の科学保存物を使用したコンビニ食品との関与も疑われ医療界以外でも広く社会で注目をあびている疾患である。また、不妊症の中でも高率に合併を示し、IVF を始めとした ART でも難治性のものと位置づけられている。今回、同疾患に対して GnRH アゴニスト製剤を使用し、ブセルリン MP とリュープロレリン SR1.88 の治療中治療終了後1年間の治療効果を比較検討した。ならびにリュープロレリン SR3.75 治療前後による子宮筋腫、子宮腺筋症、卵巣腫瘍の縮小状態を MRI にて観察した。また、治療前後の腹腔内の病巣状態がどのように変化したかセカンドルックの腹腔鏡にて経過観察をした。

方法 子宮内膜症 B 分類 I ~ II 度の各症例100に対して酢酸ブセルリン MP 1.8 (MP18 と略す) 酢酸リュープロレリン1.88 (以下 L188 と略す) を側腹部、臀部、肩部に各薬剤調整法を基準として28日間に1回皮下注を施行した。6カ月間を1クールとしてその間に注射後2週間目の E₂ 値, CA125 値, GOT, GPT, Ca 値を基本とした一般生化学ならびに血中薬剤濃度を測定した。子宮内膜症 B 分類 II ~ IV 度の各症例30, 10に対して前者は治療開始前、終了後の MRI による子宮筋腫、子宮腺筋症、卵巣腫瘍の縮小度 (面積, 体積) を測定した。後者では治療前の腹腔鏡手術により患部をできるだけ治療した後, L 375 を6カ月投与後3周期内にセカンドルック腹腔鏡施行し、最初の手術にて残存した病巣、再発、新たな病巣等を調査し治療を施行した。

結果、考察 MP18 は投与周期中の E₂ 変動が激しく (49.5 ± 41.2)、不正出血 (月経様) 38% 有し排卵率も ($19.8 \pm 4.2\%$) あり症例選択厳守が必要であった。MRI での縮小率は20%であった。腹腔鏡での終了後所見には今後内膜症研究での発展を考えると非常に興味あるかつ重要な事があった。

O-21 反復流産患者におけるメチレンテトラヒドロ葉酸レダクターゼ (MTHFR) の遺伝子多型の意義について

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○牧野亜衣子, 小笠原真弓, 鈴木 由佳

鈴木 伸宏, 尾崎 康彦, 鈴木 薫

反復流産の原因として、様々な因子が論じられているが未だ不明なものが多い。ホモシステイン代謝に関連する酵素にメチレンテトラヒドロ葉酸レダクターゼ(MTHFR)があるが、この酵素の遺伝子多型 677C→T(アラニン A→バリン V)による軽度高ホモシステイン血症が血栓症・動脈硬化症の危険因子とされており、妊娠においても反復流産との関連が論じられている。我々は MTHFR の多型の頻度と血漿のホモシステイン濃度について、2回以上の原因不明の初期流産歴をもつ反復流産患者 36 名(31 才±4.10)について、健康女性 46 名(30 才±5.87)をコントロール群として比較・検討した。MTHFR 遺伝子は PCR 産物(198bp)を HinfI で切断することにより、タイピングを行った。遺伝子型は AA、AV、VV の 3 種類である。反復流産患者群、コントロール群それぞれの wild type(AA)、heterozygous mutation(AV)、homozygous mutation(VV)、の割合は前者では 18 (50.0 %), 14 (38.9 %), 4 (11.1%)、であり、後者においては 14 (30.4 %), 22 (47.8 %), 10 (21.8%) であった。また、それぞれの遺伝子型のホモシステイン値は、反復流産患者群で 6.4 ± 1.2 、 5.1 ± 1.0 、 6.8 ± 1.9 、コントロール群では 6.4 ± 1.7 、 6.1 ± 2.0 、 7.2 ± 1.2 (nmol/ml)であった。反復流産患者群とコントロール群とで MTHFR 多型の頻度、およびホモシステイン値に有意差はみられなかった。海外の報告において反復流産と MTHFR 多型、高ホモシステイン血症の関係が指摘されているが、本邦におけるこれらの測定意義は認められなかった。

O-22 反復流産症例における末梢血NK細胞活性と流産様式の関連性について

日本医科大学産婦人科 ○里見 操緒, 竹下 俊行, 石川 源

瀬戸真理子, 五十嵐健治, 石原 珠紀

石川 温子, 明榮 重夫, 荒木 勤

〔はじめに〕反復流産、習慣流産患者では末梢血NK細胞活性が高い症例の多いことが知られている。流産時の様式として、胎芽・胎児の心拍が確認された後に流産に至る場合と、枯死卵のように心拍が確認されずに流産する場合がある。今回われわれは末梢血NK細胞活性と流産様式との間にどのような関連性があるかを検討した。

〔方法〕1997年4月から2000年6月までの期間に当科不育症外来を受診し、2回以上反復する自然流産歴を有する反復流産患者のうち、過去の流産時の状態が正確に把握できた87例(平均流産回数; 2.81回)を対象とした。超音波断層法で胎芽・胎児の心拍が確認された後に流産に至った場合をIUFD様式、枯死卵のように一度も確認されなかった症例をBO様式とした。NK細胞活性は最後の流産から2ヶ月以上経過した周期の黄体期5～9日目に末梢血から単核球を分離し、K562細胞を標的細胞とした⁵¹Cr特異放出率をもってNK細胞活性とした。

〔結果〕(1) IUFD様式のみを反復した症例(IUFD群)は21例、BO様式のみを反復した症例(BO群)は38例、両者が混在していた症例(MIX群)は32症例であった。(2) 末梢血NK細胞活性はIUFD群で $36.0 \pm 17.8\%$ 、BO群で $47.4 \pm 15.7\%$ であった($P=0.014$, Student's t test)。(3) MIX群を含めると、(IUFD様式の流産回数) / (全流産回数) ≥ 0.5 の群では $33.4 \pm 16.4\%$ 、 <0.5 の群で $45.3 \pm 15.7\%$ とBO様式優位群でNK細胞活性が有意に高かった($P=0.00075$)。

〔結論〕反復流産症例で末梢血NK細胞活性が高値をとる症例では妊娠の早期に胎芽心拍が確認されないままに流産をする傾向が示された。

O-23 習慣性流産症例の妊娠初期の子宮動脈血流抵抗値の検討

岡山大学医学部産科婦人科 ○中塚 幹也, 野口 聡一, 浅桐 和男
羽原 俊宏, 高田 雅代, 小西 秀樹
工藤 尚文

子宮動脈血流抵抗の上昇は、胎児発育に悪影響を及ぼすことは知られている。しかし、初期の妊娠における子宮循環の重要性は解明されていない。私達は、習慣性流産症例の中に、非妊娠周期の黄体期中期の子宮動脈血流抵抗 (PI: pulsatility index) 値の高値である一群があることを報告してきた。

そこで、今回、実際に妊娠の開始したときの子宮動脈血流抵抗が、習慣性流産症例で高値であるかを検討した。

[対象・方法] 1999年9月から2000年5月までに、当科の不妊・不育症外来にて妊娠し、妊娠4～5週に経膈超音波検査が施行でき、同意の得られた34症例 (流産2回以下のcontrol群24症例、流・死産3回以上の不育症群10例) を対象とした。経膈超音波下に子宮動脈血流抵抗 (Pulsatility Index: PI 値) を測定し、両側の平均値を使用した。

[成績] 子宮動脈PI値はcontrol群 2.21 ± 0.64 、不育症群 2.96 ± 0.93 であり、不育症群において有意に高値であった ($p < 0.02$)。また、不育症群において、抗リン脂質抗体陽性の症例 (6症例) の子宮動脈PI値は 3.48 ± 0.76 と高値であり、その他の不育症群症例 (PI 値: 2.18 ± 0.56) と比較して有意に高値であった ($p < 0.02$)。

[考察] 妊娠初期の子宮動脈血流抵抗値の検討から、習慣性流産・不育症の中に、血流抵抗が高く子宮循環の不良である一群があると考えられた。また、この機序には自己免疫的な血管障害が関与していることが示唆された。

O-24 習慣流産患者に対する夫リンパ球免疫療法後の T cell receptor クロナリティーについて

聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院産婦人科 ○林 和彦, 与那嶺京子, 田口 泰之
聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室 石塚 文平

【目的】原因不明の習慣流産患者に夫リンパ球免疫療法を施行し、児獲得率が向上することは周知の事実であり、その免疫療法の治療効果の指標として MLC 反応での遮断因子、リンパ球クロスマッチでの抗 HLA-classII 抗体および non-HLA 抗体の出現等などの効果判定が行われている。しかしながら、細胞性免疫についての知見はいまだ少なく、今回われわれは患者の了解を得て T cell receptor (TCR) のクロナリティーについて、正常未妊婦と習慣流産患者の免疫療法前後の動態とを比較し、その治療効果を検討した。

【方法】正常未妊婦、習慣流産患者免疫療法前および後の末梢血リンパ球から mRNA を抽出、TCR gene CDR3 領域の BV ファミリー特異的 BV22 個の Primer と BC Primer を使用して RT-PCR 法を行い、さらに増幅された DNA を SSCP 法にて分析し、集積 T cell clone のパターンについて検討した。さらにその出現 clone 数を count し全 BV で除した clone ratio についても比較した。

【結果】正常未妊婦での集積 T cell clone はスメアパターンを示した。習慣流産患者の免疫療法前ではスメアの中に集積する clone を示し、治療後には集積する clone の消失が確認された。Clone ratio の mean $\pm$ SD は正常未妊婦で 0.71 ± 0.38 、習慣流産患者の免疫療法前で 3.11 ± 1.14 、免疫療法後では 0.90 ± 0.77 であり、治療後には正常未妊婦に近似した値になった。

【結論】以上から T cell clonality は免疫療法前後で明らかな変化が認められ、免疫療法により正常未妊婦と同様な免疫能に変化したと考えられ、細胞性免疫からも習慣流産の原因の一端が示唆された。

O-25 反復流産における子宮内胎児死亡と黄体機能不全との関係 および治療成績について

福岡大学医学部産婦人科 ○澄井 敬成, 園田 桃代, 本庄 考
井上 善仁, 瓦林達比古

【目的】流産は化学的流産を除き、胎児心拍を一度も認めず流産するタイプと胎児心拍確認後に心拍が消失し子宮内胎児死亡の形態をとるタイプに分けられる。一方、流産の原因として黄体機能不全があるが、流産のタイプと黄体機能不全の関係は明らかではなかった。今回われわれは、反復流産における子宮内胎児死亡の既往の有無と黄体機能不全との関係および治療成績について検討した。【方法】1998年4月から2000年3月まで福岡大学病院不妊内分泌外来を受診した反復流産患者49例のうち、子宮奇形1例、抗リン脂質抗体陽性1例、及びリンパ球幼若化試験陽性4例を除く43例を対象に、子宮内胎児死亡の既往がない群（A群：16例）と妊娠22週未満の子宮内胎児死亡の既往がある群（B群：27例）に分類した。月経周期DAY2~5にLH、FSH、PRLを、高温相DAY7にE2、P4を測定し内分泌学的検討を行った。また両群共にクロミフェンやhMG療法による排卵誘発法を行い、その結果を検討した。【成績】対象平均年齢はA群33.1歳、B群32.4歳と両群間に差はなかった。黄体機能不全症例はA群2例に対してB群15例と有意に多く認められた（ $p<0.01$ ）。LH値、FSH値、PRL値、E2値において両群間に差はなかった。しかし、P4値はA群 $15.7 \pm 5.15 \text{ ng/ml}$ に比べB群は $10.7 \pm 6.10 \text{ ng/ml}$ と有意に低値を示した（ $p<0.01$ ）。次回妊娠は、A群では7例に妊娠成立を認めた。5例は正常分娩に至ったが、2例は稽留流産であった。B群では4例に妊娠成立を認めた。2例は正常分娩に至ったが、2例は稽留流産であった。正常妊娠率は両群間に差はなかった。【結論】反復流産において子宮内胎児死亡の既往がある場合、黄体機能不全が原因になると考えられた。今回の検討では、黄体機能改善治療を行った後の正常妊娠率には差はなかった。

O-26 超音波卵管造影法の有用性

岩手医科大学産婦人科 ○東梅 久子, 吉崎 陽, 利部 輝雄

不妊症において卵管疎通性の検索は不可欠であり、子宮卵管造影法が一般的であるものの、X線被爆、ヨード造影剤による副作用などの問題がある。これらを回避する超音波卵管造影法の有用性について検討した。【対象と方法】過去3ヶ月に挙児希望で当科不妊外来を受診した21症例、41卵管を対象とした。卵胞期中期から後期に外来で子宮腔内に12Frサフィード・ネラトンカテーテル（TERUMO）を挿入し、ガラクトース・パルミチン酸化合物であるLevovist（Schering）を10-18ml注入しながら、経腔超音波で左右の卵管別に造影剤の流出を全長性に確認した。また検査後にlipiodolを用いた子宮卵管造影法を施行し超音波卵管造影法の所見と比較した。【結果】1) 超音波卵管造影法では両側卵管疎通性あり14例、片側卵管疎通性あり4例、両側卵管疎通性なし3例であった。疎通性なしと診断された症例は全例間質部より流出が確認できなかった。2) 子宮卵管造影法では両側卵管疎通性あり16例、片側卵管疎通性あり3例、両側卵管疎通性なし2例であった。24時間以降の骨盤撮影にて異常所見のみられた症例はなかった。3) 超音波卵管造影法にて片側卵管疎通性なしと診断された4例のうち1例は子宮卵管造影法にて両側卵管に疎通性が確認された。また両側卵管疎通性なしと診断された3例のうち1例は両側卵管とも疎通性が確認された。4) 子宮卵管造影法で両側卵管疎通性なしと診断された2例に選択的卵管造影法を施行した。1例は両側卵管とも疎通性が回復せず、1例は両側卵管とも疎通性が回復したものの、24時間後の撮影では骨盤内に造影剤の貯留像を認めた。

【結論】超音波卵管造影法は侵襲が低く有用な検査法である。一方、油性造影剤を用いた子宮卵管造影法と異なり、癒着などの評価は不可能であることから対象の選択が必要であると思われる。

O-27

卵管鏡下卵管形成の術後経過からみた治療指針

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○末岡 浩, 土屋 慎一, 谷垣 礼子
 谷垣 伸治, 松田 紀子, 浅田 弘法
 小澤 伸晃, 久慈 直昭, 吉村 泰典

【目的】卵管通過障害に対して低侵襲性の有効な治療法として卵管鏡下卵管形成(FT)法が確立され、広く普及するに至った。その治療後の経過から高い通過性回復成績と妊孕性の回復成績を示したが、子宮外妊娠の発生例などの検討からFTの治療適応とその予後を総括することを目的とした。【方法】子宮卵管造影、通気、通水法によって両側卵管閉鎖と診断され、さらに子宮鏡下選択的卵管通水を行い、機能的閉塞を除外した両側卵管の器質的閉鎖患者に対して治療後の妊孕性および妊娠経過について検討を行った。【結果】卵管通過性回復成績は卵管ベースで554/626 (88.4%)、患者ベースで322/334 (96.4%)であった。術後1~3ヵ月後に施行した子宮卵管造影または子宮鏡下選択的卵管通水によって再癒着が生じた例は卵管ベースで25/626 (4.0%)を占め、再度反復してFTを施行した。FT治療の術後2年以上経過した症例のうち妊娠が成立した例は30/105 (28.6%)を占めた。反復FT症例における妊娠率(2年以下の経過を含む)は12/51 (23.5%)を占め、単回治療で卵管通過性の回復を得た例の16.8%に比較して高い治療成績を示した。このうち、子宮外妊娠の発生は3/220 (1.36%)に生じたが、全例に卵管切開による卵管温存手術を行った。また、FT治療後に子宮内妊娠が成立し、児を分娩した後に次の妊娠が成立した患者のうち、2例に子宮外妊娠が生じた。この2例は何れも分娩後に卵管検査および治療を行わずに妊娠が成立した例であった。【結論】FTは反復して施行することで妊孕性を高めることを示唆した。子宮外妊娠はFT治療による通過性回復後に高頻度ではないが発生する可能性があることを示唆し、妊娠成立後に、妊娠初期の経過観察に注意することで卵管を温存することが可能であることを示した。またFT治療後に生児を得た後に再度妊娠を希望する場合は、子宮外妊娠の発生を予防する意味から、卵管通過性の確認、または再度FT治療の検討をすることが意義深いと考えられた。

O-28

ヒト卵管における ET-1、およびその受容体の局在と卵管運動性への関与

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生殖機能協同学 ○坂本 雅恵, 坂本 秀一, 久保田俊郎
 麻生 武志
 東京医科歯科大学学生体材料工学研究所分子設計 東 洋

エンドセリン-1(ET-1)は、血管平滑筋をはじめ、消化管、気管支、子宮などの種々の平滑筋収縮作用が知られている。我々は以前、体外受精時の卵胞液中に比較的高濃度のET-1が存在することを報告した。また、ウシでは培養卵管上皮よりET-1が産生されることが報告されている。従って、卵胞液あるいは卵管上皮由来のET-1が卵管平滑筋に作用しその運動性を修飾している可能性が考えられる。そこで、この研究ではヒト卵管におけるET-1の局在を明らかにするとともに、ET-1により誘発される卵管平滑筋の収縮を解析することを目的とした。当院にて良性疾患で単純子宮全摘術を施行した患者より、インフォームドコンセントを得て卵管を採取した。卵管におけるET-1およびET_A、ET_B両受容体の局在は、免疫組織化学的にABC法にて検索した。また、摘出卵管より漿膜を除去後、膨大部の長軸方向の標本を作製し、ET_A受容体拮抗剤(BQ123)、ET_B受容体拮抗剤(BQ788)の存在下および非存在下で、ET-1による等尺性収縮の変化を検討した。卵管上皮細胞にET-1の局在が認められた。また、卵管平滑筋および上皮細胞にET_A、ET_B両受容体の局在を認めた。卵管平滑筋は自発性の周期性収縮が見られ、ET-1の添加により、静止張力の上昇と、周期性収縮については振幅の減弱ならびに頻度の増加が観察された。静止張力の上昇はBQ123で濃度依存的に抑制されET_A受容体の関与が、周期性収縮の変化に対しては、BQ788で修飾されET_B受容体の関与が考えられた。ET-1は、卵胞液だけでなく卵管上皮にも存在しており、それらのET-1が卵管運動を調節し卵輸送に一部関与している可能性が示唆された。

O-29

子宮奇形と不妊・妊娠転帰についての検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○島貫 洋人, 佐藤 雄一, 武内 裕之
三橋 直樹

【目的】子宮奇形は、発生の過程で左右の Muller 管が様々な程度で癒合不全を起こすことによって生じ、その頻度は全女性の 1%以下とされている。その臨床像はさまざまで、特異的な症状を欠くことが多く、不妊症や習慣流産の原因検索の過程や帝王切開時に診断されてきた。また、子宮奇形合併妊娠では流早産、子宮内胎児発育遅延 (IUGR)、胎位異常などの産科異常を伴いやすいことが知られている。我々は、子宮奇形と不妊・不育および妊娠転帰との関連について retrospective に検討した。【対象】1989 年から 2000 年に当教室にて診断した子宮奇形 57 例を対象とした。子宮奇形の診断には経膈超音波断層法、HSG、骨盤 MRI、腹腔鏡を用い、AFS 分類により単角子宮 10 例、重複子宮 18 例、双角子宮 10 例、中隔子宮 19 例に分類した。Rokitansky-Kuster-Hauser 症候群に代表される子宮低形成・無形成と弓状子宮は除外した。【結果】すべての子宮奇形のうち妊娠成立回数は 57 例中 26 例 49 回で、その内訳は、単角子宮 3 回、重複子宮 14 回、双角子宮 12 回、中隔子宮 20 回であった。転帰については、自然流産はそれぞれ 1 回 (33.3%)、2 回 (14.3%)、3 回 (25.0%)、11 回 (55.0%) で、中隔子宮が最も高率で 4 例の反復流産例を含んでいた。早産は 2 回、頸管無力症は認めなかった。また分娩に至ったのはそれぞれ 1 回 (33.3%)、9 回 (64.3%)、8 回 (66.7%)、7 回 (35.0%) であった。うち帝王切開はそれぞれ 0 回、6 回 (66.7%)、8 回 (100%)、3 回 (42.8%) であった。胎位異常は 6 回に認められたが、すべて骨盤位であった。【結語】中隔子宮は反復流産の原因になりやすく、妊娠しても分娩に至る例が少なかったことから、中隔の存在は妊娠やその維持の障害になると考えられた。正確な診断と適切な外科的治療が必要であると考えられた。

O-30

AIHにおいて精子処理法が子宮内膜波状運動に及ぼす影響

鹿児島大学医学部産婦人科 ○沖 利通, 山崎 英樹, 桑波田理樹
中江 光博, 堂地 勉, 永田 行博

【目的】子宮内膜波状運動 (以下、内膜運動) は、有経婦人にみられる子宮平滑筋の連合運動に伴伴する運動である。黄体期内膜運動の有無と妊娠性との関連性を報告してきたが、排卵期に最高潮に達する内膜運動の生理的意義は不明である。今回、われわれは人工授精時の精子懸濁液を経膈超音波断層法で観察し、内膜運動と精液処理法との関係を検討し興味ある知見をえたので報告する。【方法】対象は過去 1 年間に人工授精を行った 7 例で、研究に先立ち十分な informed consent を得た。Human tubal fluid (HTF) で精子を洗浄した周期 (A 群) と、精子洗浄を行わなかった周期 (B 群) で内膜運動パターンの相違点を検討した。精子注入前に内膜運動を、注入直後に子宮内腔に echofreespace として描出される精子懸濁液の動きを経膈超音波で 2 分間観察した。同時に、AIH 後の下腹部痛などの自覚症状も比較した。精液は HTF にて 2 回遠沈洗浄し、0.2cc に調製し、尿中 LH surge の翌日に人工授精を行った。洗浄を行わなかった精液では、子宮内に 0.2cc を子宮内に注入し残りの精液は腔内に注入した。【成績】精子懸濁液の動きには、(1) 子宮底部付近で左右の卵管口を往復する、(2) 子宮内腔から腔内へ直ちに逆流する、以上の 2 種類が観察された。精子懸濁液の所見は、A 群: (1) : 5 周期, (2) 1 周期, B 群: (1) : 6 周期, (2) : 0 周期であった。A 群では、人工授精直前と直後の内膜運動伝播方向と精子懸濁液の運動方向は 100% 一致していた。B 群では、6 周期中 3 周期に波状運動の周期が短縮し、1 周期に逆流がみられた。また、B 群では人工授精後の痛みは A 群では認められなかったが、B 群では 6 周期中 5 周期に下腹部痛を認めた。【結論】子宮頸部から底部へ伝播する内膜運動は卵管口への子宮内液の運搬を担い、精漿部分は子宮内膜波状運動を変化させる作用があることが明らかになった。

O-31 排卵周期と黄体化非破裂卵胞 (LUF) 周期の E_2 , P と卵胞径について

東邦大学医学部第2産科婦人科学教室 ○豊岡理恵子, 川村 良, 植野 りえ
家村邦太郎, 小倉 久男

不妊外来で行われる診療の中で人工授精の施行日を決定する場合、我々は通常経腔的超音波断層法を用いて測定した卵胞径で判断する。しかしながらせっかく人工授精を行ってもその後、卵胞はLUFとなり無駄に終わってしまうことがある。最近では、人工授精による治療に時間はかけず早めに体外受精に移行する傾向にあり、それだけに意味のない人工授精は避けなければならない。今回我々は、排卵した周期とLUFの発生した周期でどこに違いがあるのか、血中 E_2 , P、卵胞径について比較検討した。対象は平成9年6月～平成11年12月に当科にて施行した人工授精症例である。その中で施行日およびその翌日、翌々日に超音波断層法にて卵胞径の測定と排卵の有無を確認し、施行日の血中 LH, FSH, E_2 , P を測定できた 227 周期について検討した。血中 LH, P の値から、 $LH \geq 20 \text{ mIU/ml}$ を LH サージ群とし、 $LH < 20 \text{ mIU/ml}$, $P \leq 1$ を LH サージ前群、 $LH < 20 \text{ mIU/ml}$, $P > 1$ を LH サージ後群とした。＜結果＞LH サージ群では排卵周期とLUF周期の E_2 , E_2/P はそれぞれ E_2 では $436.0 \pm 376.1 \text{ pg/ml}$, $444.9 \pm 215.2 \text{ pg/ml}$ 、 E_2/P では 365.2 ± 411.3 , 426.9 ± 364.6 、卵胞径では $21.4 \pm 2.2 \text{ mm}$, $22.4 \pm 3.0 \text{ mm}$ といずれも有意な差は認められなかった。LH サージ前群では E_2 で $497.9 \pm 370.1 \text{ pg/ml}$, $918.7 \pm 681.9 \text{ pg/ml}$ 、 E_2/P で 900.9 ± 957.6 、 1413.8 ± 802.3 と E_2 に有意差 ($P=0.005$) が認められた。また卵胞径では $20.3 \pm 1.9 \text{ mm}$, $22.5 \pm 2.6 \text{ mm}$ とこれも有意差 ($P=0.005$) が認められた。LH サージ後群では E_2 で $377.9 \pm 380.8 \text{ pg/ml}$, $580.0 \pm 374.1 \text{ pg/ml}$ 、 E_2/P で 208.6 ± 461.2 , 366.5 ± 330.3 と有意な差は認められなかった。＜結論＞排卵前の E_2 と卵胞径に排卵例とLUF例で有意差があることより、この2つの組み合わせは人工授精を施行するかどうかの判断に十分応用できることが示唆された。

O-32 卵巢過剰刺激症候群 (OHSS) に対する腹水濾過濃縮再静注法についての検討

愛知医科大学産婦人科 ○木部 博文, 中部 健, 山田 英史
前田 佳子, 浅井 光興, 野口 昌良
中西 正美

【目的】排卵障害治療時に発生するOHSSは、近年の生殖補助技術の発達と共に、その発生頻度は増加してきている。重症のOHSSが発症した場合、まず対症療法として蛋白補充・ドーパミン投与・輸液等の薬物療法が中心となり、次いで腹水穿刺による直接的な腹水の除去が試みられてきた。今回我々は薬物療法に抵抗、治療に苦慮した重症OHSS症例に対し腹水濾過濃縮再静注法を施行。症状改善に有効であった3症例を経験したので、臨床経過と共に文献的考察を加え報告する。【症例1】30歳、抗精子抗体陽性の為、1回目のIVF-ETとなる。GnRHa long protocolによりhMG 150 IU x 10日間にて排卵誘発。8個採卵、3個胚移植。胚移植後3日目に腹水貯留のため入院。卵巣は10 cmに腫大、Htは46.8%と濃縮。薬物療法開始するも、腹部膨満感は憎悪、胸水も認め呼吸困難出現した為、本法施行。2500 ml腹水穿刺、400 mlに濾過濃縮再静注した。その後、症状は著明に改善。単胎妊娠を確認後、退院となった。【症例2】22歳、排卵障害の為、近医にて治療。hMG 75 IU x 5日間、150 IU x 6日間にて排卵誘発。hCG 2500 IU 隔日3回投与、hCG 切り換え10日目より発症。入院し薬物療法開始するも改善せず、当院紹介受診。腹水・胸水貯留。卵巣は11 cmに腫大、Htは44.2%と濃縮。本法を施行。1500 ml腹水穿刺、350 mlに濾過濃縮再静注した。症状は改善。双胎妊娠を確認後、退院となった。【症例3】28歳、排卵障害の為、近医にて治療。hMGを11日間で計2025 IUにて排卵誘発。hCG 3000 IU x 2日間投与後、9日目より発症。入院加療し腹水穿刺除去を計8回受けたが改善せず、当院紹介受診。1回目の本法を施行。2500 ml腹水穿刺、300 mlに濾過濃縮再静注した。しかし再貯留を認め2回目を施行。2000 ml腹水穿刺、300 mlに濾過濃縮再静注した。その後、症状は改善し退院。双胎妊娠であった。【考察】重症のOHSS症例に対し、多量の蛋白補充・ドーパミン投与・輸液と腹水穿刺除去では病態の悪循環を招く事が多いが、本法は自己蛋白を濃縮還元することにより、より長く膠質浸透圧を維持でき、治療効果を充分に発揮すると推察された。

O-33

当科不妊外来におけるPCOS患者の臨床学的検討

島根医科大学医学部産科婦人科学教室 ○高橋健太郎, 尾崎 智哉, 大西 雄一
金崎 春彦, 宮崎 康二

＜目的＞ 不妊症患者の中で PCOS はその診断および治療方法に苦慮する疾患の一つである。今回我々は、当科 PCOS 不妊症患者について、その特徴および治療経過について検討を行った。＜対象＞島根医科大学医学部附属病院産科婦人科にて挙児希望を主訴として来院した不妊症患者のうち、臨床的に PCOS と診断した 38 症例を対象とし、臨床的な特徴、内分泌検査結果、治療経過について検討を行った。＜結果＞ BMI 25 以上の肥満が認められたのは 8 例 (21.1%) で、Ferriman Gallwey score 8 points 以上の多毛が 7 例 (18.4%) に認められた。36 例 (94.7%) に血清 LH 高値あるいは LH/FSH 比 1.0 以上の内分泌異常が認められたが、2 例 (5.3%) は RIA 法では高 LH 血症が検出できない、LH 変異症例であった。全例に排卵誘発治療が必要であり、clomiphene 療法で排卵、妊娠が成立したのは 6 例 (15.8%) であった。clomiphene 無効症例については主に pure FSH を用いた排卵誘発を行ったが、その 87.4% に OHSS の発症が認められた。OHSS 発症例については pure FSH step down 法にて排卵誘発を行い、同治療にて妊娠が認められない場合、あるいは中等症以上の OHSS 発症例については腹腔鏡下に両側卵巢電気蒸散術を施行した。計 11 例に腹腔鏡下両側卵巢電気蒸散術を施行し、1 週間後に early second-look laparoscopy を行い術後癒着を確認したが、全例において術後卵巢周囲に癒着形成は認められなかった。また、全例に術後、高 LH 血症および高アンドロゲン血症の改善が認められ、9 例に自然排卵が認められ、術後妊娠率は 36.4% であった。＜結論＞ PCOS 患者の診断に当たっては測定キットにより高 LH 血症が検出できない、LH 変異症例も認められるため診断には注意を要すると思われた。また、各種排卵誘発剤無効例あるいは OHSS 発症例に対しては腹腔鏡下両側卵巢電気蒸散術が術後癒着も少なく、術後妊娠率も高いため有効であると考えられた。

O-34

多嚢胞卵巢症候群 (PCOS) における血中レプチンの検討

群馬大学医学部産科婦人科学 ○菊池 信正, 安藤 一道, 山田 清彦
水沼 英樹, 伊吹 令人

【目的】肥満遺伝子産物であるレプチンは、卵巢顆粒膜細胞におけるホルモン産生抑制など生殖器官に対する報告が増えており、特にPCOSの卵胞発育作用に対するレプチンの関与も示唆されている。しかし一方では、PCOSの病態にはレプチンは関与していないとの報告もあり議論の余地が残っている。今回我々はPCOSにおけるレプチンの関与を検討するためこのグループを肥満と非肥満の2グループに分け、内分泌学的検討を試みた。【方法】PCOS婦人40人をBMI 25を境に2グループに分け、レプチン濃度を測定並びに年齢、身長、体重、BMI、LH、FSH、PRL、LH/FSH、E2、testosterone(T)、androstendione、free-T、DHEA-S、Glucose、insulin、などの血中ホルモン値ならび身体所見を比較し統計学的処理を実施した。【結果】PCOS婦人の血中レプチン値は、BMI、体重、androstendione Waist/Hip、と正の相関を認めた。また、PCOS婦人を肥満と非肥満の2群に分けた場合、各群のレプチン値、体重、BMI、Testosterone、Androstendion Waist/Hipに有意差を認めた。しかし、肥満PCOS群のレプチン値と他因子の間に正の相関を示すものはなく、それは非肥満PCOS群でも同様の結果となった。【結論】PCOS婦人を体重別に分け検討してみるとレプチン値と他因子の間に強い正の相関を示すものはなくレプチンがPCOSの病態に強くかかわっているという結論は得られなかった。

O-35

多嚢胞性卵巣症候群における血清中の可溶性 Fas 値,
可溶性 Fas ligand 値の検討

岡山大学医学部産科婦人科 ○小西 秀樹, 中塚 幹也, 野口 聡一
木村 吉宏, 浅桐 和男, 羽原 俊宏
高田 雅代, 工藤 尚文

多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の病態にapoptosis抑制による卵胞閉鎖の障害が関与していることが推測されている。また、種々の細胞においてFas-Fas ligand系の活性化がapoptosisを誘導することが知られている。そこで、今回、内因性のFas阻害物質である可溶性Fas (sFas), また、可溶性Fas ligand (sFasL)のPCOSの病態への関与を検討した。

〔対象・方法〕手術時の摘出ヒト卵巣を同意のもと使用し、Fas, FasLの局在を検討した。

また、当科不妊・内分泌外来を受診し、月経2-5日目にLHRH試験を行った37症例(PCOS 12症例, 正常例12症例, 視床下部性排卵障害13症例)の試験時の血清を同意のもと使用し、EIAにてsFas, sFasLを測定した。

〔結果〕閉鎖卵胞において、Fas, FasLは卵細胞、顆粒膜細胞に発現しており、Fas-Fas ligand系の存在が示された。

血清sFas濃度は平均値で、PCOS 3.2ng/ml, 正常例2.8ng/ml, 視床下部性2.1ng/mlであり、PCOS症例では視床下部性排卵障害例に比較して高値の傾向を示した。PCOSの重症度の指標となるLHRH試験で、LH30分値が前値の8倍以上に上昇した群と、8倍未満の群とに分類すると、前者が 4.0 ± 1.6 (mean $\pm$ S.D.)ng/mlで、後者(2.5 ± 1.0 ng/ml)に比較して有意に高値であった($p < 0.05$)。血清sFasL濃度は平均値で、PCOS 0.023ng/ml, 正常例0.021ng/ml, 視床下部性0.024ng/mlであり、各群に有意差は見られなかった。また、PCOSの重症度による差異も見られなかった。

〔考察〕PCOSにおけるsFasの上昇は、卵巣内Fas-Fas ligand系を阻害し、apoptosisを抑制することで卵胞閉鎖の抑制などPCOSの病態に関与している可能性がある。

O-36

機能性不妊に対するゴナドトロピン療法の有用性と限界

群馬大学医学部産科婦人科学 ○安藤 一道, 上条 隆典, 伊藤 理廣
山田 清彦, 関 守利, 水沼 英樹

研究目的: 機能性不妊に対する治療法として、過排卵刺激療法の有用性が示唆されている。本研究の目的は、ゴナドトロピン製剤を用いた過排卵刺激療法 (G療法) を施行した機能性不妊症例を後方視的に検討し、G療法の有用性とその限界を明らかにすることである。

研究方法: 対象は1992年6月～2000年5月までに、当科不妊外来を受診し機能性不妊の診断の下にG療法を施行した59症例175周期である。機能性不妊の診断基準は、BBT測定、血中LH・FSH・PRL基礎値、卵管検査、性交後試験、黄体機能検査、精液検査、及び腹腔鏡検査にて明らかな不妊原因を認めない症例と定義した。

研究成績: ①妊娠率は症例あたり37.3%、周期あたり13.1%であり、OHSSにて入院管理を要した周期は2周期 (1.1%) であった。また妊娠初期流産を1例 (4.3%)、双胎妊娠を1例 (4.3%) 認めた。②妊娠成立例のG療法回数別累積妊娠率をみると、1周期目に43.5% (10周期)、2周期目に69.6% (16周期)、3周期目には87.0% (20周期) に達し、5周期目までに全例妊娠していた。③妊娠群22症例23周期と、G療法を3周期以上実施しても妊娠成立しなかった非妊娠群18症例94周期について、年齢、不妊期間、Body Mass Index (BMI)、血中LH・FSH・PRL基礎値、精液所見、hCG切替日の発育卵胞数を比較検討したが、統計学的に有意差を認めなかった。

結論: 機能性不妊に対するG療法は、適応を厳守することにより安全かつ有効な治療法であることが再確認された。一方G療法無効症例 (体外受精・胚移植適応例) を予知することは不可能で、G療法を3周期実施しても妊娠成立しない場合、その後の治療法を再検討することが現実的対応であると思われる。

O-37 ヒト黄体化顆粒膜細胞のアポトーシスを介した黄体機能調節における Caspase 活性化機構の関与

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○松原 寛和, 尾崎 康彦, 青山 和史
鈴木 由佳, 佐藤 剛, 生田 克夫
鈴木 薫

【目的】Caspaseはアポトーシシングナルの伝達経路に実行因子として関与するシステインプロテアーゼである。我々はヒト黄体化顆粒膜細胞においてゴナドトロピン、サイトカイン、プロスタグランディンがアポトーシスの抑制及び促進を介して黄体機能調節をしている可能性を報告してきた。今回、Caspase活性化機構のアポトーシスを介した黄体機能調節における関与を検討した。

【方法】体外受精採卵時に回収した顆粒膜細胞を患者の同意のもとに実験に供した。酵素処理及び、Ficoll Paque法によって遠心分離し細胞浮遊液を作成した。Caspase-3 inhibitor (0.1, 1, 5 $\mu\text{g/ml}$), TNF- α (10 ng/ml) 及び Caspase-3 inhibitor (1 $\mu\text{g/ml}$), PGF $_{2\alpha}$ (10 ng/ml) 及び Caspase-3 inhibitor (1 $\mu\text{g/ml}$) を各々添加し、5%CO $_2$ 大気中37℃の条件で24時間培養後、Hoechst 33258 による蛍光染色法でアポトーシス小体出現率を検索した。さらに抗Caspase-3抗体を用いたウェスタンブロッティング法によるCaspase-3蛋白発現の検索、Colorimetric Protease Assay Kitを用いたCaspase-3活性の測定を行った。

【成績】24時間培養後のアポトーシス小体出現率は無添加群を100 %とすると、Caspase-3 inhibitor (0.1, 1, 5 $\mu\text{g/ml}$) 添加により70%, 47%, 31%と濃度依存的に有意に抑制され ($p<0.05$)、TNF- α 、PGF $_{2\alpha}$ 添加によるアポトーシス促進作用 (146%, 156%) もCaspase-3 inhibitor添加により52%, 60%と有意に抑制された ($p<0.05$)。さらに、24時間培養後の顆粒膜細胞にCaspase-3 蛋白発現とCaspase-3活性の増加が観察された。

【結論】ヒト黄体化顆粒膜細胞におけるアポトーシスを介した黄体機能調節にCaspase-3活性化機構が関与している可能性が示唆された。

O-38 ヒト黄体における bcl-2 と bax 発現の月経周期と妊娠による変化

山口大学医学部産科婦人科学教室 ○杉野 法広, 檜田 史郎, 滝口 修司
荻部 綾子, 高山 尚子, 山縣 芳明
中村 康彦, 加藤 絃

【目的】ヒト黄体の寿命の調節における bcl-2 と bax の関与を検討するため、黄体内の apoptosis と bcl-2 及び bax 発現の月経周期と妊娠に伴う変化を検討した。【方法】(1) 手術時摘出標本から採取した黄体を用い、黄体期初期、中期、後期、退縮期及び妊娠黄体について、apoptosis の出現頻度を TUNEL 法にて、bcl-2 と bax の局在を免疫組織染色にて検討した。(2) 黄体組織中の bcl-2 と bax の mRNA 発現と蛋白発現を RT-PCR または Western blotting にて解析した。(3) bcl-2 と bax 発現に及ぼす hCG の作用を検討するため、中期黄体を hCG (1 又は 10 IU/ml) で 6 時間培養し、bcl-2 と bax の mRNA および蛋白の発現量の変化を検討した。尚、組織採取に際しては患者のインフォームドコンセントを得た。【成績】(1) apoptosis 陽性細胞は、黄体期中期ではごく少数であったが、退縮黄体ではその数が著しく増加しており、一方、妊娠黄体ではほとんど見られなかった。免疫組織染色において、bcl-2 は、中期と妊娠黄体の黄体細胞に強い発現がみられ、一方、bax は、退縮黄体の黄体細胞に強い発現がみられた。(2) bcl-2 mRNA レベルは、中期から退縮期に向かい低下したが、妊娠黄体では中期に比し有意の高値を示した。一方、bax mRNA は、中期から退縮期に向かい増加したが、妊娠黄体では著しい低値を示した。Western blotting による蛋白発現は、mRNA の変化と同様であった。(3) hCG の培養により bcl-2 mRNA および蛋白発現は、有意に増加し、bax 発現は有意に低下した。【結論】ヒト黄体において、bcl-2 と bax は、apoptosis を調節することにより、黄体の寿命の調節に関与していることが示唆された。妊娠に伴う黄体の寿命の延長には、hCG による bcl-2 と bax の変化が重要な役割を果たしていることが考えられた。

O-39

顆粒膜黄体細胞機能調節における
insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) の役割

神戸大学医学部産科婦人科 ○藤田 一郎, 山辺 晋吾, 横田 光
 益子産婦人科医院* 岡田 十三, 望月 恵, 益子 和久*
 丸尾 猛

〔目的〕 顆粒膜黄体細胞機能の発現にはIGFが重要な役割を担い、その機能調節にはIGFBPが関与していると考えられている。そこでヒト顆粒膜黄体細胞培養系において黄体細胞機能発現とIGFBPの関係につき検討を行った。〔方法〕 long protocolで卵巣刺激を行った体外受精胚移植の採卵時に、患者の同意を得て、卵胞液、卵胞洗浄液より顆粒膜黄体細胞を採取し、 5.0×10^5 cells/well(1mL) に細胞濃度を調整して10%FBS添加Ham's F-12で培養を行った。RIA法で24時間毎の培養液中progesterone(P4)濃度の測定を行い、培養細胞の黄体機能の指標とした。また、培養開始後48時間にhCGを0、30、300、3000mIU/mLの濃度で添加し、その48時間後にFBS非添加培養液に交換してさらに48時間追加培養(培養開始後96~144時間)を行った。このFBS非添加培養液中のP4濃度を測定するとともに、 125 I-IGF-IIを用いたWestern ligand blotにてIGFBPの定量的解析(bioimaging analyser: BAS-2000)(PSL)を行った。〔結果〕 培養液中P4濃度は、培養開始後96時間でピーク(309.1ng/mL)に達した後、144時間で急激な低下(105.5ng/mL)を示し、96~144時間に黄体機能の低下を認めた。培養開始後48~96時間にhCGを添加した系における96~144時間での培養液中P4濃度は、hCG非添加群に比べて、hCG添加濃度30mIU/mLで1.8倍、300mIU/mLで3.7倍、3000mIU/mLで3.6倍であり、hCGの添加により黄体機能に改善が認められた。これらの培養液中にはIGFBP解析によってIGFBP-2と-3のみが検出され、hCG添加濃度0、30、300、3000mIU/mLでそれぞれIGFBP-2が458.7、365.6、317.9、248.1PSL、またIGFBP-3が501.5、443.1、405.5、364.3PSLとhCG添加濃度と逆相関を示した。〔結論〕 培養顆粒膜黄体細胞では黄体機能低下時にIGFBP-2、-3の分泌が認められ、hCG添加による黄体機能促進に逆相関を示してそれらの分泌が減少したことから、IGFBP-2と-3は黄体細胞活性の抑制に関与していると考えられた。

O-40

ヒト不死化顆粒膜細胞におけるステロイド産生能の
Steroidogenic factor-1 による回復

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○田畑 愛, 新田 慎, 石川 勝康
 大場 隆, 片渕 秀隆, 松浦 講平
 岡村 均

副腎皮質および性腺に特異的な転写因子 Steroidogenic factor-1 (SF-1) は、ステロイドホルモン産生に関与する酵素のみならず、基質であるコレステロールの輸送蛋白である StAR や SCP2 の発現を共時的にコントロールする転写因子として注目されている。我々は、手術の適応で採取されたヒト卵巣から、患者の同意を得て採取した細胞に SV40 ラージ T 抗原を導入することにより、不死化ヒト顆粒膜細胞株を樹立した。この細胞株 GC1a は、継代に伴い E_2 、プロゲステロンの産生が低下した。このとき StAR をはじめとするコレステロール輸送蛋白や、ステロイドホルモン産生に関与する酵素の発現も低下あるいは消失した。この細胞に発現ベクター pIND にサブクローニングしたマウス SF-1 遺伝子を導入し、発現させた。一定時間ごとに細胞を回収し、RT-PCR 法にて各遺伝子発現を検討した。培養上清中のステロイドホルモン濃度は ELISA 法で測定した。マウス SF-1 の発現を開始させると、その 48 時間後に StAR、さらに 72 時間後にコレステロール側鎖切断酵素、およびアロマトラーゼ遺伝子が発現し、 E_2 の産生が再開した。プロゲステロンは検出できなかった。以上の検討から、SF-1 がステロイドホルモン産生に関与する酵素や蛋白群の共時的な発現を行っていることが確認された。SF-1 による各遺伝子発現は、胞状卵胞からの卵胞発育段階をよく模倣しており、この細胞系は顆粒膜細胞の分化を研究する上での有用性が期待できる。

O-41

反復流産患者における抗アネキシンV抗体

東海大学医学部産婦人科学教室 ○新井 正, 松林 秀彦, 和泉俊一郎
鈴木 隆弘, 牧野 恒久

【目的】 カルシウム依存性の抗凝固作用をもつ蛋白、アネキシンVはリン脂質結合蛋白として胎盤に多く存在し、陰性荷電リン脂質であるphosphatidylserine (PS)に結合する。最近の研究によると、胎盤循環ではPSが豊富であり凝固因子が活性化しやすい環境にあるため、アネキシンVによるPSの被覆が妊娠維持に重要な役割を演じていると報告されている。また、抗アネキシンV抗体は不育症の原因のひとつでもあるSLE患者に認められることが知られている。そこで、抗アネキシンV抗体が妊娠維持の破綻である反復流産に関連があるか否かを検討した。【方法】 SLE患者39名、反復流産患者238名、正常非妊婦179名からインフォームド・コンセントを得て採血し検討に用いた。SLE患者から得た抗アネキシンV抗体強陽性患者血清を陽性コントロールとして、反復流産患者においてその陽性頻度を検討した。抗アネキシンV抗体は胎盤から精製したアネキシンVおよびrecombinantアネキシンV(Kowa Company Ltd.)を用いELISA法にて行った。抗PS/アネキシンV複合体抗体はPSを結合させたプレートにアネキシンVを結合させELISA法で同様に行った。さらに患者血清はImmunoblot法により抗アネキシンV抗体の有無を確認した。【成績】 正常非妊婦における陽性カットオフをELISAのOD値95%以上に設定(9/179, 5.0%)すると、反復流産患者(25/238, 10.5%)で抗アネキシンV抗体IgGが有意に高かった($p < 0.05$)。しかし、全ての陽性患者血清はPSに結合したアネキシンVを認識できなかった。陽性患者血清はELISA法では抗原・抗体それぞれに濃度依存性を認め、吸収試験での濃度依存性も確認し、さらにImmunoblot法にても陽性を確認した。【結論】 反復流産と抗アネキシンV抗体IgGの関連は抗アネキシンV抗体が流産の原因となる可能性を示唆する。現在IgA・IgMについての検討と治療の可能性を研究している。

O-42

Thrombophiliaに関連した不育症患者の治療法の検討

東海大学医学部産婦人科学教室 ○杉 俊隆, 内田 能安, 勝沼 潤子
岩崎 克彦, 牧野 恒久

【目的】 近年抗リン脂質抗体と血栓症、反復流産との関係が注目を浴びている。我々は、電気的中性のリン脂質である phosphatidylethanolamine (PE) に対する抗体の target antigen として kininogen を発見した。high molecular weight kininogen (HK) は in vitro では contact activation に必要な凝固因子であるが、血管内皮細胞上では抗凝固、線溶系促進機能があることが最近になって明らかになってきた。さらに kallikrein-kinin system における kinin の source として、utero-placental unit に局在し、bradykinin を放出して胎盤血流を調節し、妊娠分娩に重要な役割を演じているといわれている。同様に kallikrein-kinin system の一員である FXII も凝固線溶系や妊娠に重要な役割を演じており、最近 FXII 欠乏と反復流産、血栓症との関係も明らかになりつつある。以上の様に、kallikrein-kinin system 関連蛋白と血栓、流産との関係は興味深いものがある。我々は不育症患者に抗 PE 抗体と FXII 欠乏を高頻度に見い出しているが、今回それらの患者の治療法について検討した。【方法】 抗 PE 抗体陽性、または FXII 欠乏不育症患者に対して、インフォームドコンセントのもとで低用量アスピリン療法(LDA)、または低用量アスピリン+ヘパリン併用療法(LDA+hep)を施行した。【成績】 抗 PE 抗体陽性症例(n=48)中、妊娠成功率は LDA 群(n=24)は 79.2%、LDA+hep 群(n=24)は 83.3%と差を認めなかった。また、FXII 欠乏症例(n=38)中、妊娠成功率は LDA 群(n=25)は 76.0%、LDA+hep 群(n=13)は 100%であった。LDA 群と LDA+hep 群間には既往流産回数、年齢に差を認めなかった。【考案】 我々は既に抗 PE 抗体の血小板に対する病原性を報告しているが、抗 PE 抗体陽性症例では抗血小板療法である LDA 単独群と LDA+hep 併用群間に治療成績の差を認めなかった。FXII 欠乏症例では hep を併用した方が、成績は良好であった。

O-43

免疫療法を施行する習慣流産患者に対するFCXM検査
の有用性に関する検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○福地 智恵, 小澤 伸晃, 丸山 哲夫
浅田 弘法, 久慈 直昭, 末岡 浩
吉村 泰典

【目的】近年原因不明の習慣流産患者に対する治療法として導入された免疫療方は、その治療効果に関して賛否両論はあるものの依然として不育症外来における主たる治療手段の一つとなっている。当院では以前より免疫療法の適応や治療効果の判断の指標としてFCXM(Flow cytometric crossmatch)検査を施行してきたが、今回は免疫療法施行患者における本検査の有用性について再評価した。【方法】免疫療方は3回以上の自然流産の既往がありルーチン検査で特に異常を認めない症例を対象に行い、施行方法の違いにより、妊娠前に非照射夫リンパ球を4回注射したA群(n=72)、照射夫リンパ球を4回注射したB群(n=24)、照射夫リンパ球を2回注射したC群(n=22)に分けて解析した。いずれの群においても妊娠確認後追加免疫を1回行った。FCXM値としては妻血清IgGとコントロール血清IgGの結合する夫Tリンパ球集団のなかで最も多くの細胞が有する蛍光強度の差であるピーク蛍光強度変動幅(T-mode値)に注目し、免疫療法による変動とその後の妊娠成績との相関を検討した。【結果】T-mode値はカットオフ値を20に設定すると、A群、B群、C群それぞれ86.5%、62.5%、14.2%が治療後陽性となった。また50以上の強陽性を示した症例はA群で51.9%、B群で8.3%に認められ、治療後も長期にわたり高抗体価は持続していた。一方妊娠継続率に関してはA群、B群、C群それぞれ79.2%(38/48)、72.2%(13/18)、69.2%(9/13)と有意差は認められなかった。また妊娠継続者でのT-mode値陽性率はそれぞれ92.0%(23/25)、81.8%(9/11)、16.7%(1/6)となったが、C群においても陽性者は少なかったものの妊娠継続に成功した多くの症例でT-mode値は上昇傾向を示した。【考察】過剰な抗HLA抗体産生を予防していくためにFCXM検査は依然として有用ではあると考えられるが、免疫療法の効果、予後判定の指標とする場合は治療方法に応じた陽性判断の基準を設定する必要があると考えられた。

O-44 黄体期中期子宮内膜NK細胞サブセットに影響を与える因子の検討

弘前大学医学部産科婦人科 ○木村 秀崇, 福井 淳史, 山口 英二
樋口 毅, 藤井 俊策, 齋藤 良治

【目的】体外環境において精漿中のTGF- β は、Th (T helper) 細胞バランスをTh2有意にすることが報告されている。また、私たちは、子宮内膜CD16+CD56dim細胞とTh1/Th2比とのあいだに正の相関があることを報告した。そこで、子宮内膜NK細胞サブポピュレーションを測定するうえ、このサブポピュレーションへの性交の影響を検討した。

【方法】当科でIVF-ETを施行している患者を対象に調査した。患者の同意のもと、黄体期中期に子宮内膜を採取し、フローサイトメトリーにてNK細胞サブポピュレーションを測定した。また、その子宮内膜採取周期での性交渉の有無とその日付を調査するうえ、性交渉のあった時期によりその採取された子宮内膜を増殖期、排卵期、分泌期の3期に分けてNK細胞サブポピュレーションを比較検討した。

【成績】CD16⁻CD56^{bright}細胞の比率は、排卵期群と非排卵期群(増殖期+分泌期群)とで比較した場合、有意ではなかったものの(p=0.052)前者で高い傾向にあった。

【結論】排卵期の性交によって子宮内膜中リンパ球サブポピュレーションの比率がCD16⁻CD56^{bright}細胞優位の傾向となる可能性が示唆された。

O-45

夫リンパ球による免疫療法の効果判定について

東京女子医科大学産婦人科 ○齊藤 理恵, 塩之入亜矢, 清水 聖子
安達 知子, 太田 博明

【目的】反復流死産における夫リンパ球による免疫療法の成績とその効果を判定する因子を後方視的に検討した。

【方法】平成5年1月～平成10年12月に反復流死産にて当科で精査され, 明らかな原因となる疾患がなく, インフォームドコンセントのもとに免疫療法を行った症例のうち, 妊娠の帰結が判明している33症例を対象とした。免疫療法は夫より約25ml採血後, 6000/ μ l以上に濃縮したリンパ球を約1ml患者皮内に注射する方法を非妊時に2週間毎に計4回施行した。その後妊娠しなかった場合は3ヵ月毎に追加免疫を行い, 妊娠時に再度追加免疫を行うことを原則とした。なお, 治療毎にLymphocyte toxicity test (LCT) 法で夫のリンパ球との反応を測定した。また, 有意差検定にはt検定, χ^2 検定を用いた。

【成績】1. 症例の経妊回数は 3.1 ± 1.0 回(2～6回), 経産回数は 0.2 ± 0.5 回(0～2回), 平均年齢は 32.2 ± 4.8 歳(24～41歳)であった。2. LCT法は23/33例(61%)に陽性となり, 年齢, 治療回数, HLAタイピングとの相関は認めなかった。3. 24/33例(70%)に妊娠が成立した。LCT陽性例での妊娠率は20/23例(87%)でLCT陰性例での妊娠率2/8例(25%)に比し高率であった($P < 0.005$)。4. 妊娠例での生児獲得率は16/24例(67%)であり, LCT陽性例での生児獲得率は13/23例(57%)であった。しかし, その年齢分布は流産群 33.8 ± 1.7 歳, 生児獲得群 29.2 ± 1.0 歳と流産群に年齢の高い傾向を認めた($P < 0.05$)。5. LCT法の抗体価陽性までの期間と生児獲得率に相関は認めなかった。

【結論】免疫療法の効果判定としてLCT法における陽性率は有用であること, また, 生児獲得率に関しては年齢因子も考慮に入れるべきであると思われる。

O-46

メラトニン分泌と合成に対するLHの影響
：松果体器官培養系を用いた研究

聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室 ○保坂 猛, 三室 卓久, 浜田 直美
石塚 文平
聖マリアンナ医科大学化学教室 伊藤 正則

【目的】メラトニンは主に松果体で生合成されるインドールアミンであり, 近年, ギナドトロピンなどの生殖に関わるホルモンがメラトニンの合成や分泌に対して影響を及ぼす可能性が高いことが示唆されている。そこで, 脳下垂体から分泌されるギナドトロピンの1つである黄体形成ホルモン(LH)が松果体におけるメラトニン合成と分泌に対して影響を及ぼすのかどうかを検討した。【方法】Wistar-Imamichi 系成熟雌ラット松果体を生理的濃度のLHを含む培養液で培養し, メラトニン放出量及びメラトニン合成に関与する2種類の酵素[アリルアルキルアミン N-アセチル転移酵素(NAT) とヒドロキシインドール-O-メチル転移酵素(HIOMT)] 活性を測定した。メラトニン放出量はRIA, NAT及びHIOMT活性は高速液体クロマトグラフィーで測定した。【結果】LHサーージ時の血中濃度にほぼ相当する 10^{-8} MのLHを含む培養液で松果体を培養したとき, そのメラトニン放出量及び合成酵素活性はコントロールと比較して有意な差を示さなかったが, 比較的低濃度である 10^{-12} M及び 10^{-10} MのLHで培養したとき, メラトニン放出量とNAT活性はコントロールよりも有意に高かった。一方, HIOMT活性は 10^{-10} MのLHで培養したとき, コントロールよりも有意に高かったが, それ以外の濃度で培養した場合は, 有意差が認められなかった。【結論】LHが松果体に直接的に作用してNAT活性を変化させることによって, メラトニンの合成と分泌を調節する可能性が高いことが示唆された。従来の報告と併せると, LHによって合成と分泌が促進されたメラトニンが脳下垂体に作用して, LH分泌を調節するようなフィードバック機構が存在することが推測される。

O-47

ゴナドトロピン負荷試験の適応に関する検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○山本百合恵, 浜谷 敏生, 酒井のぞみ
丸山 哲夫, 吉村 泰典

【目的】無月経の診断においては障害部位の特定が重要である。その際、黄体化ホルモン (LH)、卵胞刺激ホルモン (FSH) の基礎分泌値 (基礎値) に加えて、ゴナドトロピン負荷試験 (GnRH試験) を施行する必要性の有無を検討した。【方法】過去3年間に無月経を主訴に当科ホルモン外来を受診した患者計251名にGnRH試験を施行し、LH・FSH基礎値とGnRH試験に対する各ホルモンの反応性との相関について検討した。LH・FSH基礎値の正常上限は1993年日産婦生殖・内分泌委員会報告に基づき、LH7.0mIU/ml、FSH14.4mIU/mlとした。【結果】LH・FSHの基礎値は、LH正常-FSH正常型が126名 (50.2%)、LH高値-FSH正常型は102名 (40.6%)、FSH高値型が23名 (9.2%) であった。一方GnRH試験の結果は、LH正反応-FSH正反応型が64名 (25.5%)、LH高反応-FSH低～正反応型121名 (48.2%)、LH正～高反応-FSH高反応型31名 (12.4%)、低反応-低反応型14名 (5.6%)、その他21名 (8.4%) であった。基礎値がLH正常-FSH正常型であった126名のうち、LH正反応-FSH正反応型は59名 (46.8%)、LH高反応-FSH低～正反応型は30名 (23.8%)、LH低反応-FSH低反応型が14名 (11.1%)、その他21名 (16.7%) であった。基礎値がLH高値-FSH正常型であった102名では90名 (88.2%) がLH高反応-FSH低～正反応型を示した。この102名中LH/FSH比が1.0以上の症例は85名で、うちLH高反応-FSH低～正反応は78名 (92.1%) であったが、LH/FSH比が1.5以上の症例は54名で、うちLH高反応-FSH低～正反応は53名 (98.1%) であった。一方、FSH基礎値が高値であった23名においては、22名 (95.7%) がFSH高反応型であった。【結論】GnRH試験は、①FSH基礎値高値、②LH基礎値高値・FSH基礎値正常でLH/FSH比1.5以上の症例では有用性に乏しいが、LH・FSH基礎値正常例においては必要であると考えられた。

O-48

婦人科領域における2種類の GnRH agonist 徐放剤使用時の
内分泌動態と臨床効果の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○武内 裕之, 小堀 宏之, 菊池 盤
佐藤 雄一, 三橋 直樹

【目的】ブセレリン MP とリュープロレリン 1.88 は本邦でのみ使用されている低用量の GnRHα 注射剤であり、両剤使用時における内分泌動態と臨床効果について検討した。

【方法】子宮内膜症または子宮筋腫で GnRHα 療法が必要な患者を informed consent を得た上で無作為にブセレリン MP 投与の 34 例 (B 群) とリュープロレリン 1.88 投与の 33 例 (L 群) の 2 群に分類した。GnRHα は月経開始後 5 日目以内に投与開始し、4 週間ごとに計 6 回または手術まで継続した。来院時毎に性器出血 (月経様、点状、なし) およびほてり (>3 回/日、1~3 回/日、なし) の状況を問診し、2 回投与終了後の血中 LH、FSH、E2 値および子宮内膜厚を経膣超音波法で測定した。さらに GnRHα 治療前後の子宮筋腫核と卵巣チョコレート嚢胞の体積を経膣超音波法により計測した。

【結果】GnRHα 投与から 8 週間後の月経様出血の頻度は B 群で 47.1% と L 群の 15.8% に比べ有意に高かったが ($p<0.01$)、12 週間後以降は両群間ともに 80% 以上の症例が無月経となった。1 日 3 回以上の高度なほてりは L 群で高頻度に認められ、この傾向は投与 20 週後まで継続した。投与 8 週間後の血中 LH、FSH、E2 値および子宮内膜厚には両群間で有意差を認めなかったが、血中 E2 値が 50pg/ml を越える症例は B 群で 5 例 (16.6%)、L 群で 3 例 (10.7%) に認められた。GnRHα 投与終了時の子宮筋腫核の体積は投与前に比べ両群とも有意に ($p<0.01$) 減少したが、卵巣チョコレート嚢胞の体積は両群ともに変化しなかった。

【結論】リュープリン 1.88 はブセレリン MP よりも迅速な下垂体の down regulation を導くが、ほてりなどの更年期症状がより高度に認められる傾向が認められた。治療が 3 周期以上にわたる場合、両剤の治療効果はほぼ同等であると考えられた。

O-49

高LH血症性月経周期異常における温経湯の臨床効果

大阪医科大学産婦人科学教室 ○後山 尚久, 坂井 昌弘, 山下 英俊
 山下 能毅, 細谷 俊光, 鈴木 佳彦
 坪倉 省吾, 植木 實

温経湯は従来から臨床の現場において月経不順の治療薬として用いられ、特に排卵障害例には証の合致にかかわらずゴナドトロピン分泌促進効果を有することが知られている。

われわれは、ゴナドトロピン分泌に関する温経湯の効果をさらに詳細に検討する目的で、高LH血症を示す排卵障害、月経周期異常例に対し、温経湯を投与し、その経時的变化と排卵、月経周期の改善を観察した。

対象は、排卵障害および月経周期異常を示し、血中LH濃度が10 mIU/ml以上であった127例である。Randomized studyとして、温経湯(7.5 g/day, 医療用漢方エキス製剤)(51例)あるいはクロミフェン

(48例)を8週間投与し、経時的に採血しホルモン濃度の測定を行った。全例に対し、1ヵ月を観察期間とし、基礎体温の測定および再度のホルモン測定を行った。さらに、28例の薬剤未投与群をコントロールとして、ホルモン濃度の変動を比較した。血中FSH、LHおよびエストラジオール濃度はEIA(ピオメリュー)によって行った。高LH血症例のうちPCOS症例では、温経湯の8週間投与のよりLH濃度は平均30.6%の低下($P<0.05$)がみられた。また、非PCOS症例でも顕著(51.4%)な低下($P<0.0001$)が観察された。温経湯投与例に比較し、クロミフェン投与例ではPCOS症例、非PCOS症例いずれにおいてもLH濃度の有意な変動はなかった。温経湯投与による排卵あるいは月経周期の改善は73.7%(クロミフェン投与例は44.4%)であった。

以上より、温経湯はゴナドトロピン分泌不全のみならずLH分泌過剰例にも臨床効果を有することから、LHレベルの調整効果を有することが明らかとなった。このことから、温経湯は種々のホルモン異常を示す月経周期異常の治療薬として広く臨床応用できる可能性が示唆された。

O-50

精細胞アポトーシスを指標とした先天性異所性精巣ラットの造精機能障害の検討

帝京大学医学部泌尿器科学教室 ○足立 陽一, 友政 宏, 押尾 茂
 岩淵 正之, 四倉 正己, 遠山 裕一
 梅田 隆
 帝京大学医学部病理学教室 入江 宏
 帝京大学医学部中央動物室 田村 弘

【目的】最近、停留精巣の精巣障害機序として精細胞アポトーシスが注目されている。今回我々は停留精巣モデル動物として雄の約70パーセントに異所性精巣(患側)が出現するTS inbred ratsを用いて、その精巣障害を精細胞アポトーシスの観点から検討した。

【方法】片側性動物を用い、生後4、6、8週時に各4匹を麻酔、体重測定後、両側精巣を摘出した。対側陰嚢内精巣を対照として用いた(健側)。精巣組織はPAS染色法を、アポトーシス(A)の検出にはTUNEL法を用いた。各検体の精細管を50個づつ顕微鏡観察し、精細管内細胞数、TUNEL陽性細胞(陽性細胞)数を記録した。陽性精細管率は陽性細胞を含む精細管/50で、Apoptotic Index(AI)は陽性細胞数/精細管内総細胞数 $\times 1,000$ で算出した。

【結果】精巣重量は、患側は健側に比べて6週で約40%、8週で約30%まで低下した。組織像は、4週から患側で精子形成過程の遅延が観察され、6週では精細管は萎縮し大部分はpachytene細胞に止まり、8週では精細管が高度に萎縮し、spermatogoniaと一部に未熟なspermatocyteを認めるのみであった。Aは、健側で一部のspermatocyte、spermatogoniumで陽性細胞を認め、患側では4、6週で主としてspermatocyteで多数の陽性細胞を認めた。また、陽性精細管率は患側と健側を比較すると、4週約1.3倍、6週約2.3倍、8週約1.4倍、AIも同様に、4週約3倍、6週約14倍、8週は約3倍と、観察した全ての期間で患側が健側に比べて統計学的に有意な高値を示した。

【まとめ】異所性精巣でAの誘導が、思春期前期(4週)にはすでに開始され、思春期後期(6週)に最も盛んに見られたことは、停留精巣の早期治療の重要性を示唆するものと考えられる。

O-51 マウス半数体精子細胞特異的に発現する遺伝子 (scot-t) の単離およびその解析

健保連大阪中央病院泌尿器科 ○古賀 実, 木内 寛, 難波 行臣
竹山 政美
大阪大学医学部泌尿器科 中村 吉宏, 山中 幹基, 松宮 清美
奥山 明彦
大阪大学微生物病研究所 田中 宏光, 蓬田健太郎, 野崎 正美
野島 博, 西宗 義武

【目的】われわれはこれまで男性不妊症の原因解明を目的として、subtraction cloning 法を用いた、雄マウス半数体精子細胞特異的に発現する遺伝子群の単離とその解析を行ってきた。今回、その中の一つ、ヒトやブタの心臓から単離されている Succinyl CoA: 3-oxo acid CoA transferase (scot) と高い相同性を有する遺伝子、testis-specific homologue of scot (scot-t) について報告する。【方法】塩基配列から、その遺伝子構造を決定し、Northern blotting、in situ hybridization 法にて転写レベルでの解析を行った。また、ポリクローナル抗体を作成し、Western blotting、免疫染色にてその蛋白レベルでの解析を加えた。【結果】scot-t は全長1763bp、推定520アミノ酸(約57kDa)をコードする遺伝子であり、そのN末にはミトコンドリアシグナルペプチドと考えられる配列を有していた。Northern blottingでは、半数体後期精子細胞の時期より急激に特異的発現がみられ、in situ hybridization法にて step VIII-IX の精子細胞から転写が開始されていることが理解された。Western blotting からはシグナルペプチドを含まない約50kDaのバンドとしてその半数体後期精子細胞特異的発現が確認され、免疫染色にてin situ hybridization法 同様、step VIII-IX の精子細胞より翻訳が開始されることがわかった。また、精子では、特にmidpiece にて強くそのシグナルが観察されることからミトコンドリアに局在していることが示唆された。【考察】半数体精子細胞の時期にはGAPD-Sなど多くの解糖系酵素やエネルギー代謝に必要な蛋白が合成されている。scot は、ケトン体からのエネルギー産生に重要な代謝系酵素であり、これをコードする遺伝子 (scot-t) が精子細胞特異的に発現し、かつ、精子ミトコンドリアに局在することから、精子エネルギー代謝にとって新たな基質の可能性とその精子運動性との関連が示唆された。

O-52 不死化LeydigおよびSertoli細胞株の樹立とその機能の解析

富山医科薬科大学泌尿器科学教室 ○太田昌一郎, 明石 拓也, 野崎 哲夫
布施 秀樹

【目的】LeydigおよびSertoli細胞は、各々テストステロンおよびインヒビンなどを分泌するなど精子形成において重要な役割を演じており、これらの細胞の機能を生理学および薬理的に解析することは造精機能障害の原因解明の一助になるものと思われる。従来、これらの細胞の初代培養系が用いられていたが、機能を維持した状態で長期間培養するのは困難であった。そこで、温度感受性simian virus40 large T (tsSV40 large T) 抗原遺伝子を導入したトランスジェニックマウスからLeydig およびSertoli細胞株の樹立を試みた。【方法】トランスジェニックマウスの精巣より常法に従って、Leydig およびSertoli細胞を分離後、10%牛胎児血清含有DMEM培地中、許容温度(33℃)で増殖する細胞をコロニー形成法でクローニングした。樹立細胞を許容温度または非許容温度(39℃)で培養し、3 β -hydroxysteroid dehydrogenase(HSD)染色、蛍光抗体染色法およびRT-PCR法を用いて細胞の同定や細胞の機能を解析した。また、Leydig cellでは17 β HSDtype1およびtype3、Sertoli cellではインヒビン、トランスフェリンのmRNAの発現をRT-PCR法で検討した。【結果】樹立したLeydigおよびSertoli細胞株は、33℃で増殖し、39℃では増殖が強く抑制された。両細胞において、T抗原の発現は33℃で核中に認められたが、39℃では大部分消失したので、これらの細胞の温度感受性増殖はT抗原の作用に基づくものであることが明らかとなった。Leydig細胞株は、3 β HSD染色陽性で、17 β HSDtype1およびtype3の発現が観察された。Sertoli細胞株はインヒビン、トランスフェリンのmRNA発現がみとめられた。【まとめ】今回樹立したLeydigおよびSertoli細胞株は、各々の細胞に特異的な因子を発現しており、これらの細胞の生理機能や造精機能障害の原因解明を解析する有用なモデルになると考えられる。

O-53

ラット vasectomy モデルにおける造精機能障害の機序

山口大学医学部泌尿器科 ○白石 晃司, 内藤 克輔

【目的】 vasectomy により精祖細胞、精子細胞において DNA 合成能が低下し造精機能障害が生じることをヒト、ラットにおいて報告してきたが、今回その細胞内シグナル伝達経路について cell cycle に関わる分子、また apoptosis の関与について検討した。

【方法】 8週齢雄 Wistar ラットの両側精管に vasectomy を施行後、1週、1、2、3、6ヵ月後 (n=8) に精巣を摘出した。Sham operation 群 (各 n=5) を設定した。Western blotting、免疫組織化学染色にて PCNA, p53, p21^{WAF1/Cip1}, Gadd45, Bax, Bcl-2 の発現について検討した。apoptosis の評価として TUNEL 法、DNA ladder assay を行った。造精機能の評価として精巣重量測定および flow cytometry による percent of haploidy の算出を行った。尚、片側および両側に精子肉芽腫を形成したラットは解析から除外した。

【結果】 精子肉芽腫の形成を1週、1、2、3、6ヵ月後のラットのそれぞれ 0%, 25%, 38%, 38%, 50% に認めた。vasectomy 後 2ヵ月より有意な造精機能の低下を認めた。vasectomy 後 2、3、6ヵ月後に spermatogonia, primary spermatocyte に p53 の発現上昇を認めた。p21^{WAF1/Cip1}, Gadd45 には変化は認められなかった。apoptosis は spermatocyte において vasectomy 後 1週のものに認められた。Bax の発現上昇を 3、6ヵ月後に認めた。

【考察】 vasectomy 後の germ cell における DNA 合成能 (PCNA) の低下は p21^{WAF1/Cip1}, Gadd45 を介する G1 arrest の結果ではなく、p53-Bax 系を介する apoptosis による PCNA 陽性細胞 (spermatogonia, primary spermatocyte) 数の低下であると考えられた。また、それらの apoptotic cell は TUNEL 法および DNA ladder assay では検出されず、Sertoli cell による速やかな phagocytosis を受けていると考えられた。

O-54 マウス精子形成細胞に対するハイブリッドレトロウィルスベクターを用いた効果的な遺伝子導入の検討

関西医科大学泌尿器科 ○檀野 祥三, 六車 光英, 松田 公志
京都大学分子病診療学 藤田 潤

【背景・目的】 精子形成過程では、様々な遺伝子が発現し、これを制御していると考えられる。精子形成細胞へ様々な方法で遺伝子導入し、この制御を遺伝子レベルで明らかにする試みがなされている。我々は、レトロウィルスベクターを用いて、精子形成細胞へ遺伝子を導入し、精子形成過程を解析しようと考え、精子形成細胞で十分な遺伝子を発現しうるベクターの確定を試みた。【方法】 (1) マウス精巣、マウス生殖細胞株におけるレトロウィルスの ecotropic, amphotropic receptor の発現を検討。 (2) レトロウィルスで主な転写活性は LTR の U3 領域が決定している。そこで、chloramphenicol acetyltransferase を reporter とし、マウス生殖細胞株 GC-1 spg, GC-2 spd(ts) における、moloney murine leukemia virus (Mo-MuLV)、spleen focus forming virus (SFFVp)、myeloproliferative sarcoma virus (MPSV) の各々の U3 領域の転写活性を一過性の発現で比較。SFFVp の U3 領域における転写活性の責任部位をも検討。Primer Binding Site (PBS) の転写への影響をも検討。 (3) 得られた結果を基に、mdr-1 を発現するレトロウィルスベクターを作成、上記細胞株に感染させ色素排出能、薬剤耐性コロニー数を比較。【結果】 (1) マウス精巣、マウス生殖細胞株 GC-1 spg, GC-2 spd(ts) において ecotropic, amphotropic receptor の発現を確認。 (2) 一過性発現の比較では、SFFVp の U3 領域に最も強い転写活性を認め、その責任部位は first core element および、その上流域の Sp-1 binding site であることが示唆された。murine ES cell virus (MESV) の PBS を用いれば、MoMuLV で認められた転写の抑制が解除された。 (3) SFFVp の U3 領域と MESV の PBS を組み合わせたハイブリッドベクター (FMEV-type) で、mdr-1 の発現が最も強いことが、感染後の色素の排出能、薬剤耐性コロニー数により確認された。【結論・考察】 本研究により精子形成細胞で ecotropic, amphotropic receptor が発現していることが明らかになり、また FMEV-type のハイブリッドベクターが精子形成細胞での良好な遺伝子発現をなすことが確認された。

O-55

非閉塞性無精子症に対する造精機能評価のための
定量的テロメラーゼ測定 of 診断学的意義

ミオ・ファティリティ・クリニック ○加藤由加里, 岩浅ゆき穂, 源治 由美
波田地由深, 錦織 恭子, 見尾 保幸
鳥取大学医学部泌尿器科 ソフィキティス・ニコラオス

【目的】非閉塞性無精子症 (NOA) に対する新たな治療法として精巣組織内 (TESE) の精子を用いた顕微授精 (TESE-ICSI) が実施可能となった。しかし、その成否の鍵は精子の存在の有無であり、これを予測する新たな指標として定量的テロメラーゼ測定 (sensitive quantitative telomerase assay, SQTA) の診断学的意義を検討した。

【方法】対象はNOAのためTESE-ICSIを実施した症例で、SQTAのために精巣組織の提供を同意した33症例である。調節卵巣過剰刺激法下に採卵後TESEを行った。提供された精巣組織小片 (5mg) は凍結保存 (-20°C) 後、telomere repeat amplification protocol (TRAP、Hisatomi et al., 1997) 法でSQTA (TPG unit/ μ g protein) を測定した。

【成績】33症例中12症例 (36.4%) に精子が確認され、残りの症例では精子は存在しなかった。精子 (+) 症例でのSQTA値 (186.0 ± 51.3 TPG U, mean $\pm$ SE) に比して精子 (-) 症例のSQTA値 (66.5 ± 31.5) は有意に低値であった ($P < 0.05$)。SQTA値 (cutoff: 30) から精子の存在を予測するとSensitivityは83.3% (10/12)、Specificityは81.0% (17/21) と極めて良好であった。

【結論】SQTA値 (cutoff: 30 TPG U) は精巣組織内の造精機能を的確に反映し、TESE-ICSIの効率的実施に向けた新たな指標として有用であることが示された。

O-56

無精子症精巣内テロメラーゼ活性の検討

埼玉医科大学総合医療センター泌尿器科 ○谷澤 晶子, 斎藤 博
赤心堂病院泌尿器科 内島 豊,
赤心堂病院産婦人科 矢後 尚文, 下司 有美

(目的) 体外受精の進歩・普及により、無精子症などの本来妊娠が困難な夫婦間にも嫡子の誕生が可能となってきた。ただ精巣生検で Sertoli cells only の症例では従来、嫡子を諦めてもらうか、AID を勧めてきたが精巣中テロメラーゼ活性が認められる症例では積極的に体外受精を勧めるべきとの意見もあり、我々は精巣中テロメラーゼ活性が従来の検査方法と比較して精子形成能をより反映するかどうかを検討した。(方法) テロメラーゼは染色体末端の T2AG3 のテロメアの維持に働く逆転写酵素であり、活性中心となる触媒サブユニットと鋳型 RNA および付随たんぱく質からなり、癌細胞や生殖細胞などの盛んに増殖する細胞に存在する。精巣では精祖細胞、精母細胞および精子細胞に存在することが報告されている。我々は無精子症の 40 例に対して精巣生検時にその一部を切除後すぐに凍結保存し、TRAP 法でテロメラーゼを測定した。同時に精巣容積および血中 FSH と精子形成能についても比較検討した。テロメラーゼ測定については、手術前に検査法の意義・費用・結果の利用について各症例に対して十分説明し同意を得た。(結果) 両側精巣容積と Johnsen's score の間には相関係数 0.528、血中 FSH と Johnsen's score の間には相関係数 0.690 の相関が認められ score が低くなるにつれて FSH が高値を示す症例が多く認められたが、テロメラーゼと score の間には相関係数が 0.847 とより高い相関関係を認めた。精子分化度別では Sertoli cells only の症例ではテロメラーゼは 19.2 単位/ μ g protein であり、精子形成が進むにつれてテロメラーゼは高い値を示した。(結語) テロメラーゼ測定は不妊精巣の精子形成能の評価に有効である。今後組織学的に Sertoli cells only でもテロメラーゼが高い症例について組織からの精子回収が可能かどうかを検討する予定である。

O-57 Late arrest に対する GH 分泌刺激試験と clonidine 治療

浜松医科大学泌尿器科学教室 ○寺田 央巳, 鈴木 和雄, 藤田 公生

【目的】成人に発症するGnRH(gonadotropin releasing hormone)分泌不全症の存在が報告されて以来,Growth hormon(GH)の低下と造精機能障害の関係が取り上げられている. 本研究では,男性不妊症患者に対しGH刺激作用をもつclonidine hydrochloride(cloindine)及びL-arginine(arginine)を用いた負荷試験を行いGH分泌予備能を推察するとともに,GH分泌刺激の低下していると思われた症例にclonidineを経口投与治療を行った.【対象】不妊症の原因が特異性造精機能障害で,精子濃度が10 million/ml以下の乏精子症,無精子症症例で,その精巢生検病理結果がmaturation arrest (MA)55例(乏精子症:40例,無精子症:15例)に加えて,SAの結果が20million/ml以上で妻子を持つ健康成人15例をcontrolとした70例を対象とした.【方法】GH負荷試験はclonidine,L-arginineを用い,負荷前GH,TSH,LH,FSH,PRL,SM-C,DHEA,free-testosterone, Testosterone,IGFBP-3, 測定用の採血をしたcloindineは150 μ g(1錠75 μ g含有)経口投与, L-arginine300mlは点滴静注した.GH採血と血圧測定は投与後30分毎に120分まで測定した. 治療は,両負荷試験良好例32例,および中等度反応例で投与希望者の40例を対象にcloindine1錠を就寝前投与した.【結果・考察】clonidine負荷試験の副作用は軽度血圧低下による眠気で,180分後には回復した. GH値は clonidineでは60-90分後,arginineでは30-60分後にピーク値を示した.両負荷試験で乏精子症40例中32例(80%)が良好であったが,乏精子症8例(20%)と無精子症全例は低反応だった.反応不良例は精母細胞の段階でのarrestでJonsen's scoreが5-6の段階のものが多く減数分裂以前の症例については,clonidine投与によってGH分泌を刺激し成熟障害を促すのは困難と思われた.なお,負荷刺激としてはclonidineおよびL-arginineの両者とも有用であったが,治療薬としては少量の経口投与が可能なclonidineが選択された.

O-58 無・乏精子患者に対するY染色体上精巢特異既知遺伝子に対する欠失の検索

金沢大学薬学部 ○中島 美奈

金沢大学医学部泌尿器科 高 栄哲, 前田 雄司, 並木 幹夫
木場公園クリニック 吉田 淳

【目的】 無・乏精子症患者に対し,そのY染色体上微小欠失はSTS(sequence tagged site) マーカーが用いられている.従来より,AZF_a,b,cという領域に焦点をあて分類されている.一方,現在精巢特異的に発現している遺伝子が同定されているにもかかわらず,その機能が不明なものが多い.今回,文献で報告されている精巢特異遺伝子に焦点をあて,その特異的プローブを作製し,その欠失の有無について検索した.

【方法】 無・乏精子症患者約80例に対して末梢リンパ球よりゲノムDNAを抽出した.精巢において特異的に発現している遺伝子に対するプライマーを作製し,可能な限りその精巢phenotypeに対して検索した.遺伝子群はAZF_a領域のDBY(dead box Y), DFFRY(Drosophila fat-faces related Y), USP9Y(Ubiquitin-specific protease-9,Y chromosome) AZF_b領域のCDY(chromodomain Y), XKRY(XK related Y), eIF1AY(eukaryotic translation initiation factor), RBM(RNA binding motif), AZF_c領域のBPY2(basic protein Y2), DAZ(deleted in azoospermia)を用いた. PCR上欠失を認めた例に対してサザンプロットでその有無を確認した.

【結果】 現在約35例について検索を終了しているが,AZF_c領域のBPY2, DAZについて単独欠失を認め,AZF_b領域のRBM 単独欠失は3例認めた. AZF_b,c領域の広範微小欠失者においてCDY, RBM, BPY2, eIF1AYの欠失を認めたがXKRYは存在していた.

O-59

ヒト精巢のセルトリ細胞に発現する遺伝子の検討

徳島大学医学部泌尿器科学教室¹⁾ ○奈路田拓史^{1,2)} 中堀 豊²⁾
 徳島大学医学部公衆衛生学教室²⁾ 香川 征¹⁾

【背景・目的】男性不妊症では精巣における精子形成障害を伴う場合が多い。精細管内の精子形成過程には、セルトリ細胞が重要な役割を果たすものと考えられている。マウスなど動物の実験解析系では、精巣に発現する遺伝子が単離され、機能解析も行われているが、ヒトでは、精子形成を制御・調節する遺伝子やその機能はあまり理解されていない。そこで、組織学的に異なる精子形成像を示すヒトの精巣組織を用いて、セルトリ細胞に強く発現する、精子形成に関連すると思われる遺伝子の同定を試みた。

【対象・方法】ヒト精巣組織は、徳島大学泌尿器科で精巣生検を行った症例から、その一部を研究使用目的の同意をえて採取した。組織は、1) Germ cell aplasia (Sertoli cell only synd.)、2) Maturation arrest、3) Normal spermatogenesis と診断されたサンプルを用いた。それぞれより、total RNA を抽出し、蛍光ラベルによるDifferential Display (DD) analysis を行った。

【結果】上記Germ cell aplasia、Maturation arrest、Normal spermatogenesis のサンプル間で、電気泳動パターンを比較し、Germ cell aplasia の組織に強いシグナル強度を示すバンドを複数同定した。これらは、セルトリ細胞に由来する遺伝子の可能性が高いと考えられる。バンドを回収し、プラスミドベクターにサブクローニングしたのち、塩基配列を決定した。データベース上の検索で、複数のEST (Expressed Sequence Tag) と高い相同性が認められた。これら塩基配列決定した遺伝子につき、specific primers を作成して、それぞれの組織における発現の程度をRT-PCR にて解析した結果とともに、今回クローニングした遺伝子が、Germ cell aplasia の組織のセルトリ細胞に特異的に発現しているものか否かにつき報告する。

O-60

男性不妊症に合併した精索静脈瘤の治療結果の検討

東邦大学医学部泌尿器科学第一講座 ○川上 稔史、三浦 一陽、中居 敏明
 工藤 貴正、吉田 淳、永尾 光一
 石井 延久

【目的】男性不妊症例に対する精索静脈瘤の治療結果を累計し、精索静脈瘤を治療する場合、手術前に手術後精液所見が改善するかどうか、また、妊娠が可能かなどをある程度予想できる指標となるものはないか検討した。

【対象】1978年1月から1999年12月までの22年間に男性不妊症を主訴として東邦大学大森病院リプロダクションセンター泌尿器科部門を受診し、触診・超音波診断（カラードプラ）・陰囊皮膚温度測定を行い、精索静脈瘤の手術適応と判定された症例のうち手術療法後、妊娠症例では妊 P 確定まで経過観察ができた症例、非妊娠症例では術後6ヶ月以上経過観察ができた症例の合計635症例である。

【方法】手術法は観血的手術法である内精静脈高位結紮術と内精静脈塞栓術、低位結紮術および腹腔鏡下結紮術の4法を行った。

【結果】635症例中自然妊娠を確認できたものは133症例で、妊娠率は20.9%であった。術後の経過期間では妊娠症例群では平均563日（出産または出産予定日まで）、一方、非妊娠症例では平均323日であった。術前・術後の精液所見の変化では術後の精液所見は術前より改善しており、統計学的に有意差を認めた。一方、妊娠症例群と非妊娠症例群との術前の精液所見では有意差はなかった。

【考察】術前の精索静脈瘤の程度が高いものほど精液の改善が良好であった。また、非妊娠症例において郵送などによる経過観察を行えば、妊娠・出産例が増加するものと考えられた。一方、ARTが、発達してきた最近では、精索静脈瘤の手術を希望する症例が少なくなってきたような印象を受けた。

O-61

当科における精巣動脈・リンパ管温存精索静脈瘤手術の
術後成績、経過の検討

洛和会音羽病院泌尿器科 ○塩山 力也, 七里 泰正, 北村 健
西村 昌則
浜松労災病院泌尿器科 小倉 啓司

【目的】男子不妊症に対する精巣動脈・リンパ管温存精索静脈瘤手術の術後成績、経過につき検討する。【対象】1994年12月～1999年12月に73例の精索静脈瘤手術を施行（うち25例は拡大鏡下：SVX、48例は顕微鏡下：MVX）、43例（ 34.0 ± 4.9 歳）がcomplete follow可能であった。【方法】(1)精液所見の検討は術前全平均値、術後は3ヶ月以降の平均値で、Fertility Index（以下FI）・総直進運動精子数（以下MI）増加を精液所見改善とした。改善51例中43例を術後妊娠群（自然妊娠：N群、AIH：A群）、非妊娠群（I群）に分け各群のFI、MI、精子濃度、精子運動率、精子直進運動率といったパラメータの有意差を検討した。有意差のあるパラメータは、妊娠の期待できるカットオフ値の検討も行った。(2)手術のmorbidityについては、術後早期および3ヶ月ごとに理学的所見、カラードプラ超音波断層撮影法等で静脈瘤の持続、再発・精巣容積・精巣水腫の経過観察を行った。【結果】(1)術後精液所見改善率は67%で、妊娠群と非妊娠群を分ける有意なパラメータは術後精子運動率（ $p=0.015$ ）であった。術後精子運動率が55%以上例では妊娠期待値60%であった。(2)術後静脈瘤の持続、再発はSVX・MVXそれぞれ3例（12%）・0、精巣水腫は3例（12%）・1例（2.1%）で、今回検討した症例は全例精巣動脈を温存しており精巣の術後萎縮は認めなかった。MVXは有意にmorbidityが低いと考えられた。【考察】(1)精巣動脈・リンパ管温存精索静脈瘤手術の術後妊娠成立を予測する重要な因子は術後精子運動率である可能性が示唆された。(2)精巣動脈・リンパ管温存精索静脈瘤手術では顕微鏡下手技が再発、精巣水腫の少ない点で有用と考えられた。

O-62

腹腔鏡下精索静脈瘤高位結紮術の治療成績
—精巣動脈温存の意義—

富山医科薬科大学泌尿器科学教室 ○野崎 哲夫, 太田昌一郎, 奥村 昌央
岩崎 雅志, 布施 秀樹

【目的】腹腔鏡下精索静脈瘤高位結紮術は全身麻酔下という侵襲はあるが精巣動脈温存が比較的容易で両側症例に有用であるなどの利点がある。本法による治療成績及び精巣動脈温存の意義につき報告する。【対象と方法】不妊にて当科を受診し精液所見に何らかの異常を認めた精索静脈瘤症例101例に対し本術式を施行した。診断は立位Valsalva下の触診及び超音波カラードップラ法にて行った。年齢は23歳から50歳、平均31.8歳、患側は左側のみが72例（71.3%）で鈴木分類によるgrade別ではG1が16例、G2が36例、G3が18例、Subclinical 2例、一方両側例は29例（28.7%）で、左側がG2が10例、G3が19例、右側がG1が5例、G2が21例、G3が2例、Subclinical 1例であった。精巣動脈温存例（A群）は84例（83.2%）、精巣動脈を結紮した症例（B群）は17例（16.8%）（両側4例に対しては2例は両側、1例は右側、1例は左側）であった。精液所見の改善判定は寺田らの判定基準を用いA群とB群各々の術前と術後3ヶ月の精液所見を比較した。【結果】A群の術前精子濃度のmean±SDは（ 26.5 ± 37.3 ） $\times 10^6$ /mlで術後は（ 34.1 ± 44.2 ） $\times 10^6$ /ml、一方B群は術前（ 36.3 ± 51.9 ） $\times 10^6$ /mlで術後（ 41.9 ± 47.9 ） $\times 10^6$ /ml、いずれも $p>0.05$ と有意差を認めなかった。精子運動率ではA群は術前 $27.9 \pm 19.7\%$ 、術後 $34.8 \pm 19.8\%$ 、B群は術前 $34.5 \pm 25.8\%$ 、術後 $47.8 \pm 28.2\%$ で各々 $p<0.05$ といずれも有意に改善した。一方有効率でみると精子濃度ではA群40.5%、B群41.2%、また精子運動率ではA群48.8%、B群52.9%であり2群間で有意差はなかった（カイ2乗検定）。超音波カラードップラ所見についても検討予定であるが今回は精巣動脈温存の意義は認められなかった。術後静脈瘤の残存、再発例はなくまた精巣の萎縮も認めなかった。合併症はトロッカー刺入部の止血不良にて開腹止血を要した1例の他数例に発熱や皮下気腫などを認めたが保存的治療にて改善した。

O-63 TESE時精巣組織と touch preparation cytology, 生検組織診との比較検討

昭和大学医学部泌尿器科 ○渡辺 政信, 五十嵐 敦, 麻生 太行
坂本 英雄, 吉田 英機
昭和大学医学部病院病理科 九島 巳樹
梅ヶ丘産婦人科 金井 裕子, 辰巳 賢一

非閉塞性無精子症患者に TESE による ICSI がおこなわれているが、精子が存在する精細管を同定することが重要であるが、Johnsen score count が低い精巣では難しい。そこで精巣内精子の有無の判定として testicular touch preparation cytology と生検組織とを比較し、さらに ICSI 用に採集した精巣組織とも比較した。

(対象と方法) 閉塞性無精子症 4 例、原発性無精子症 3 4 例、高度乏精子症 3 例、逆行性射精 3 例の計 4 4 例、4 9 精巣に精巣生検と touch preparation cytology を行い、その内 2 0 例、2 9 精巣に ICSI 目的に TESE を行った。touch preparation cytology は第 4 4 回日本不妊学会総会で報告した方法で精子の同定を行い、病理組織はプアン液固定、HE 染色し Johnsen score count (以下 JS) で評価した。少なくとも 3 カ所採集した ICSI 用精巣組織は梅ヶ丘病院に搬送され凍結保存されたが、保存時あるいは ICSI 時に精子の有無を判定した。非運動あるいは未熟でも精子は陽性とした。

(結果) touch preparation cytology と組織診と精子同定を比較すると、touch preparation cytology の精子判定は感度 82.6%、特異度 96.2%であり、精子陽性 2 3 例中 4 例を偽陰性とした。Johnsen score 8-10 は 1 9 精巣、JS 7 は 1 例、JS 6 は 1 例、JS 4-5 は 5 例、JS 1-2 (JS 9 局在含有 2 例) は 2 2 例であった。TESE での精子陽性率は JS 8-10 で 100% (11/11)、JS 7 で 0% (0/1)、JS 5 で 100% (1/1)、JS 2 で 44.4% (4/9)、JS 1% で 0% (0/1) であった。TESE での精子の判定は touch preparation cytology の感度 68.8%、特異度 22.2%、生検組織診の感度 75%、特異度 71.4%であった。

(結論) touch preparation cytology は造精機能状態を組織診と同じように反映するが、JS が低い精子での精子を同定するには無効と考え、Johnsen score count が低い精巣では組織をランダムに多数採集し精子を確認する必要がある。

O-64 精巣内精子採取術 (TESE) 施行症例の臨床的検討

札幌医科大学医学部泌尿器科 ○笹尾 拓己, 伊藤 直樹, 塚本 泰司
神谷レディースクリニック 神谷 博文
札幌医科大学医学部産婦人科学 遠藤 俊明, 工藤 隆一
東豊病院産婦人科 幡 洋

(目的) TESE を施行した症例での精子採取率、およびどのような症例で精子採取が可能であったかを検討した。

(対象と方法) 対象は 1999 年 1 月より 2000 年 5 月までに無精子症・高度乏精子症に対して腰椎麻酔下にて open TESE を施行した 19 例と局所麻酔下にて needle TESE を施行した 34 例 (39 回) 計 53 例である。年齢 27-52 歳、平均 35.0 歳。6 例は高度乏精子症例で他は無精子症例であった。得られた組織を細切しガーゼで濾過後、単層パーコール液で遠沈し培養液で洗浄した。

(結果) Open TESE では 19 例中 10 例 (52.6%) で、needle TESE では 34 例中 26 例 (76.5%) で精子の採取に成功した。採取不能群の平均血中 FSH 値は $5.2-67.0$ mIU/ml (平均 24.9 ± 15.0 mIU/ml) で、精子採取群の平均血中 FSH 値 $1.9-26.6$ mIU/ml (平均 9.2 ± 7.4 mIU/ml) に比べ有意に高値であった。生検結果と採取率との関係を検討すると normal spermatogenesis 4/5 (80%)、hypospermatogenesis 13/13 (100%)、maturation arrest 11/12 (91.7%)、Sertoli cell only tubules (SCO) 0/13 (0%) であった。Normal spermatogenesis 例で精子採取不能であった 1 例は技術的要因によるものと考えられた。精巣容積は精子採取群で 18.9 ± 5.9 ml と採取不能群の 11.4 ± 5.9 ml に対し有意に大きかった。

(考察) SCO でも精子採取は 20-60% で可能であると報告されているが、今回の検討では採取に成功した症例はなかった。FSH 値による精子採取の予測を ROC curve を用いて検討すると、血中 FSH 値が 14 mIU/ml で sensitivity 72.8%、specificity 87.5% であった。精巣生検の結果が SCO でなく、FSH 値が 14 mIU/ml 未満が精子採取の可能性が高い条件と考えられた。

O-65

画像解析ソフトを用いた精子midpiece形態の検討

長崎大学医学部産科婦人科学教室 ○宮村 泰豪, 蓮尾 敦子, 北島 道夫
藤下 晃, カレク・ネワズ・カーン
増崎 英明, 石丸 忠之

精子の奇形率は妊孕能と関連するとされるが, 精子形態の客観的な評価は困難である. midpieceにはミトコンドリアが存在するため精子の運動能と関連が深いと考えられている. 今回我々は画像解析コンピュータソフトを用いて, 精子midpieceの形態評価を行い, 体外受精・胚移植治療時の受精率との関連性を検討した.

【対象および方法】当科で1999年2月より2000年5月に体外受精・胚移植治療を行った23症例23周期を対象とした. 媒精時に精子のスメアを作成し, パパニコロー染色を施した. 画像解析コンピュータソフト (Mac scope) を用いて各周期100合計2300の精子midpieceの形態を観察した. WHOのマニュアル4版のストリクトクライテリアに従いmidpiece形態の異常(thick, thinおよびasymmetrical insertion)な精子を選別し, 形態正常精子の割合と精子運動能および体外受精・胚移植治療時の受精率との関連を検討した.

【結果】midpieceが正常であった精子の割合は各周期ごとに62~92%であった. 正常midpieceの比率と射精時の精子運動率との間には有意な相関が認められた($R=0.50$, $p=0.02$). また, 正常midpieceの比率が上昇すると体外受精・胚移植治療時の受精率も上昇する傾向が認められた($R=0.41$, $P=0.05$).

【考察】精子midpiece形態を画像解析コンピュータソフトを用い, ストリクトクライテリアに従って評価した. その結果精子midpieceの形態は精子の運動能と関連し, さらにその受精能とも関連している可能性が示唆された.

O-66

ヒト精漿中VEGF濃度とその存在意義について

埼玉医科大学産婦人科学教室 ○大井川智子, 梶原 健, 小川 博和
飯田 幸雄, 渡辺 芳明, 高橋 通
畑 俊夫

(目的) Vascular endothelial growth factor(VEGF)は当初は血管の透過性を亢進させるのに加え血管内皮細胞に増殖活性を示すタンパク性因子として同定された. しかしその後の研究によりVEGFは全身のさまざまな組織に発現し多彩な生理活性を有し, 生殖現象においてもその関連が示唆されている. またIVF-ETを行った症例の中では精漿中VEGF濃度が高い症例においては妊娠率が高い事が報告されている. 今回我々はヒト精漿中のVEGFの有無, またその濃度と精液所見との関連について検討した. (方法) 当科不妊外来に通院する患者21名からインフォームドコンセントを得た上で用手的に得られた射出精子を液化し, 精液検査を行った後に精漿を遠心分離し, 精漿中のVEGF濃度をELISA法にて測定した. また精漿中のVEGF濃度と患者年齢, 精液所見との相関を検討した. (結果) VEGFは全例に検出されその平均濃度は $58.3 \pm 27.1 \text{ ng/ml}$ であった. また患者の平均年齢 35.8 ± 4.0 , 精液量 $2.97 \pm 1.20 \text{ ml}$, 精子濃度 $87.5 \times 10^6 \pm 62.2 \times 10^6 / \text{ml}$, 運動率 $45.2 \pm 21.4\%$, 運動精子濃度 $42.6 \times 10^6 \pm 44.1 \times 10^6 / \text{ml}$ であったが, 精漿中のVEGF濃度と各種パラメータの間には有意な相関関係は認められなかった.

(結論) 患者年齢及び精液所見と精漿中のVEGF濃度との間には有意な相関関係は認められなかったが, ヒト精漿中には文献などで報告されている血清中濃度に比較して高濃度のVEGFが存在していることが判明した. この事は精漿中のVEGFが何らかの生殖活性を有する可能性が示唆されたと考えられた.

O-67 ヒト精漿中に存在するメタロプロテアーゼに関する研究

明治薬科大学 ○下川 健一、片山 昌勲、松田 兆史
 共済組合立川病院 原 唯純、佐藤 博久
 東京歯科大学市川総合病院産婦人科 兼子 智

【目的】ヒト精漿中にはプロテアーゼやペプチダーゼなどを含む多くの加水分解性酵素の存在が知られている。しかし、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)に関してはまだ報告されていない。そこで我々は新たにヒト精漿中よりゼラチンを加水分解するMMP様の活性を見出したのでここに報告する。

【材料】ヒト精液はボランティアあるいは共済組合立川病院及び東京歯科大学市川総合病院の産婦人科を受診し、精液検査を受けた患者から承諾を得た上で提供を受けた。そして実験に供するまで-40℃で凍結保存した。GCL-2000-sfおよびGelatin-cellulofineは生化学工業から購入した。また、蛍光性合成基質(Dnp-Pro-Leu-Gly-Leu-Trp-Ala-D-Arg-NH₂)はCALBIOCEM社から購入した。

【方法】酵素の精製はグルト(GCL-2000-sf)及びアフィニティークラム(Gelatin-cellulofine)を用いて行った。メタロプロテアーゼ活性測定はゼラチンザイモグラフィあるいは蛍光性合成基質を用いた。

【結果および考察】ヒト精漿中より見出されたメタロプロテアーゼはゼラチン及びMMP用蛍光性合成基質を加水分解した。また、ゼラチンアフィニティークラムに吸着したことよりその分子内にゼラチンと結合する部位を有すると考えられた。さらに、ゼラチンザイモグラフィから分子量が約92-kDa、72-kDa、62-kDa、48-kDa及び45-kDaであることがわかった。これらの結果よりこのMMPはゼラチナーゼAの前駆体とその活性化体及びゼラチナーゼBである可能性が示唆された。これら酵素の諸性質の検討結果についても合わせて報告したい。

O-68 精液中活性酸素の精子運動率への影響とその起源細胞に関する検討

横浜赤十字病院泌尿器科¹⁾ ○岩崎 皓¹⁾、松下 和彦²⁾、湯村 寧³⁾
 栄共済病院病理²⁾ 斎藤 和男³⁾、小川 毅彦³⁾、菅野ひとみ³⁾
 横浜市立大学医学部泌尿器科学³⁾ 佐藤 和彦³⁾、穂坂 正彦³⁾

特発性男子不妊症の成因の一つに活性酸素の関与が報告されるようになってきた。また、その活性酸素が精子運動率や妊娠性に影響を与えるとされる報告も多い。しかし、実際には、洗浄精子では強く活性酸素の影響が認められるものの、精漿の存在下ではその影響は殆ど見られない。一方、精子より産生される活性酸素に比べて、白血球より産生される活性酸素の値の大きいことから、未処理精液中で検出される活性酸素の起源に白血球が有力視されている。私達は精液中の活性酸素の主たる起源が白血球であるならば無精子症の精液中にも活性酸素の検出する例が認められるものとして検討を加え、幾つかの知見を得た。その中で、著明に上昇した活性酸素の検出できた1例(HMG+HCG療法施行中の低性腺刺激ホルモン性・性腺機能低下症患者)を経験し、その精液中に多数の好中球と円形精子細胞と考えられる細胞を認めたため、患者の同意を得たあと、この2種の細胞の同定、およびこの精液を用いての精子運動率への影響を検討した。方法は(1)ルミノメーターを用い、ルミノールによる化学発光の積分値を求めこれを活性酸素値とした。(2)活性酸素検出可能な無精子症患者精液のギムザ染色、PAS染色、ペルオキシダーゼ染色等により起源細胞の同定を試みた。(3)強度の活性酸素陽性を示した無精子症の未処理精液と運動精子を含む他の同意の得られた患者の未処理精液の混合液を作成し、時間経過による精子運動率の変動を観察した。

その結果、①無精子症精液中にも軽度の活性酸素の検出が認められる症例があり、②強度に検出できる活性酸素を含む精液中には異常な精子細胞の増殖があり、これが白血球による活性酸素の産生に寄与している可能性があると考えられた。③精漿存在下でもこのような強度の活性酸素との接触は精子運動率に影響を与えることが示唆された。

O-69 ElastaseおよびSLPIの精子運動能および活性酸素産生に及ぼす影響

大分医科大学産科婦人科学教室 ○浦田憲一郎, 栖原 久司, 田中雄一郎
宮川 勇生

【目的】男性不妊における精子運動能の低下をもたらす因子およびその病態はいまだ不明な点が多い。膿精子症における精子機能障害の機序を明らかにするため、elastaseの精子運動能および活性酸素産生に及ぼす影響、および、このelastaseの作用に対するsecretory leukocyte protease inhibitor (SLPI)の効果について検討した。

【方法】正常精液 ($n=12$, WHO 基準をみたすもの) にelastaseを直接添加し、精子運動能の指標 (SMI) の変化をSQA II B により測定した。また、elastase刺激後の精液中の活性酸素の変化を、ルミノール添加による化学発光 (CL) としてフォトカウンターで測定した。さらに、elastaseの作用に及ぼすSLPIの影響を検討した。精液は、患者のインフォームドコンセントを得て実験に用いた。

【結果】Elastase (0.1, 0.5, 1.0 $\mu\text{g/ml}$) は濃度依存性に SMIを低下させた ($p<0.01$)。また、elastaseは時間依存性に SMIを低下させ、添加30分後に control群と比べ30%の SMI低下 ($p<0.01$) を認めた。Elastaseは精液の活性酸素産生を濃度依存性に増加させた ($p<0.01$)。つぎにelastaseとともにSLPIを添加したところ、elastaseによる精子運動能抑制作用が有意に改善された ($p<0.01$)。また、elastaseによる精液の活性酸素産生促進作用もSLPIにより有意に改善された ($p<0.05$)。SLPI単独でも活性酸素産生の抑制作用が認められた ($p<0.05$)。

【結論】Elastaseにより SMIは有意に低下し、精液中の活性酸素が有意に上昇した。また、SLPIによりelastaseの SMIへの抑制作用とともに活性酸素産生作用も抑制された。これらの結果から、感染におけるelastaseの上昇により精子運動能への障害がおこるが、SLPIはその作用に拮抗すること、また、これらの効果の一部は活性酸素を介していることが示唆された。

O-70 未熟卵子の体外成熟を目的としたFSH受容体遺伝子導入による遺伝子治療の基礎的検討

新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○芹川 武大, 永田 寛, 藤田 和之
田中 憲一

【目的】未熟卵子と顆粒膜細胞との共培養では、培養数日で顆粒膜細胞のFSH受容体 (FSHR) 発現が消失するため、通常の共培養ではその効果は少ないと考えられる。そこで、初代培養顆粒膜細胞にFSHR遺伝子を導入し、未熟卵子の体外成熟を目的とした遺伝子治療を行うための培養系を確立することを目的とした。

【方法】diethylstilbestrolにて刺激した幼若雌ラット卵巣から顆粒膜細胞を採取、屠殺直後及び培養数日後に、 ^{125}I -FSHを用いたバインディングアッセイ (RRA) 法によりFSHR数を、またFSH刺激によるE2産生能を測定した。また、ヒトFSHR遺伝子 (群馬大学産婦人科峯岸敬博士より分譲) をアデノウイルスベクターに組み込んだ組換えアデノウイルス (Ad-FSHR) を作成、MOI 10にて顆粒膜細胞に導入し、2日後FSHR数、FSH刺激によるE2産生能を測定した。

【成績】屠殺直後のラット顆粒膜細胞では、FSHR数は 6071 ± 719 /cellであり、FSH刺激によりE2が 2865 pg/ml 産生された。培養3日目のFSHR数は 2390 ± 1011 /cell、E2産生量も 382 pg/ml と減少し、培養7日目ではFSHRはほとんど消失、E2産生量も測定感度以下となった。一方、Ad-FSHR導入顆粒膜細胞では、培養3日目で受容体数が 6752 ± 76 /cell、E2産生は 1310 pg/ml と未導入細胞と比較して増加し、培養7日目においてもFSHR数が 1851 ± 385 /cellと再び発現を認め、E2産生量は 365 pg/ml と産生を再開した。

【考察】FSHR遺伝子を初代培養顆粒膜細胞に導入することにより、減少したFSHRを再び発現させ、かつ減弱する FSH刺激に対する細胞反応性を回復する培養系を確立したことから、遺伝子治療による未熟卵子のex vivoでの成熟が期待される。

O-71 未熟卵子体外成熟培養における至適採卵条件についての検討

IVF大阪クリニック ○西垣 明実, 河田 淳, 福田 愛作

西岡 純子, 西原 卓志, 當仲 正丈

山崎 雅友, 岩本 英熙, 庄野 明子

中岡 義晴, 森本 義晴

関西医科大学産科学婦人科学教室 神崎 秀陽

【目的】昨年より当クリニックでは非刺激周期の未熟卵子を用いた体外受精の臨床応用を開始した。成熟卵子の採卵とは異なり未熟卵子を採卵するタイミングについては明確な指標はない。そこで未熟卵子の至適採卵条件を明らかにするため、昨年9月より本年3月までに行った64例の未熟卵採卵の成績をretrospectiveに検討した。

【方法】採卵は、月経終了後の卵胞期に超音波検査にて主席卵胞の発育がなく7mm以上の小卵胞が複数個観察される場合に行った。採卵方法は、静脈麻酔下に経腔的に行った。まず17G外筒針で卵巣を固定、20G採卵針で小卵胞を穿刺し、300mmHgで吸引した。得られた卵子は24~48時間IVM培養液(TCM-199、卵胞液、LH、FSH添加)で体外培養を行い、成熟した卵子につき顕微授精を行った。64例をA群:25から35日の規則性月経周期を有する症例(27例)、B群:不規則性月経周期を有する症例(16例)およびC群:PCO症例(21例)の3グループに分け、それぞれの採卵時月経周期と採卵数、体外成熟率、胚のグレードを比較した。【結果】平均採卵時月経周期はA群10.1日、B群15.2日、C群13.5日、平均採卵数はA群2.9個、B群4.4個、C群7.4個、体外成熟率はA群67.0%、B群61.7%、C群49.0%であった。受精率および胚のグレードは各群に差はなく、胚移植あたりの妊娠率はA群0%(0/12)、B群18.2%(2/11)、C群16.7%(3/1)であった。各群をさらに採卵時月経周期別に採卵数、体外成熟率、胚のグレードにつき比較したが、B群の21日以降の採卵において、成熟率が23%と低い以外に各群に差はみられなかった。【結論】採卵針の改良と技術の向上により規則性月経周期を有する症例からPCO症例まで従来と同様の経腔採卵で未熟卵子を得ることは可能であった。採卵数はPCO症例が有意に多かったが、逆に体外成熟率はPCO症例で有意に低かった。主席卵胞の発育がなく7mm以上の小卵胞が複数個観察される条件であれば採卵月経周期による採卵数や胚の質的な差は認めないことが判明した。しかし妊娠率は満足できる数字には至らず、今後さらなる検討が必要であると考えられた。

O-72 未熟卵体外成熟顕微授精胚の凍結融解胚移植による妊娠例の報告

IVF大阪クリニック ○福田 愛作, 河田 淳, 當仲 正丈

山崎 雅友, 西垣 明実, 岩本 英熙

庄野 明子, 中岡 義晴, 森本 義晴

関西医科大学産科学婦人科学教室 神崎 秀陽

1999年当クリニックに於いて非刺激周期婦人よりの未熟卵の体外成熟顕微授精を行い、本邦初の妊娠例を得ることができた。しかし、その妊娠率(12.2%)は当クリニックの通常の体外受精胚移植法(38.6%)に比べかなり低率であった。その原因の一つとして子宮内膜因子が考えられたため、今回我々は、未熟卵体外成熟顕微授精(IVMF)により得られた前核期受精卵を凍結保存し、採卵に引き続く周期にホルモン補充を行い子宮内膜の改善を試みた上で凍結融解胚移植を施行した。胚移植後は通常の凍結融解胚移植と同様に管理した。現時点で8例の胚移植を終了し、6例目に妊娠例を得たので報告する。十分なインフォームドコンセントを得て施行した患者12例に月経周期9~16日目に採卵を行い、8例に胚移植(66.7%)を施行し、1例が妊娠(12.5%)に成功した。妊娠成功例は35歳の規則的月経周期を持つ患者で、卵管障害のため過去5回通常体外受精を受け不成功に終わっている。月経周期9日目に採卵し2個の未熟卵を採取、24時間後に成熟卵となり顕微授精を施行、前核期の状態で凍結保存した。引き続き周期にホルモン補充を行い、凍結融解後に5細胞期と8細胞期に分割した2個の胚を生化学的孵化補助術施行後に子宮経管より移植を行った。移植後2週間で妊娠反応陽性となり現在胎児心拍も確認され順調に経過している。本妊娠例はIVMF凍結融解胚による本邦初の妊娠例と考えられる。今回の試みは、IVMFの問題点と考えられる子宮内膜因子を克服しようとしたものである。今後さらに症例を増やし本法の有用性を確認する必要があるが、ARTの一つの選択肢として有効なものになると考えている。

O-73 ヒト未成熟卵子の体外成熟培養および凍結保存との比較

吉田レディースクリニック ○吉田 仁秋, 大宮 由紀, 青野 展也

【目的】ヒト未受精卵子の凍結保存は化学療法前の患者にも有用となり、今後の ART の進歩にとっても必要なものと思われる。近年ヒト未成熟卵子の体外成熟培養 (IVM) の報告を認め、様々な検討がなされている。そこで今回我々は、ヒト未成熟卵子 (GV 期) をガラス化保存し、解凍後 IVM を行いその後の生存率の検討、M II 期への成熟率、受精率、分割率について通常 IVM と比較検討した。

【方法】当院にて多嚢胞性卵巣症候群 (PCOS) の腹腔鏡下レーザー焼灼治療を行った患者のうち、インフォームド Consent のもと同意を得られた患者よりレーザー焼灼前の卵胞から卵の採取を行った。得られた GV 期卵子を一部は卵丘細胞付着のまま IVM へ、一部は 10 % EG に 5 分間暴露後、40 % EG, 0.5M Sucrose へ投入、ストローへ吸引後ただちに液体窒素中で急速冷却しガラス化保存を行った。解凍は、37 °C 0.5M Sucrose にて急速加温融解し 0.25M、0.125M Sucrose にて段階的に希釈洗浄した。IVM は 10IU/ml HCG、75mIU/ml FSH、10% ヒト血清を含む TCM-199 中で 2 4 ~ 4 8 時間培養を行い、M II 期まで達した卵子に ICSI を施しその後の発生能を比較検討した。

【結果】9 人の患者から計 5 8 個の卵子が採取され、そのうち形態的変性卵を除き GV が確認されたのは 3 7 個であった。凍結、融解後の形態的生存率 34.8 % (8/23)、通常 IVM と融解後 IVM の M II 期への成熟率、受精率、分割率はそれぞれ 57.1%・62.5%、62.5%・80%、60%・75% であった。

【結論】今回の検討では凍結・融解後の生存率が低く今後ガラス化液や凍結法の改良が必要と思われる。また、その後の発生率は症例数が少なく有意差はみられないものの、若干融解後の方が高く思われた。凍結、融解によって淘汰がかかり質の良い卵が生じた為とも考えられる。今後 IVM 法の改良を含め、さらなる検討が必要と思われる。

O-74 マウスおよびヒト卵巣組織より採取した未成熟卵細胞の体外成熟実験

兵庫医科大学産婦人科学教室¹⁾ ○濱田ゆかり¹⁾ 長谷川昭子²⁾

兵庫医科大学先端医学研究所発生生殖部門²⁾ 繁田 実^{2,3)} 小森 慎二^{1,2)}

兵庫医科大学分娩新生児部³⁾ 香山 浩二^{1,2,3)}

【目的】現在のところヒトの未熟な配偶子を体外で培養して成熟させることには成功していない。未熟卵細胞の豊富な卵巣組織の一部をガン治療の前に液体窒素に保存し、必要に応じて融解し培養系で卵細胞を成熟させることができれば、大変意義の深いことである。その基礎研究として幼若マウスの卵巣内未熟卵細胞を用い、in vitro における発育と成熟について検討した。またヒト摘出卵巣標本より、正常部位の皮質組織から未熟卵細胞を単離し、体外成熟及び体外受精を試みた。【方法】①12日令 ICR 雌マウス卵巣より未熟卵細胞を単離し、発育培地で培養した。9日後、顆粒膜細胞層でゆるやかに覆われた発育卵細胞を成熟培地に移し、その2日後 GVBD の発生率と M II 期への移行率を算定した。②婦人科手術において摘出されたヒト卵巣標本の一部をインフォームド Consent の下で用い、肉眼で antral follicle の存在が確認できる場合には、注射器で吸引し卵細胞を採取した。残りの組織は細切後マウスと同様に処理した。【成績】①9日間の発育培養により、顆粒膜細胞に緩やかに覆われて浮遊した卵細胞は合計243個であった。これらを成熟培地にて2日間培養した後、顆粒膜細胞をピペッティングにより除去し核相を調べたところ、GV期卵細胞88個 (36.2%) GVBD期卵細胞155個 (63.8%) であった。内、M II 期への移行は59個 (24.3%) の卵細胞に認められた。②ヒト卵巣組織中、antral follicle を2個認めたので未熟卵細胞を採取し、成熟培地にて培養した。これらはいずれもGV期であり顆粒膜細胞の付着があった。2日後、M II 期への移行 (第1極体の放出) を認めたので媒精した。18時間後雌雄2前核の形成と第2極体の放出を認め、翌日2細胞期胚へ分化したがそれ以上の分割は進行しなかった。【結論】マウス幼若卵巣から採取した未熟卵細胞がGVBDを経て培養系でM II 期へ移行することがわかった。ヒトの無刺激卵巣の antral follicle から回収した卵細胞もM II 期へ移行し、受精能及び第1分割能を獲得することが判明した。

O-75

短時間媒精法に関する検討

北里大学医学部産婦人科 ○中村 水緒, 川内 博人, 石川 雅一
藤田 一博, 西島 正博

【目的】体外受精・胚移植 (IVF-ET) では媒精時間は通常 16~18 時間に設定されている。本研究はこの媒精時間の短縮が卵の受精・分割率及び受精卵の形態評価に与える影響を検討することを目的とした。

【方法】対象は平成 11 年 7 月から平成 12 年 6 月までに当科で IVF-ET を施行した 47 例 50 周期で、本研究に対して本人及び配偶者の同意を得た。採取した卵は媒精後 2 時間で観察し、顆粒膜細胞が充分脱落し、放射冠の内層のみが付着した状態のものは精子を含まない新たな培地に移し (S 群)、脱落の不十分なものは通常どうり精子とともに 16~18 時間媒精した (L 群)。媒精精子数等他の培養条件はすべて一定とし、両群とも媒精後 16~18 時間で受精の有無を確認した後さらに培養を続け、44~48 時間後に分割の状態を観察した。受精卵の形態評価は Veek の分類に従い、G I、G II、形態良好胚とした。

【結果】対象の平均年齢は 34.8 歳、採卵数は平均 8.4、媒精時の精子運動率は 67.9%~98.6% (平均 91.5%) であった。平均受精率は L 群 71.1%、S 群 83.55% で両群間に有意な差 ($\chi^2=8.2$, $P=0.004$) を認めた。平均受精率は L 群 80.4%、S 群 85.83% で両群の間に有意差は認めなかった。形態良好胚は L 群で 98/189 (51.9%)、S 群で 84/127 (66.1%) に認め、両群間に有意な差 ($\chi^2=6.4$, $P=0.01$) を認めた。

【結論】媒精時の精子運動率が良好な症例の体外受精においては、顆粒膜細胞の脱落状態が速やかであれば、媒精時間を短縮することにより形態良好胚の出現割合が高まることから、その有用性が示唆された。

O-76 IVF-ET における採卵時卵胞液中 PAPP-A 濃度と卵の質との関係

東京医科大学産婦人科 ○福嶺 紀隆, 鈴木 良知, 北水万里子
中田 敏英, 白田 三郎, 伊東 宏絵
井坂 恵一, 高山 雅臣

【目的】Pregnancy Associated Plasma Protein A (PAPP-A) は、卵巣の顆粒膜細胞より産生分泌される高分子量糖蛋白質であり、Insulin-like Growth Factor Binding Protein-4 (IGFBP-4) と結合することが知られている。一方 PAPP-A が卵胞液中に多量に存在することが知られていることから、今回我々は IVF-ET 時に採取された卵胞液中の PAPP-A 濃度と採取された卵子およびその受精卵の質との関係を検討した。【対象と方法】我々は卵管因子のため IVF-ET が行われた患者 36 名 (26 歳~44 歳) の採卵時卵胞液 ($n=144$) 中の PAPP-A 濃度を Ortho-Clinical Diagnostic 社の Immunoradiometric Assay Kit を用いて測定し、卵胞径・採卵された卵子の成熟度・胚移植時における受精卵の質との関係を検討した。卵巣刺激は long protocol 下に月経周期 5 日目より pure-FSH の投与を行い、最大卵胞径が 18 mm を越えた時点で hCG 10000 単位を筋注し、その 36 時間後に採卵を行った。卵の観察はすべて 1 人の専門技師によりなされた。【成績】卵胞液中 PAPP-A 濃度は卵胞径の増大とともに上昇したが卵胞径が 23mm 以上ではプラトーとなった。採卵時において成熟卵子群 ($n=90$) と未成熟卵子群 ($n=18$) の卵胞液中 PAPP-A 濃度はそれぞれ 2.09 ± 0.50 mg/l および 2.15 ± 0.51 mg/l であり有意な差は観察されなかったが、採卵できなかった卵胞液中の PAPP-A 濃度は 1.46 ± 0.39 mg/l ($n=37$) と有意に低値を示した。受精卵の Grade 1 ($n=35$)、2 ($n=31$)、3 ($n=5$)、4 ($n=10$)、5 ($n=6$) の 5 つの群における採卵時卵胞液中 PAPP-A 濃度はそれぞれ 1.84 ± 0.51 mg/l、 2.17 ± 0.52 mg/l、 3.12 ± 0.49 mg/l、 3.05 ± 0.56 mg/l、 2.68 ± 0.44 mg/l であった。未受精であった群 ($n=20$) の PAPP-A 濃度は 1.96 ± 0.41 mg/l であった。【結論】受精卵の Grade 1 群および Grade 2 群において、採卵時の卵胞液中 PAPP-A 濃度はその他の群より有意に低値を示すことから、PAPP-A が卵胞内において卵子の成熟にかかわる一要因であることが示唆された。

O-77 自然周期における体 impedance (IMP) とホルモン値の推移の検討

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○星合 敏久, 神野 正雄, 佐藤 学
酒井 謙, 岩下 光利, 中村 幸雄

[目的] これまでに我々は、IMP の体外受精における妊孕性評価の有効性を報告してきたが、今回は、卵巢刺激のない自然周期における IMP とホルモン値の推移を検討したので報告する。

[方法] 対象は、体外受精後の凍結胚移植を施行した 15 症例とした。IMP は Bioimpedance 測定装置 (Xitron 4000C: 日本光電) を用いて月経周期 3 日目に測定し、以後 10 日目から胚移植日まで連日測定した。IMP の測定部位は両側手首間とした。また、血清 LH、E₂、P も同時に測定した。そして IMP の推移、血清 LH、E₂、P の推移と排卵日の関連を検討した。日付は、経膈超音波による排卵確認日を 0 日とし、それ以前を -、以後を + と表記した。

[結果] IMP(Ω) は、月経周期 3 日目の 659 ± 25 から月経周期 10 日目 672 ± 24 、-3 日 678 ± 32 と卵胞発育とともに上昇し、その後 -2 日 671 ± 31 、-1 日 659 ± 24 、0 日 634 ± 29 と下降した。そして +1 日 652 ± 29 、+2 日(胚移植日) 661 ± 35 と再上昇した。LH の推移は、-2 日から -1 日に有意に上昇しピークを迎えた。P の推移は、0 日から +2 日にかけて有意に上昇した。E₂ の推移は、月経周期 3 日目から 10 日目、-3 日へと有意に上昇し、さらに -2 日でピークを迎え、その後 +1 日目までは下降し、+2 日に再上昇した。

[結論] 現在、排卵日を推定する方法として基礎体温法が広く用いられているが、排卵後の上昇が緩徐で排卵が不明瞭なこともしばしばである。今回、自然排卵周期において IMP が変化することが示され、その最低点は排卵日であった。IMP は新しい排卵推定法として有用であることが期待される。

O-78 poor responder に対する growth hormone (GH) および macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) 投与の試み

済生会下関総合病院産婦人科 ○高崎 彰久, 田村 博史, 石松 正也
森岡 均

[目的] 近年、poor responder の成因として growth hormone (GH) および macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) の関与が報告されてきている。今回我々は poor responder に対し GH や M-CSF を投与し、その有効性につき検討した。

[対象] 体外受精周期で通常の卵胞刺激法(long 法)で得られる成熟卵数の平均が 3 個以下の症例を poor responder とし、そのうち十分なインフォームドコンセントを行い、同意の得られた 18 例を対象とした。

[方法] 全例に GH releasing factor (GRF) 負荷試験を施行し、GH の超値が 20ng/ml 未満の症例を GH 分泌不全例、20ng/ml 以上の症例を GH 分泌正常例とした。GH 分泌不全例に対しては GH 4 単位を GH 分泌正常例に対しては M-CSF 800 万単位をそれぞれ HMG 開始日より隔日に 4 回投与した。また、GH 分泌不全例で GH 投与で効果の認められない症例に対しては GH と M-CSF を併用した。[結果] 対象の平均年齢は 35.1 才で GRF 負荷試験前の平均採卵周期数は 3.7 回、平均採卵数および平均成熟卵数はそれぞれ 2.9 個、1.7 個だった。GH 分泌不全例は 11 例でそのうち 5 例 (45%) で採卵数もしくは成熟卵数の増加を認め、効果が認められた 5 例中 4 例は GH 投与周期の 1 から 2 周期目で妊娠に至った。また、GH 投与無効例 6 例に対し、GH と M-CSF を併用したところ 6 例中 2 例で成熟卵数の増加を認め、それぞれ GH+M-CSF 投与周期の 1 回目、3 回目に妊娠に至った。一方、GH 分泌正常例 7 例に対し、M-CSF を投与したところ 7 例中 1 例で成熟卵数の増加を認め、その症例は M-CSF 投与 1 周期目に妊娠に至った。[結語] poor responder に対し GH や M-CSF の投与を行ったところ 18 例中 8 例 (44%) で何らかの効果が認められ、そのうち 7 例 (39%) が妊娠に至った。GH および M-CSF は poor responder に対し有効な治療法であると考えられた。しかしながら、18 例中 10 例 (56%) は GH および M-CSF 投与に対しても抵抗し、今後の検討が必要であると思われた。

O-79

排卵前後の自律神経系活動の変化

浜松医科大学産婦人科学教室 ○松山 薫, 高田佳世子, 松浦 俊樹
鈴木 留美, 北村 公也, 後藤 淳子
西口 富三, 金山 尚裕

無排卵症は中枢神経系や自律神経系が関与していることは知られている。しかし排卵前後の自律神経系活動の変化を観察した報告はほとんどない。今回サーモグラフィーを用いて成人女性の性周期と自律神経機能の関係について検討したので報告する。十分なインフォームドコンセントを得た本学看護学科の学生(3年、4年生)21人に基礎体温を最低1周期以上記録してもらった。測定は室温24℃の部屋で10分間座位の状態で、環境温度に十分適応した後に行った。寒冷刺激を両足底部に加え、寒冷刺激前後の頸部における体表温度変化をサーモグラフィーにより測定し、性周期との関係を検討した。寒冷刺激装置は、日本ブローア社製:SL16を用い、足底部に12℃の寒冷刺激を10分間加えた。頸部の温度変化は、日本アビオ社製サーモグラフィー:TVS-2000MK2を用いて測定した。明らかに二相性を認めた被験者においては、卵胞期では寒冷刺激による温度上昇が抑制された。黄体期での寒冷刺激では、頸部の温度上昇を認めた。排卵期においては、卵胞期と同様の傾向を認めた。黄体期は卵胞期に比較し寒冷刺激の反応性が鋭敏であることが考えられた。寒冷刺激によるサーモグラフィーの変化は新しい卵巣機能の評価法になると考えられた。

O-80

ピエゾマイクロマニプレーターで単離した4細胞期胚の
単一割球によるマウス性別診断

兵庫医科大学先端医学研究所発生生殖部門¹⁾ ○長谷川昭子¹⁾, 澤井 英明¹⁾, 濱田ゆかり²⁾
兵庫医科大学産婦人科学教室²⁾ 香山 浩二^{1,2)}

【目的】着床前初期胚の割球を用いた遺伝子診断は、重症遺伝性疾患の診断法として欧米ではすでに臨床応用されている。本診断法では、胚移植前の限られた時間で迅速かつ正確に結果を出す必要があるため、単一割球単離操作の簡便化と時間の短縮は不可欠である。本研究ではピエゾマニプレーターを応用した方法を開発し、この方法で単離した割球をPCRにより増幅して性別診断を行い、残りの割球から由来した胎仔の性と比較した。【方法】BDF1マウスメス4週齢に過剰排卵処理し、同系オスと交配して2日後、卵管より4細胞期胚を採取した。割球の単離はsucroseによる高張溶液中で割球を収縮させた後、自作のフック付き吸引ピペットを用いて行った。まず、フック部分を透明帯に接着してピエゾパルスをかけることにより透明帯を穿孔し、ピペットを卵胞腔内に深く挿入した後、ゆっくり一個の割球を吸引した。PCRはY染色体特異プライマー2種(SRY, ZFY)とX染色体特異プライマー1種(NDS)を混合したMultiplex PCRをNested PCRで行った。オスと診断した胚とメスと診断した胚を別々の偽妊娠マウスに移植し、17日後に、解剖して胎仔の性を卵巣と精巣の有無により判定した。

【成績】ピエゾマニプレーターを応用した割球単離法では、迅速かつ効果的に単一割球を単離することができた。6回の性別診断における診断率は平均87%であった。3割球からなる胚は高率に桑実胚から胞胚へと分化した。一部の胚を偽妊娠マウスに移植したところ、オスと診断された胚由来の胎仔はすべてオスであった。メスと診断された胚由来の胎仔は、11胎のうち10胎はメスであったが、1胎はオスであった。【結論】迅速性を必要とする着床前診断において、1本のピペットで割球が取り出せる本方法は非常に有効であった。この方法により単離した単一割球から、PCR法によりXY染色体に特異的なDNA配列が高率に増幅され、着床前遺伝子診断が可能であることが示された。また、メスと診断された胚の中に低率ながらオスが含まれる危険性があることが判明した。

O-81 重複型DMDに対する出生前遺伝子診断法の開発

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○松田 紀子, 末岡 浩, 谷垣 礼子
土屋 慎一, 浅田 弘法, 小澤 伸晃
久慈 直昭, 吉村 泰典

【目的】Duchenne型筋ジストロフィー (DMD) は重篤な伴性劣性遺伝性疾患のひとつとして各遺伝病型に対する診断法が検討されている。欠失型に続き高い発生頻度が報告されている重複型においては、これまで主にサザンブロット法が診断に用いられており、羊水細胞等の比較的少量に限られたDNAの場合の遺伝子診断が困難と考えられてきた。そこで、PCRによるDNA増幅を用いて羊水細胞レベルのDNA量において重複型DMDを診断する新たな方法の開発を試みた。【方法】対象はエクソン5～9の重複型DMD患者の家系であり、インフォームドコンセントを得たうえで家系内保因者女性より血液を採取し、すでに他界している弟の血液からのDNAとともに検体とした。1) エクソン8とエクソン45 (コントロール) に対するプライマーを用いて14サイクルよりPCRサイクル数を適宜増加させ、この産物をGene Scan (ABI PRISM 310) により定量した。増幅産物の量をピークの強度として検出し、定量性の維持される条件を検討した。2) 患者、保因者、正常男女のコントロールのDNAより100ng, 10ng, 1ng, 100pgの希釈系列を作成し、エクソン8と45に対するMultiplex PCRにより増幅した。エクソン8とコントロールとなるエクソン45におけるピーク強度のパターン分析を行った。【成績】1) エクソン8と45に対するPCRにおいては、それぞれ17～20サイクルでは増幅前の定量性が維持された。2) Gene Scanによるピーク強度のパターンからは、10ngのDNAまで患者、保因者の識別が可能であった。【結論】Multiplex PCRとGene Scanを用いることにより、羊水細胞レベルのDNA量においては重複型DMDの出生前診断が十分可能であると考えられた。

O-82 着床前遺伝子診断における高精度DNA抽出法 (Spanning protocol) の開発と遺伝子診断情報の拡大

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○土屋 慎一, 末岡 浩, 松田 紀子
谷垣 礼子, 田中 宏明, 浅田 弘法
小澤 伸晃, 久慈 直昭, 吉村 泰典

【目的】着床前遺伝子診断 (PGD) において、単一細胞からの疾患遺伝子診断の困難性が従来より指摘されている。DNA抽出不良がその一因として考えられており、各国において様々な方法が試みられてはいるが、しかし未だ完成した方法は無い。我々は、簡潔で、しかも効率の良いDNA抽出法 (Spanning protocol) を開発したので、従来のDNA抽出法と比較検討し、その有用性を報告する。【方法】インフォームドコンセントを得た上で体外受精余剰胚 (割球・極体)、リンパ球を検討に供した。第一に割球・極体・リンパ球に対して、各々のDNA抽出法 (Water method, Freezing and boiling method, Two-step lysis protocol, Spanning protocol) を用いて、Duchenne型筋ジストロフィー (DMD) 欠失型を対象とし、dystrophin 遺伝子のExon 44 と45に対するMultiplex nested PCRを施行、DNA増幅効率・診断効率を比較検討した。第二に他病型に対する検討としてDMD点変異型を対象とし、Multiplex nested PCR - Sequencerによる効率を比較検討した。第三に他疾患への応用として、Menkes病 (欠失型)・Lowe症候群 (点変異型) についても同様に比較検討した。【結果】増幅効率は、Water methodは50%、Freezing and boiling methodは35%、Two-step lysis protocolは85%であったのに対し、Spanning protocolは90%の高い増幅効率を示し、全種の細胞において有効であった。偽陰性もTwo-step lysis protocolが10%であるのに対しSpanning protocolは2.5%と低い値を示した。Menkes病欠失診断、Lowe症候群点変異診断も同様にSpanning protocolで最も高効率であった。【結論】我々が開発したSpanning protocolは従来のDNA抽出法に比べ、操作手技が簡単であることからcontamination等の診断ミスの危険を回避できるのみならず、高い増幅効率を示し、PGDのDNA抽出法として極めて有用であると思われる。本法で効率良くDNAを抽出することにより、欠失診断だけでなく点変異診断にも応用可能であり、またMenkes病・Lowe症候群等の他疾患に対しても有効で、単一細胞からの疾患遺伝子の診断情報拡大の可能性が示唆された。

O-83 3D-CTを用いた子宮卵管造影の不妊症診断への有用性の検討

三重大学医学部産科婦人科学 ○田中 慶介, 与那覇 齊, 西浦 理佳
鈴鹿厚生総合病院不妊センター* 野田 直美, 竹内 茂人, 箕浦 博之
磯部 哲也, 田窪伸一郎, 豊田 長康

(目的) 我々は3D-CTを用いた子宮卵管造影の不妊症診断への有用性について検討した。

(対象・方法) 対象は年齢29～32才の女性6例で、うち不妊症5例、卵管水腫3例、子宮内膜症性1例、右卵管周囲癒着1例、子宮内膜腫瘍1例である。方法は、GE社製Hi speed advantage QX/Iを使用し、造影剤を注入した。造影時間は一回11.5秒でearly phaseおよびdelayed phaseの2相を撮影した。これから得られた横断像から、三次元HSG像およびvirtual endoscopy像を作製し、子宮卵管描出能および腹腔内癒着の評価ならびに子宮内腔描出能を従来の検査法と比較、検討した。

(結果) 子宮卵管描出能をHSGと比較した結果、全例で卵管の走向の確認が可能であった。12卵管中11卵管の卵管峡部の確認は不可能であった。可能であった1例は卵管膨大部で閉塞があり、峡部が拡張していた。また全例で子宮内腔の観察、卵管角の同定が可能であった。腹腔内癒着の評価を本法による三次元HSG像と腹腔鏡とを比較した結果としては両者の所見はよく一致した。子宮内腔描出能を子宮鏡と比較した結果virtual endoscopy像で子宮内腔は良好に描出されたが、観察視角の違いにより子宮鏡での卵管角の所見とはやや異なっていた。

(結論) 3D-CTは子宮、卵管を含めた広範囲を一回の息止めで撮影することができHSGと比較して子宮内腔、卵管および周囲の癒着の詳細な評価がより小さい侵襲でおこなえることで有用であると考えられた。今後、造影剤注入速度や画像解析条件の最適化、また被曝線量がHSGより多く、これらに関してさらなる検討が必要であると考えられた。

O-84 サーモグラフィーを用いた不妊症患者の自律神経機能に関する研究

浜松医科大学産婦人科学教室 ○北村 公也, 高田佳世子, 松浦 俊樹
鈴木 留美, 松山 薫, 後藤 淳子
西口 富三, 金山 尚裕

内分泌系と自律神経系は密接に連動している。しかし、排卵および着床現象において内分泌系の研究に比べて自律神経系の研究は少ない。今回、自律神経系の検査の一つであるサーモグラフィーを用いて不妊症患者の自律神経機能を検討した。当大学看護学科の学生に基礎体温を最低一周期以上記録してもらい、基礎体温が二相性を示した11人をコントロール群として、インフォームドコンセントを得て頸部の体温と右手の指先の体温をサーモグラフィーにより測定した。同様に、当院不妊外来を受診した不妊症患者7人に対して、インフォームドコンセントのもと不妊治療開始前、無治療の状態と同様に頸部の体温と右手の指先の体温を測定した。測定は室温22℃～25℃の部屋で10分間座位の状態、環境温度に十分適応した後に行った。測定は、日本アビオ社製サーモグラフィー：TVS-2000MK2を用いた。以前の我々の検討から頸部の体温と右手指先の体温の差を自律神経機能の指標とした。頸部の体温－右手指先の体温の値は、不妊症患者群では $3.45 \pm 1.85^{\circ}\text{C}$ 、コントロール群では $1.66 \pm 1.30^{\circ}\text{C}$ と不妊症患者群で有意に高値を示した($P=0.03$)。不妊症患者は頸部の体温－右手指先の体温の値が大きく自律神経系の異常が示唆された。サーモグラフィーを用いた体幹体温(頸部の体温)と末梢体温(右手指先の体温)の測定は不妊症の病態を知るうえで新しい補助診断になる可能性があると思われた。

O-85 Failed AIH 症例に対する受精テストとしての体外受精の有用性とその後の対応

ミオ・ファティリティ・クリニック ○岩浅ゆき穂, 加藤由加里, 源治 由美
波田地由深, 錦織 恭子, 見尾 保幸

【目的】配偶者間人工授精(AIH)は男性不妊(軽度～中等度)に対する有効な治療法であるが、反復施行により妊娠に至らない場合、速やかに第二選択の治療法として体外受精(IVF)や顕微授精(ICS)に移行する傾向がある。そこで今回、AIHを反復施行しても妊娠に至らないfailed AIH症例に対する受精テストとしてのIVFの有用性とその後の至適対応策について検討したので報告する。

【方法】平成5年11月より平成11年12月までの間に、男性不妊のため当院にてAIHを5回以上施行しても妊娠に至らず、受精テストとしてIVFを施行した61症例を対象とした。これらの症例のうち、IVFにより受精卵が得られ妊娠に至った5症例を除く44症例はその後再びAIHの適応とし、半年間経過観察を行った。また、IVFで受精卵が得られず受精障害と診断された12症例はICSの適応とした。

【成績】IVFで受精が確認された44症例のうち21症例がその後AIHで妊娠に至り、妊娠率は47.7%(21/44)であった。また、受精障害と診断された12症例のうち8症例がその後ICSで妊娠に至り、妊娠率は66.7%(8/12)であった。

【結論】男性不妊(軽度～中等度)に対する受精テストとしてのIVFは受精の有無を明瞭に判定できることから、受精が確認できればその後はAIHで十分に妊娠が可能であり、また、受精障害ではICSで高い妊娠率が期待できることが示めされた。したがって、failed AIH症例に対する受精テストとしてのIVFは、その後の対応策を決定する上で極めて重要な意義を有しているが、受精障害のない症例に対するAIHの有用性も再認識された。

O-86 ICSI症例における受精卵の形態と妊娠成否の関連についての検討

内田クリニック ○安藤 幸, 村尾 明美, 内田 昭弘

＜目的＞受精卵の形態による Grade 分類と妊娠率との関係、移植胚数の検討などの報告がある。今回卵細胞質内精子注入法(ICSI)症例における受精卵の形態と妊娠成否の関連についての検討を目的とした。

＜対象及び方法＞当院において ICSI を施行した 59 例 87 周期を対象とした。平均年齢 33.8 歳、適応は男性因子 38 例、受精障害 18 例、原因不明 8 例(重複あり)であった。対象を妊娠群(P 群 27 例 35 周期)、非妊娠群(N 群 32 例 52 周期)に分類し、ICSI 症例における妊娠成否について受精卵の形態との関連を retrospective に検討した。なお、受精卵の形態分類については、Veeck 分類を改変したものをを用いた。

＜結果＞(1) 周期あたりの受精率においては両群間で有意な差は認められなかった。(2) P 群の総受精卵数に占める最良好胚(G1～G2A)の割合は 27.3%で、N 群の 27.7%に比較して有意な差は認められなかったが、良好胚(G1～G3A)の割合は P 群 71.6%で N 群 54.7%に比較して有意な高率が認められた。(3) 移植胚に良好胚(G1～G3A)を 2 個以上含む場合、妊娠は 18 周期(32.7%)で成立し、移植胚に良好胚(G1～G3A)を 1 個含む場合の 2 周期(10.5%)に比較して有意な高率が認められた。

＜結論＞ICSI を施行することで非妊娠群においても妊娠群と同等な受精率及び最良好胚率が認められたが、良好胚率の増加は認められなかった。したがって、受精卵の良好、不良については、症例ごとに一定の傾向の存在が示唆された。また、受精卵の形態分類において、良好胚を 2 個以上移植することにより、妊娠成立の可能性が高まることが示唆された。

O-87 Conventional IVF において受精卵の得られない症例に対して施行した ICSI の臨床成績の検討

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○小笠原綾子, 末永 昭彦, 藤原 敏博
 東京大学医学部附属病院分院産科婦人科* 大須賀 稯, 矢野 哲, 堤 治*
 武谷 雄二

【目的】正常な精液所見にもかかわらず Conventional IVF において受精卵の得られない症例に対し、ICSI は有効な手段である。今回我々は、このような受精障害症例に対して施行した ICSI と精液所見不良のために施行した ICSI とを比較、臨床成績について検討したので報告する。【方法】1999 年 1 月から 12 月に行った ICSI 症例のうち、受精障害のため ICSI の適応になった 14 症例 17 周期(A 群: IVF 回数 4.6 ± 2.5 回 妻 36.4 ± 4.2 歳)と、乏精子症又は精子無力症のため ICSI の適応になった 22 症例 26 周期(B 群: IVF 回数 2.7 ± 1.6 回 妻 34.7 ± 4.5 歳)とを比較検討した。【成績】A 群、B 群における平均採卵数は 9.4 ± 6.6 個、 10.3 ± 5.6 個、ICSI 施行可能な成熟卵の割合は 76.9%(123/160), 94.0%(252/268)、受精率は 82.9%(102/123), 73.0%(184/252)、分割率は 91.2%(93/102), 91.8%(169/184)だった。胚移植率は 88.2%(15/17), B 群 92.3%(24/26)、平均移植胚数は 2.7 ± 0.6 個、 2.9 ± 0.5 個、移植胚中に占める Veeck G1 の割合は 46.3%(19/41), 41.4%(29/70)、胚移植時の平均子宮内膜厚は 12.1 ± 2.1 mm, 12.5 ± 2.1 mm だった。採卵周期あたりの妊娠率は 17.6%(3/17), 26.9%(7/26)、胚移植周期あたりの妊娠率は 20%(3/15), 29.2%(7/24)、着床率は 9.8%(4/41), 12.9%(9/70)だった。【結論】受精障害症例に施行した ICSI の成績は、重症男性不妊症例に施行した ICSI と比較して卵成熟率が有意に低く、受精率が有意に高く、妊娠率が低かった。この結果から、受精障害症例において卵側の因子も影響している可能性が示唆された。また、ICSI の導入により、受精・分割に関して良好な精子を選択出来たと思われるが、胚移植後の胚発育に関わる精子側の因子や女性側の着床能に何らかの問題が存在する可能性が示唆された。

O-88 Long Protocol における卵胞刺激開始時期の遅延は IVF の妊娠率、着床率を改善する

獨協医科大学産科婦人科学教室 ○三ツ矢和弘, 正岡 薫, 根本 央
 中野 貴史, 星野 恵子, 稲葉 憲之

【目的】IVF で繁用されている GnRH agonist(GnRHa)を用いた long protocol では、FSH/hMG の適切な開始時期についても未だに明確ではなく、GnRHa の長期使用が卵巣の反応性や IVF の成績に及ぼす影響についても不明な点が多い。今回、この点を我々の行っている固定日採卵法において後視的に検討した。【方法】'94 年 1 月～'99 年 12 月に long protocol 下に実施した IVF (患者 408 名、565 刺激周期)を対象とした。我々の固定日採卵法のスケジュールに従い、long protocol 下に待機中の患者の中から GnRHa を開始した順に毎週 4～6 名を選び出し卵胞刺激を開始した。FSH/hMG 開始日を day2-7(I 群), day8-14(II 群), day15-21(III 群), day22-28(IV 群), day29-35(V 群), day36-42(VI 群)に分けて検討した。【成績】①刺激周期数は I 群 105, II 群 171, III 群 125, IV 群 85, V 群 53, VI 群 26 であり、採卵率は各群とも 96%以上と良好であった。②各群の年齢に有意差はなく、採卵数、受精率も差がなかった。③FSH/hMG 投与日数、総投与量、hCG 切り替え日の血中 E2 値、子宮内膜厚は 6 群間で有意差がなかった。④臨床妊娠率(%)は刺激周期あたり I 群 39.0, II 群 46.8, III 群 52.8, IV 群 54.1, V 群 54.7, VI 群 57.7 で I 群が II～V 群に比べ有意に低かった。着床率も I 群 15.2, II 群 22.7, III 群 23.7, IV 群 24.6, V 群 24.0, VI 群 38.2 で I 群が他群に比し有意に低く、VI 群が最も高かった。⑤最良胚(Veeck の grade1)の発生数、grade1 胚の移植周期率は 6 群間に有意差はなかったが、grade1 胚の着床率は I 群が II～VI 群に比べ有意に低かった。⑥開始日と妊娠率($r=0.443, p=0.0038$), 開始日と着床率($r=0.463, p=0.0023$)の間に正の相関がみられた。【結論】long protocol では卵胞刺激の開始日を遅らせても(GnRHa を長期間投与しても)卵巣の反応性や IVF の成績に悪影響はなく、むしろ妊娠率、着床率は向上した。この効果は胚の質の改善ではなく、着床環境の改善によることが示唆された。

O-89 子宮内膜症治療が体外受精に及ぼす影響についての検討

杉山レディースクリニック¹⁾ ○杉山 カー¹⁾ 小嶋 清²⁾ 杉山 四郎¹⁾
医療法人小嶋医院²⁾ 白井安砂子¹⁾ 金城 洋²⁾ 高山 雅臣³⁾
東京医科大学産科婦人科³⁾

＜はじめに＞子宮内膜症を有する患者に体外受精を行う場合、GnRHアナログ治療や腹腔鏡下手術併用の有効性については多くの報告がみられるが、その見解はいまだ一致していない。そこで今回我々は、Beecham分類1度または2度の軽度子宮内膜症を有する患者で、過去に数回体外受精を施行したが妊娠に至っていない30症例に対して以下に示した各種治療を行い、治療終了後6ヶ月以内に再度体外受精を施行し、これら治療の有効性の是非について検討した。

＜症例・方法＞過去1回～8回のIVFで妊娠に至らなかった30症例に対して、各種GnRHアナログ治療（酢酸リュープロレリン1.88を4例、酢酸リュープロレリン3.75を5例、酢酸ブセレリンを13例、酢酸ナファレリン点鼻を5例の合計27例）および腹腔鏡手術（腫瘍核出術・癒着剥離術）3例を施行した。治療後に再度体外受精を行い、hMG総使用量、ET7日目の子宮内膜所見、採卵数、採卵時卵子Grade、受精率、分割率、受精卵Grade、妊娠率について治療前後で比較検討した。

＜結果＞治療後に施行した1回目の体外受精において30例中16例（53.3%）で妊娠が成立した。また、子宮内膜厚（13mm→15mm）、採卵数（8.4個→9.9個）、受精率（40.7%→71.7%）、分割率（34.1%→56.7%）および採卵時の卵子Gradeは治療後いづれも有意に改善した。

＜考察＞症例数が少く結論には至っていないが、子宮内膜症に対する各種治療は、体外受精を行う際に併用することが有効である可能性が示唆された。要因として、治療後には採卵の操作性が向上したことで採卵数が増加し、相対的に多くの良好卵子が得られたためであると推測される。また、胚移植操作もスムーズになったことが妊娠率向上に寄与した可能性も考えられる。

O-90 体外受精・胚移植における子宮動脈血流異常症例に対する低用量アスピリンの有用性に関する検討

新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○菅谷 進、鈴木 美奈、永田 裕子
小島 由美、藤田 和之、倉林 工
田中 憲一

【目的】体外受精・胚移植における子宮側のreceptivityの指標として超音波ドブラ法を用いた子宮動脈血流測定的重要性が指摘され、子宮動脈のpulsatility index(PI) ≥ 3.0 の症例では有意に着床率の低下が見られることが報告されている。一方、低用量アスピリンは血液粘度を低下させ、血流を改善させる作用のあることが知られている。今回我々は体外受精・胚移植時に子宮動脈血流異常の認められた症例に対し、再治療周期に低用量アスピリンを投与しその有用性について検討を行った。【方法】平成10年6月より平成11年5月までの間に当科において体外受精・胚移植を行った症例のうち胚移植時の子宮動脈PIが3.0以上であった18症例(Conventional IVF 11例, ICSI 7例)を対象とした。対象患者に再治療周期の月経2日目より低用量アスピリン81mgを連日投与し、採卵数、受精数、移植胚数、cumulative embryo score(CES)、子宮内膜厚、子宮動脈PIについてアスピリン投与前周期と比較検討した。なお、子宮動脈血流計測は、胚移植施行直前に経陰超音波装置(aloka SSD-2000)を用いて、カラードブラで子宮動脈上行枝の血流波形を描出しPIを算出、左右子宮動脈の平均値を解析に用いた。【結果】低用量アスピリン投与前と投与後において採卵数(6.3 ± 3.9 vs 6.6 ± 1.9)、受精数(3.8 ± 2.0 vs 3.7 ± 1.9)、移植胚数(2.6 ± 0.7 vs 2.6 ± 0.8)、CES(26.3 ± 21.7 vs 27.8 ± 9.4)、子宮内膜厚(11.1 ± 4.1 mm vs 11.0 ± 3.1 mm)に差は認められなかった。子宮動脈血流は投与前PI 3.11 ± 1.2 、投与後PI 2.56 ± 0.9 であり低用量アスピリン投与により有意に子宮動脈血流PIの低下が認められた($P < 0.05$)。18症例中2例に妊娠が成立した。【結論】低用量アスピリンは子宮動脈血流の改善に有用である可能性が示唆された。しかし、妊娠率は高率ではなく、妊娠率の上昇には結びつかなかった。

O-91 Blastocyst stage における凍結融解胚移植の臨床成績

生長会府中病院不妊センター ○原田真木子, 半田 雅文, 唐澤 康広
島田 知代, 浜井 晴喜, 加藤 浩志
小林真一郎, 磯島 晋三

【目的】体外受精胚移植において、従来胚を採卵後 2~3 日間培養し、4~8 分割胚を 3 ヶまで移植するのが主流であったが、さらなる追加培養を可能とする培養液の登場により、効率よく胚盤胞にまで培養することが可能となった。胚盤胞の移植は従来の分割卵の移植と比較した場合、より viability が高く着床する可能性が高いと判断される胚を選別することができるため、妊娠率を低下させることなく移植胚数を 2 ヶに限定することが出来る。このことは多胎、ことに品胎の予防には重要な要素となる。しかしながら、胚の選別の問題があるいは着床環境の問題かにより、fresh cycle に良好と思われる胚盤胞を移植しても妊娠に至らない場合や、また fresh cycle で妊娠するも流産に終わる場合もあり、余剰の胚盤胞を凍結保存しておくことは、患者が新たに採卵から治療を開始するという負担を軽減する意味で非常に重要となる。今回、余剰の胚盤胞を凍結保存後胚移植に至った症例につき検討したので報告する。【方法】平成 11 年 2 月から平成 12 年 6 月の間に当センターに於いて施行した IVF および ICSI の治療周期のうち、day5~6 において余剰の cavitating morula あるいは blastocyst を凍結保存し、その後融解するに至った 21 症例を対象に検討を行った。患者の平均年齢は 31.6 歳、平均採卵個数は 13.6 個、平均凍結個数は 4.0 個であった。胚盤胞の凍結方法は Menezo らの方法に従い、凍結、融解とも 2 段階で緩慢冷却法で行った。基液には B 2 を、耐凍剤にはグリセロールを用い、program freezer には Planer 社 Cryol0-II を使用した。【結果】21 症例のうち融解した時点で透明帯の破損等により胚移植を断念した 5 例を除き 16 例に対し平均 2.3 個の融解胚盤胞を移植した。そのうち妊娠に至ったのは 6 例で移植あたりの妊娠率は 37.5%であった。継続妊娠は 2 例、流産は 3 例、1 例は現時点で未判別となっている。【考察】前述の方法により胚盤胞を凍結保存し、その後融解胚移植することにより妊娠成立を経験したことから、今後とも胚盤胞の移植個数を 2 個に制限することに対し確信を得た。

O-92 EFS液を用いたガラス化法による胚の凍結保存の臨床応用の検討

聖隷浜松病院H・ARTユニット ○大塚 仁世, 佐藤 和文, 西垣 新
岡田 久, 渋谷 伸一

【目的】ガラス化法による胚の凍結保存が一部の施設で実用化され、妊娠例の報告がされている。当院でも臨床応用すべく、Mukaida らが 1998 年に発表した EFS (EthyleneGlycol, Ficoll70, Sucrose) 液を用いた方法を検討した。

【方法】IVF-E 後の余剰胚 (2 細胞期胚~桑実胚) を患者の同意を得て使用した。凍結は、エチレングリコールの濃度を二段階 (20%と 40%) にして作用させる二段階法で行った。液体窒素中で一ヶ月ほど保存した後融解し、胚齢七日目まで培養した。

【結果】これまでに 13 個の分割胚を凍結融解した。その結果融解直後生存していたものは 7 個 (生存率 54%)、培養の結果プラストシストへ発育したものは 4 個 (発育率 31%) であった。

【考察】当院ではこれまで、分割胚も前核期胚と同様プログラムフリーザーを用いた緩慢法で凍結保存していたがその生存率は約 20%と非常に低い。今回の検討では 54%と満足できる数字ではないものの、緩慢法に比べて有意に高い結果が得られた。また、緩慢法では媒液の準備からプログラムが終了するまで約 3 時間かかり、ランニングコストも高い。一方ガラス化法では予め媒液を作っておいて小分けして冷蔵保存できるので、要する時間は媒液を室温に戻す時間を入れても 30 分程度である。しかもプログラムフリーザーを必要としない。以上のことから、今後さらに個数を増やして検討する必要があるが現時点では、ガラス化法は分割胚を凍結保存するのに最適な方法であると思われる。

O-93

採卵時卵胞洗浄の必要性の検討
(卵胞無洗浄採卵における卵子回収率の解析より)加藤レディースクリニック ○奥野 隆, 小林 保, 山下 直樹
貝嶋 弘恒, 寺元 章吉, 加藤 修

【目的】卵胞洗浄は採卵における卵子回収率を上昇させると信じられているが、個々の卵胞について穿刺・回収し卵子の回収率・局在を検討した報告はない。今回我々は個々の卵胞の無洗浄吸引による卵子回収率を解し、卵胞洗浄の必要性を検討した。(方法) '99年10月より'00年3月の期間に実施した個別卵胞穿刺が可能であった350周期を対象に後方視野の解析を行った。過排卵処置: Day3よりClomifene citrate 50mg/dをHCG投与前日まで継続し、Day8より隔日にHMG150IUを $E2 > 300 \text{ pg/ml}$ /follicleになるまで投与した。採卵: HCG10000IUまたはBuserelin acetate $300 \mu\text{g}$ 投与36時間後に、経膈超音波誘導下に北里メディカルサブライ製19G針(接続チューブを含む内容積0.75ml)を使用し、吸引圧350mmHgで実施した。回収法: 1卵胞ずつ穿刺・吸引のみを行い卵子の存在を確認した。特に55周期100個の回収卵子については、スピッツ内吸引液と針・チューブ内残液とに分けて回収し卵子の局在を確認した。(結果) 成熟卵胞(径16~22mm)の卵子回収率は34歳以下群82周期で90%(158/176)、35~39歳群137周期で85%(209/246)、40歳以上群131周期で82%(151/184)であった。局在を検討した回収100卵子のうち36卵子がスピッツ内に存在し、残りの64卵子は針・チューブの死腔内に存在した。(考察) 回収不可能な不良卵や空卵胞の存在を考慮すれば、特に若年者における回収率が90%に達した今回の結果は、穿刺・吸引のみにより良好成熟卵子が回収可能であることを示唆する。また、回収卵子の64%が針・チューブ死腔内に存在する以上、スピッツ内卵子の有無で卵胞洗浄の実施を決定することは困難であり、卵子を針・チューブおよび卵胞内で往復運動させるだけの操作に終わる可能性が高く、この傾向は内容積の大きい17G針において一層強まる。以上の考察に加えて、卵胞洗浄は卵胞内感染・膿瘍形成の原因となり、患者の苦痛を増す採卵時間の延長につながることを考慮すれば、その必要性は低いと考えられた。

O-94

ヒト卵子および胚のガラス化保存

加藤レディースクリニック ○桑山 正成, 加藤 修

【目的】ヒト未受精(成熟)卵子、前核期胚および胚盤胞の有効なガラス化保存法の確立のためMVC法(minimum volume cooling; 最少容量冷却法)の検討を行った。

【材料と方法】インフォームドコンセントの得られた患者から提供された未受精卵子、前核期胚(2前核期、1細胞期)および胚盤胞をガラス化保存試験に用いた。

ガラス化保存法: 卵子および胚のガラス化保存は前報を一部修正して行った。すなわち卵子(胚)を室温下の平衡液で5-15分間平衡後ガラス化液へ投入し、細胞外溶液を置換後先端を細く加工したストローあるいはクライオトップ(北里サブライ)へ貼り付け、直ちに滅菌した液体窒素中へ直接投入して急速冷却、保存した。融解は37°Cの融解液中へ直接卵子を導入する急速加温法にて行い、希釈、洗浄後、4時間の回復培養を行った。ガラス化液は40% ethylene glycol (EG) + 1M Sucrose (S), 30% EG + 0.5M S および 15% EG 15% DMSO + 0.5M Sを比較した。融解後試料からの凍結保護物質の希釈処理は1step(0.5M S) および 2steps法(1/0.5M S)を比較した。また前核期胚では雌雄両前核の融合前後における耐凍性を比較した。ガラス化保存-融解後の卵子(胚)はICSI/IVC(P1-G2.2 system, 5% O_2 , 5% CO_2 , 90% N_2 , 37°C)後、それぞれin vitroでの発生を形態学的に観察して生存性の判定を行った。

【結果】EG30 および EG/DMSO添加区においてガラス化保存後の未受精卵子の高い生存率(86 および 92%, $n=48$) が得られた。前核期胚では両前核融合前後期にかかわらず高い生存率(92, 100 vs 82%; 緩慢凍結法) が得られ、また胚盤胞でも EG/DMSO添加区において最も高い生存率(97%, 29/30) が得られた。

【結論】以上の結果より、15% EG 15% DMSO および 0.5M S のガラス化液を用い2step法で希釈を行うMVC法は、検討した卵子、前核期胚および胚盤胞全ての胚を高率に凍結保存できることが示された。

O-95 Prophase卵を Metaphase-II まで培養した卵の凍結融解後の受精能・胚発生能

立川綜合病院産婦人科 ○星野 明生, 平沢 浩文, 小林 弘子
荒川 正人

立川綜合病院不妊センター 水沢 直人, 小玉真由美, 服部 和裕

【目的】 ICSI の際の余剰の未熟卵を全て利用するため、得られた Prophase の卵を凍結融解後 Metaphase-II (以下 M-II) まで培養し ICSI を行って、M-II までの発生率、受精率、分割率、胞胚形成率をみたが、受精率、分割率は良好であったが、M-II 発生率が不十分で胞胚に至るものがなかった。そこで今度は Prophase の卵を直ちに凍結しないで M-II まで培養した後に、凍結、融解後 ICSI を行い、卵の受精能、胚発生能を検討した。

【対象】平成12年2月から3月までのインフォームドコンセントの得られた症例で、ICSI 時の余剰卵で Prophase であり、培養後 M-II まで至った卵 47 個である。

【方法】 Prophase 卵を用いて 10% 血清加 HTF で培養し、M-II となった時点でプログラムフリーザーを用いて緩慢凍結で行い融解は急速法で行った。精子は ICSI の際の余剰のものを用いて行った。

【成績】融解後の卵の生存率は 63.8% (30/47)、ICSI の受精率は 55.2% (16/29)、分割率は 93.8% (15/16)、胞胚形成率は 0% (0/15) であった。

【考察】 ICSI の際に出る余剰の Prophase の卵を利用するために、まず Prophase 卵を凍結融解後 M-II まで培養し、ICSI を試みたが十分に満足する成績は得られなかった。そこで今度は Prophase の卵を M-II まで培養し、凍結融解後 ICSI を行ってみたが、受精率、分割率共に大差なく、又胞胚形成にも至らなかった。このことから、余剰に出た Prophase 卵を直ちに凍結しても、又培養し M-II になった時点で凍結しこれを利用して ICSI を行ったとしても現段階では十分な成績を得られないことがわかった。

O-96 桑実胚／胚盤胞移植の臨床的検討

弘前大学医学部産科婦人科 ○福井 淳史, 葛西剛一郎, 木村 秀崇
樋口 毅, 藤井 俊策, 齊藤 良治

【目的】体外受精・胚移植 (IVF-ET) においては、2～3日目移植が一般的であるが、近年、着床率改善の試みとして、5～6日目に胚移植を行う胚盤胞移植が行われるようになり、良好な成績が報告されている。そこで、当科で 4～6日目に施行した桑実胚／胚盤胞移植について、その転帰などにつき検討した。

【方法】1998年4月から2000年3月に当科にて顕微授精を含む IVF-ET を施行した 664 周期のうち、4日目 (桑実胚期) 胚移植では 16 細胞期以上の胚を胚移植し得た 135 周期を、6日目 (胚盤胞) 胚移植ではガードナーの分類で 3AA 以上の胚を胚移植し得た 123 周期を対象とした。培養は、3種混合ガス気相下で、Day 3 までは 10% SSS 添加 P1 medium で、その後 10% SSS 添加 Blastocyst medium でさらに 1～3日間行った。

【成績】患者の平均年齢は桑実胚期移植で 34.7 ± 4.1 才、胚盤胞移植で 35.0 ± 4.1 才であった。移植あたり妊娠率は桑実胚期移植で 28.8% (39/135) であり、胚盤胞移植で 32.5% (40/123) であった。妊娠あたり流産率は桑実胚期移植で 17.9% (7/39)、胚盤胞移植で 17.5% (7/40) であった。移植胚あたり着床率は桑実胚期胚移植で 16.5% (46/279)、胚盤胞移植で 19.7% (36/183) あった。多胎妊娠率は桑実胚期移植で 33.3% (13/39)、胚盤胞移植で 12.5% (5/40) であった。また胚盤胞移植において、胚盤胞発生率は 42% であり、33.7% の胚が桑実胚期で発生停止となった。

【結論】桑実胚／胚盤胞移植でもこれまでの 2～3日目移植と同等の成績が得られた。長期間の胚の培養により、より生存性の高い胚を移植できうる可能性があるが、培養環境の改善や移植胚数などにつき今後も検討する必要があると思われた。

O-97

前核期融解胚盤胞移植の有用性の検討
(新鮮胚盤胞移植と比較して)

竹内病院トヨタ不妊センター ○横井 寿江, 上畑みな子, 越知 正憲
藤田保健衛生大学坂文種報徳会病院産婦人科 山口 陽子, 金倉 洋一, 米谷 國男

【目的】ホルモン補充周期を併用した、凍結融解胚盤胞移植の有用性について前回の学会で報告した。さらに、今回、胚盤胞の発育速度と形態学的評価を用いて分類し、新鮮胚と比較し、凍結融解胚盤胞移植の有用性について検討したので報告する。【方法】1999年10月～2000年3月までに過去に4回以上の良好胚移植を行っているにもかかわらず妊娠に至らなかった症例に行った。凍結融解周期は、全周期、神谷らのホルモン補充療法(子宮内膜調整法)を用いて行った。凍結前核期胚を融解、96～120時間の追加培養後、桑実胚以上を移植した。胚盤胞の分類は、元石とGardnerらの分類を用い、発育速度、形態学的評価とも6段階で評価した。【成績】128症例141周期で凍結前核期胚1～6個を融解、桑実胚以上を移植した妊娠率は46.0(57/124)%で5日目胚(4日間の追加培養)では56.6(47/83)%、6日目胚(5日間の追加培養)では24.4(10/41)%であった。着床率は30.2(65/215)%で5日目胚では36.7(54/147)%、6日目胚では16.2(11/68)%であった。キャンセル率は12.1(17/141)%、流産率15.8(9/57)%であった。新鮮胚は、59症例62周期で胚盤胞移植を試み、桑実胚以上を移植した妊娠率は34.0(17/50)%で5日目胚では38.6(17/44)%、6日目胚では0(0/6)%であった。着床率は19.8(17/86)%で5日目胚では21.3(17/80)%、6日目胚では0(0/6)%であった。キャンセル率は19.4(12/62)%、流産率35.3(6/17)%であった。5日目胚の凍結融解胚と新鮮胚の胚盤胞到達率は30.5%、36.8%であった。形態学的評価には両群間には明らかな差はなかった。【結論】胚の胚盤胞への発育速度は新鮮胚のほうが早く、胚盤胞の形態学的評価に両群間に差がないのに妊娠率に著しい差が出たのはホルモン補充周期を利用したことにより、implantation windowが拡大され、着床受容期間が延長したためと考える。

O-98

前核期凍結融解胚移植後の余剰胚の継続培養により得られた
胚盤胞のガラス化法による再凍結胚移植について

加藤レディースクリニック ○内山 一男, 林 輝明, 青木麻紀子
桑山 正成, 寺元 章吉, 加藤 修

【目的】ARTを実施する上で凍結胚移植は有効な技術として広く行われているが、その凍結方法は胚盤胞移植の有用性が示されている現在でもいまだ前核、分割期胚中心で常用されている。当院ではガラス化保存法の開発、確立に伴いDay 2 移植後の余剰胚は全て継続培養し胚盤胞期で凍結し、融解移植後の良好な成績を得てきた。しかし凍結融解胚移植後の余剰胚の利用はこれまで報告例もなく、一般的に患者の同意のもと廃棄されている場合が多い。今回我々は、本来廃棄するDay 2 での凍結融解移植後の余剰胚を胚盤胞培養し、ガラス化保存後患者に移植し、その有用性を検討した結果良好な成績が得られたので報告する。

【対象および方法】1999年7月より2000年5月までにDay 2 凍結融解胚移植を試みた447周期のうち余剰胚の生じた81周期、余剰胚数157個(G1:3個,G2:27個,G3:54個,G4:73個)を対象とした。余剰胚は前報と同様に移植後96時間まで継続培養した。G3以上の胚盤胞は既報のガラス化保存法に従い再凍結した。妊娠不成立の5症例に対し2 Step 法(既報)にて融解希釈後移植した。

【結果】余剰胚157個の培養結果は、8 細胞期までの発達停止44個 (28.0%),桑実胚 58個 (36.9%),胚盤胞 55個 (35.0%)であり、内19個 (34.5%)がG3 以上と判定されガラス化再凍結を行った。妊娠不成立の 5 症例に対し、ガラス化再凍結胚盤胞を融解後 1 胚移植を行った結果 3 症例に妊娠が確認され現在経過観察中である。

【まとめ】本来その低品質ゆえに廃棄される凍結融解胚移植後の余剰胚から培養後12.1%の良質胚盤胞が得られ、再凍結胚移植した5症例において、全例で再凍結後の生存が得られ、さらに1胚移植後高率(3/5)に妊娠が得られた。胚の最大限の有効利用において、凍結融解移植後の余剰胚の培養、再凍結融解移植は有用と思われる。

O-99 体外受精における品胎予防策として導入した胚盤胞移植の臨床成績

生長会府中病院不妊センター ○小林真一郎, 半田 雅文, 唐澤 康広
島田 知代, 原田真木子, 浜井 晴喜
加藤 浩志, 磯島 晋三

【目的】近年、ART を施行する施設数の増加および技術の向上に伴い、ART による妊娠、出産数が増加している。その結果多胎妊娠の数も増加しており、我々ART を実施する者の社会的責任として多胎妊娠を極力避け、かつ妊娠率を向上させていく必要がある。今回我々は、品胎を予防する目的で移植胚数を極力 2 個に限定するために胚盤胞移植を導入したので、その臨床成績を報告する。【方法】1999 年 5 月より 2000 年 4 月までの期間に採卵個数が 5 個以上であった IVF 83 周期 ICSI 127 周期、計 210 周期を対象とした。受精卵は 5 日間培養し、胚盤胞が 1 個でも得られれば移植胚数は 2 個に限定した。もし胚盤胞が得られずに桑実胚が 1 個以上得られれば、移植胚数は 3 個とした。桑実胚も胚盤胞も得られない場合は、胚移植はキャンセルとした。Day5 あるいは Day6 において余剰の胚盤胞が得られた場合、それらは凍結保存した。【結果】210 周期のうち 12 周期 (5.7%) は桑実胚も得られず胚移植はキャンセルとなった。198 周期に対し上記の基準で胚移植を施行した結果を以下に示す。胚盤胞を 2 個移植した周期は 116 周期 (58.6%) あり、その場合の妊娠率は 57.8% (67/116) であった。次に胚盤胞を少なくとも 1 個 (1 個あるいは 2 個) 移植した周期は 156 周期 (78.8%) であり、妊娠率は 48.7% (76/156) であった。すなわち、胚盤胞を 1 個あるいは 2 個移植できれば約 50% の妊娠率を見込めることが判明した。胚盤胞が得られず、少なくとも桑実胚 1 個を含む 3 個以内の胚移植では妊娠率は 20.0% (7/35) にとどまった。今回の全対象妊娠 87 症例中、双胎は 15 症例 (17.2%) であった。単胎は 45 症例 (51.2%)、流産は 23 症例 (26.4%)、子宮外妊娠 3 症例 (3.4%) であった。品胎が 1 例発生したが、これは胚盤胞を 2 個移植した結果、2 個とも着床しうち 1 個が MD 双胎となった例である。【考察】胚盤胞を 1 個あるいは 2 個移植できれば妊娠率は約 50% が期待でき、品胎予防も可能となった。今後、着床環境および反復着床不全の患者に関する検討がさらに必要であると思われるが、本法は品胎予防に有益であることが明らかとなった。

O-100 胚盤胞の急速凍結法 (Vitrification 法) の有用性について

横田産婦人科医院 ○佐藤 節子, 横田美賀子, 横田 英巳
横田 佳昌
高度生殖医療技術研究所 荒木 康久

【目的】近年、体外培養技術の進歩で胚盤胞移植が試みられるようになったことに伴い、胚盤胞の余剰胚凍結が必要になって来た。我々はその方法として、より簡便な急速凍結法 (Vitrification 法) を実施し、臨床上的有用性を検討した。【対象および方法】H11.3.15~H12.3.30.の採卵周期の内、37 症例を対象に、採卵日を Day0 として Day3 で新鮮胚移植し、余剰胚を Day5 まで培養した胚を用いた。培養方法は Day3 までは 10%SSS 合成血清加 GIBCO 社 HTF を用い、Day4 からは COOK 社 M-91 Blast Medium にて培養した。Day5 で胚盤胞まで发育した胚を急速凍結法 (Vitrification 法) にて凍結した。凍結方法は 1991 年に Ishimori らの開発した VSED(Vitrification solution ethylene glycol dimethyl sulfoxide)を改良して用いた。20%SSS 合成血清加 m-HTF を基礎培液とし、10%EG.5 分、50%VSED 1 分、VSED 30 秒に浸し、0.5Msucrous と共にストローに封入した後、LN2 上で 2 分保持後 LN2 中に沈め、保管器にて保存した。融解方法は 25℃の温水にて融解後、直ちにストロー内で混和する 1 ステップ法を用いた。【結果】Day5 で胚盤胞となった 37 周期の内 18 周期 41 個の胚を融解した。16 周期 28 個の胚を移植した。平均移植胚数 2.3 個、生存率 78.0%(32/41)、平均移植胚数 1.8 個、着床率 21.4%(6/28)、妊娠率 31.3%(5/16) だった。【結語】今回の検討で、従来の slow cooling の生存率に比較しても劣ることなく、VSED を用いた Vitrification 法は胚盤胞凍結に有用であることが確認された。

O-101

前核期胚形態の胚盤胞形成予測能

八千代病院不妊センター ○鈴木 守男, 上田 眞, 吉村 俊和
丸山 邦之, 近藤 正利

〔目的〕 前核期胚形態から、その後の胚盤胞への発育が予測できるかどうかを検討した。

〔対象と方法〕 102周期から採卵し、媒精または ICSI 施行後 16~18 時間目に 300 倍倒立顕微鏡で観察し 2 前核を確認した 435 卵を対象とした。前核期胚形態の評価は Tesarik の定義に従い、前核の nucleolar precursor bodies (NPB) の数と配列から Pattern 0~5 の 6 段階に分類し、更に 5 日目まで培養し、それぞれの Pattern の前核期胚の胚盤胞形成率を調べた。

結果は χ^2 検定を使用して統計処理を行った。

〔結果〕 Pattern 0 前核期胚の胚盤胞形成率は 70.8% と Pattern 1~5 の 45.5%、44.6%、50.6%、34.8%、59.1% と比べて有意に高く、反対に変性および分割停止率は 14.9% で他の Pattern の 37.9%、37.6%、35.1%、45.7%、30.8% に比べて有意に低かった。

〔結論〕 以上の結果より前核期胚の形態評価は、その後の胚盤胞形成能を予測できる。

O-102

胚盤胞移植における複数培養の有効性の検討

蔵本ウイメンズクリニック ○江頭 昭義, 元石 睦郎, 杉岡美智代
梅林 ツナ, 福田貴美子, 東島 利紀
蔵本 武志

〔目的〕 良好な胚盤胞作出を目的に、3 日目以降の培養を単一培養と複数培養に分け、その後の胚発生を比較することにより、複数培養の有効性を検討した。

〔方法〕 IVF 症例 3 例および ICSI 症例 5 例の計 8 例を対象とした。各症例ごとに 3 日目に 5 細胞以上へ発生した胚(追加培養胚)を、20 μ l ドロップあたり 1 個ずつ培養する区(単一培養区)と 20 μ l ドロップあたり複数個培養する区(複数培養区)に分け、5 日目における胚盤胞への発生率を調べた。また、5 日目に出現した胚盤胞の胚質(Good, Fair, Poor)についても比較した。

〔結果〕 複数培養区と単一培養区の 4 日目における桑実胚以降への発生率(87% vs 82%)、発生速度に差はなかったが、5 日目における胚盤胞への発生率を比較した結果、胚盤胞への発生率は複数培養区が 55%、単一培養区が 35%と複数培養区で高くなった。また、5 日目での胚質を比較した結果、複数培養区(23、44、24%)が単一培養区(6、24、53%)より Good、Fair の胚の割合が高くなった。

〔結論〕 胚盤胞移植において 3 日目以降の培養は、同一ドロップ内で複数個培養することにより、5 日目における胚盤胞への発生率が高くなり、得られた胚盤胞の胚質も向上することが明らかとなった。

O-103

IVF-ETにおけるKaufmann療法後の排卵誘発成績

鹿児島大学医学部産婦人科 ○桑波田理樹, 沖 利通, 丸田 邦徳
山崎 英樹, 中江 光博, 堂地 勉
永田 行博

〔目的〕体外受精胚移植（以下 IVF）の排卵誘発を行う際において卵胞期初期に機能的な嚢胞、子宮内膜の肥厚などがみられ排卵成績が低下する症例が認められる。IVF 前周期に Kaufmann 療法を施行し排卵誘発成績の改善がみられるか否かを検討し若干の知見を得たので報告する。

〔方法〕対象は前周期に Kaufmann を施行しなかった（control 群）13 症例 13 周期と前周期に Kaufmann 療法を施行した 10 症例 18 周期（Kaufmann 群）である。内分泌動態、月経周期 3 日目の E2、LH、FSH、hCG 投与時の E2、LH、FSH、hCG 投与時の E2、LH、黄体期の E2、P4、をまた hMG 総投与量、穿刺卵胞数、採卵数、成熟卵胞数、受精卵数などについて検討した。

〔成績〕月経周期 3 日目の E2 値は、control 群 $54.6 \pm 30.4 \text{ pg/ml}$ Kaufmann 群 $28.8 \pm 16.0 \text{ pg/ml}$ ($p=0.012$) また hCG 投与時の LH において control 群 $0.93 \pm 0.54 \text{ mIU/ml}$ Kaufmann 群 $2.7 \pm 1.49 \text{ mIU/ml}$ ($p=0.0001$) と有意の差を認めたが、他の要因は有意の差を認めなかった。また、機能的な嚢胞は control 群 13 症例 13 周期中 3 例、Kaufmann 群 10 症例 18 周期中 1 例 ($p=0.151$) であった。

〔結論〕今回、IVF 前周期に Kaufmann 療法を施行したもののにおいて、月経周期 3 日目の E2 値は有意に低く、hCG 投与時の LH は高い状態となった。これは、IVF 前周期に Kaufmann を施行すると卵胞期初期の E2 は低下させることは可能で、機能的な嚢胞が少ない可能性が示唆された。したがって IVF-ET における排卵誘発前の Kaufmann 療法は機能的な嚢胞の発生率を低める点において有用と考えられたが、その他の排卵誘発成績に関しては control 群と差はなかった。

O-104

乏精子症・精子無力症に対する直接的腹腔内人工授精法の有用性とその限界

三重大学医学部産科婦人科学 ○箕浦 博之, 竹内 茂人, 野田 直美
鈴鹿厚生総合病院不妊センター* 与那覇 斉, 田中 慶介, 西浦 理佳
磯部 哲也*, 田窪伸一郎*, 豊田 長康

〔目的〕顕微授精の普及は乏精子症・精子無力症の治療に画期的な変革をもたらし、射出精液・精巣上体・精巣からわずかの運動精子が得られれば受精卵が得られ妊娠が可能である。一般的には卵巣過剰刺激に子宮内人工授精を併用した周期を数周期反復しても妊娠に至らない症例を、体外受精—胚移植あるいは顕微授精の適応とする。しかし、これらの生殖補助技術は患者に与える負担が少なからず、児に対する安全性も必ずしも確立されていない。我々は、子宮内人工授精反復失敗例に対する直接的腹腔内人工授精の有用性につき報告してきた。今回、percoll 法にて調整後得られた運動精子が 1.0×10^6 に満たない乏精子症・精子無力症のうち子宮内人工授精の反復失敗例に対して直接的腹腔内人工授精を施行しその有用性と限界について検討したので報告する。〔方法〕hMG・hCG にて卵巣過剰刺激し排卵確認後、経膈超音波断層法ガイド下にダグラス窩を穿刺し、洗浄精子を注入した。〔成績〕34 症例 86 周期に施行したところ、対周期妊娠率 23.3% ($20/86$)・流産率 10% ($2/20$)・対症例継続妊娠率 (52.3%) であった。累積妊娠率は 3 周期以降上昇しなかった。注入運動精子数が 0.8×10^6 以下の症例からは妊娠例が得られなかった。〔結論〕一般的には体外受精—胚移植や顕微授精の適応とされる子宮内人工授精を反復しても妊娠に至らない乏精子症・精子無力症の約半数の症例に直接的腹腔内人工授精は有用であった。しかし同法は、3 周期施行しても妊娠に至らない症例に対してさらなる反復をしても有用性に乏しく、また調整後の運動精子数が 1×10^6 を下回る症例でも有用性が低いものと思われた。

O-105 凍結保存した精巣精子を用いての非モザイク型クラインフェルター症候群の妊娠例

越田クリニック ○今野 彰, 片山 弥佳, 望月真佐子

上田裕美子, 神谷 和美, 越田 光伸

神戸大学医学部泌尿器科 岡田 弘, 守殿 貞夫

非閉塞性と診断された患者の精巣生検後の精子回収率は低いことが知られており, TESE によって精子の存在を確認し凍結保存してから妻への過排卵誘起ができれば, 患者への精神的, 経済的負担を削減できる。しかしながら, 非閉塞性無精子症患者に由来する精巣精子は回収されたとしても, その濃度, 運動性ともに非常に低く, 精子運動性に悪影響を与える可能性のある凍結保存は敬遠されがちである。我々は, 精子の運動性を促進し受精能獲得に効果があるとされているカフェインを, 凍結融解後の精巣精子浮遊液に添加することで運動性を回復した精子を ICSI に用いることができ, 臨床的に有益な結果を得たので報告する。<症例>染色体分析の結果, 47XXY であり典型的な非閉塞性無精子症のひとつである非モザイク型クラインフェルター症候群と診断された 35 歳の患者に対し, 数カ所から精巣組織を採取する, マイクロディセクション TESE を行った。7 カ所の精巣組織を乱切り, 1 カ所のみから精子を確認できた。得られた精巣精子の濃度は非常に低く, 運動性は全く認められなかったが, ストロー 4 本に分けて液体窒素蒸気による簡易凍結法にて凍結し, 液体窒素内で保存した。精巣精子の状態を説明し, 同意を得た上で患者の妻の過排卵誘起を行い, 11 個の成熟卵母細胞を得た。精巣精子の解凍, 前培養 6 時間後ともに運動精子は全く見られなかったが, 5mM カフェイン添加処理 15 分後に 4 運動精子を確認できた。この 4 運動精子と形態的に良好であると思われた 7 非運動精子を用いて ICSI を行い, それぞれ 3, 1 個の受精卵を得た。運動精子に由来する 3 個の 4 細胞期胚を移植し, 現在, 妊娠継続中である。

カフェイン添加処理によって, 非モザイク型クラインフェルター患者由来の一部の凍結保存精巣精子の運動性が回復され, その運動性によって生存性を確認できたことは, ICSI 施行後の受精成立に効果的であった。カフェイン添加処理との併用により, 非閉塞性患者由来精巣精子の凍結保存が臨床的に利用できる可能性が示唆される。

O-106 40代のART

蔵本ウイメンズクリニック ○東島 利紀, 元石 睦郎, 江頭 昭義

杉岡美智代, 梅林 ツナ, 福田貴美子

蔵本 武志

【目的】加齢による妊娠率の低下は ART における問題点の 1 つである。平成 10 年 1 月～平成 12 年 4 月までの当院における ART の年齢別胚移植当りの臨床的妊娠率は 20 代 66%、30 代 43%、40 代 15% と 40 代は著しく低率でありその治療は苦慮するところである。そこで今回 40 代の ART 症例につき詳細に検討したので報告する。【方法】平成 10 年 1 月～平成 12 年 4 月までに当院において 40 代で ART を施行した 374 周期 (妊娠 38 周期) を 40 歳、41 歳、42 歳、43 歳、44 歳、45 歳以上の群に分け採卵数、分割率、移植胚数、妊娠率を検討した。また各群を臨床的妊娠群と非妊娠群に分け採卵数、成熟卵数を比較し、妊娠群においては排卵誘発法についても検討した。【結果】各群における採卵数、分割率、移植胚数、妊娠率はそれぞれ 40 歳 (6.3、97%、2.4、31%)、41 歳 (5.1、95%、2.2、12%)、42 歳 (4.0、92%、2.2、16%)、43 歳 (4.2、92%、2.0、7%)、44 歳 (2.3、87%、1.6、4%)、45 歳以上 (2.0、97%、1.7、0%) であった。妊娠群の採卵数、成熟卵数はそれぞれ 40 歳 (9.6、6.9)、41 歳 (5.3、5.3)、42 歳 (3.7、3.7)、43 歳 (5.3、5.3)、44 歳 (2.0、2.0)、非妊娠群では 40 歳 (5.5、3.7)、41 歳 (4.2、4.2)、42 歳 (3.2、3.2)、43 歳 (3.5、3.5)、44 歳 (2.0、2.0)、45 歳以上 (2.1、2.1) であった。排卵誘発法は卵巢の反応が良好な症例では従来の long 法でも平均 7.7 個の卵が得られたが、基本的には誘発前の FSH 値や誘発中の E2 値を検討しながら進める必要があった。【結論】40 代での臨床的妊娠群は採卵数で非妊娠群と差を認めた。また 1 年毎に採卵数、成熟卵数、妊娠率は低下する傾向にあった。排卵誘発法はホルモン値等の詳細な検討をもとに徹底した個別化を図る必要があると思われた。

O-107 本邦における不妊カウンセラー・IVFコーディネーターの活動状況について

聖隷三方原病院産婦人科 ○塩沢 直美, 高林香代子, 中西 洋乃
平出理絵子, 杉本 利幸, 岡田 喜親
望月 修

〔目的〕不妊治療が複雑かつ高度化するに従い、各職種によるチーム医療の重要性が益々高まっている。そこで日本生殖医療研究協会より初めて認定を受けた不妊カウンセラー・IVFコーディネーターの活動状況を調査することにより、本邦の生殖医療に携わる co-worker の抱えている問題点および今後の課題を明らかにし、今後のより良い活動の基礎資料とすることを目的とした。〔方法〕対象は日本生殖医療研究協会より認定を受けた第一期の不妊カウンセラー・IVFコーディネーター 102 名から医師を除いた 92 名で、無記名回答による記述式アンケート調査を郵送にて行った。なお調査期間は平成 12 年 3 月から 4 月末までとした。〔結果〕アンケートの回収率は 49 名、53% で、一施設当たりの平均不妊カウンセラー・IVFコーディネーターの人数は、 0.6 ± 0.8 人、 1.2 ± 0.9 人であった。ART 実施の施設が 46 名、94% を占め、病医院の施設形態は個人のクリニックが 31 名、63% と最も多く、次いで私立病院が 7 名、14%、公立病院 6 名、13%、大学病院 4 名、8% の順であった。認定取得の理由は自主的参加が 25 名、51% と過半数を占め、次いで上司のすすめが 17 名、35% であった。認定後に仕事がやりやすくなったとの回答が 32 名、65% から寄せられた。その一方、専任業務化している施設はわずか 4 名、8% に過ぎず、看護またはエンブリオロジストの業務との兼任が 43 名、88% を占めていた。また ART の説明時間は平均 30 ± 19 分であった。〔結論〕認定者の多くは自己意識の変革と知識の蓄積により自信、責任、積極性が培われ、患者およびスタッフ双方から信頼を得ていることが推定された。一方、一部では周囲の理解および認識不足や体制の未熟性が目立ち、多忙な一般看護またはエンブリオロジストとしての仕事と業務せざるを得ない状況が伺われた。この解決のためには積極的な改善対策に取り組むよう、各施設へ啓蒙していくことが不可欠である。また認定者間の資質の向上と情報交換の場を提供するための組織作りが今後の課題と思われた。

O-108 卵子提供に対するターナー症候群患者の意識調査

豊橋市民病院不妊センター ○菅沼 信彦, 若原 靖典
総合上飯田第一病院不妊センター 安藤 智子
市立半田病院産婦人科 古橋 円
もりもり小児科 森 理
小川クリニック 小川 正道

〔目的〕ターナー症候群などの卵巣形成不全の女性にとって、卵子提供による体外受精は妊娠・出産に至る唯一の方法である。わが国においては現在認められていないが、日産婦学会や厚生省も、その適応につき検討に入っている。そのためには社会的コンセンサスが必要なことは言うまでもないが、治療対象となる女性の意見も重視されなければならない。そこで我々は、ターナー症候群患者を対象に、卵子提供に対する意識につき調査し、一般国民や不妊症患者の考え方と比較検討した。〔対象・方法〕ターナー症候群患者 30 例を対象とし、本人あるいは母親との面談または自己記入方式より調査した。アンケート項目は卵子提供に対する理解度から始まり、当技術利用の意志、一般論としての当技術の是非、親子関係、出自を知る権利などとした。その結果は、厚生省によって 1999 年に行われた一般国民 (4000 名) ならびに不妊症患者 (804 名) に対する調査の結果と比較した。〔結果〕卵子提供技術の実際に関しては、ターナー症候群患者のほぼ半数がある程度以上の理解を示した。この技術がわが国においても適応されれば、「利用したい・配偶者が賛成したら利用したい」としたターナー症候群患者が 93.1% を占め、一般国民の 29.9%、不妊症患者の 27.2% に比べ、はるかに高率であった。一般論としての当技術の是非についても「認めてよい・条件付きで認めてよい」が 83.3% あり、一般国民 (59.2%) や不妊症患者 (79.0%) よりも肯定的であった。「出生児は実子とする」という意見がターナー症候群患者では 83.3% で、一般国民 (59.0%)、不妊症患者 (72.9%) より主流であり、また、子が出自を知る権利に関しては、「知る権利がある」としたものがターナー症候群患者では 70.0% で、一般国民の 36.4%、不妊症患者の 43.8% より高かった。〔結論〕ターナー症候群患者においては、一般国民や他の不妊症患者よりも卵子提供による体外受精を容認し、その実施に期待感をもつ意識が高く、早期の適応を望む声が強いのと考えられた。

O-109 当科における高度不妊治療後の精神的問題に関する一考察

聖隷三方原病院産婦人科 ○平出理絵子, 高林香代子, 中西 洋乃
塩沢 直美, 杉本 利幸, 岡田 喜親
望月 修

【目的】生殖医療技術（ART）の進歩により、体外受精-胚移植（IVF-ET）、顕微授精（ICSI）によって生まれる児が年々増加している。ARTの進歩には目を見張るものがあるが、この技術の進歩に反し患者自身の精神的サポートが置き去りにされる傾向にあり、不妊治療中だけでなく妊娠、出産、育児の中で一貫した精神面のサポートを行う必要性が指摘され始めている。そこで、当院のART治療により分娩に至った症例を対象に、妊娠-分娩-産褥という比較的長期間における不安や、夫婦関係の問題点を検討し、今後の看護に役立てることを目的とした。【方法】対象は平成10年7月より平成12年6月までの2年間に、当科においてIVF-ETまたはICSIによって妊娠、分娩した10例で、不妊治療前、治療中、妊娠中、分娩、産褥に分け、夫婦関係を含めた精神的問題について検討した。【結果】今回の対象10例中、夫の存在が終始欠如していた症例が2例存在し、これらでは妊娠-分娩-産褥経過中も特異であった。この2例には不妊治療前より、数年来夫婦生活がなく、不妊治療内容を話し合う機会も乏しく、相互のコミュニケーションを欠いていた。さらにその後の妊娠、分娩、育児の中でも夫婦間の会話や協力が乏しく、看護スタッフに対しても不安や意志の表出はみられなかった。さらにこの2例は妊婦健診時にも妊娠や胎児に対して無関心で、自己中心的な訴えが頻発し、全経過が貴重な示唆に富んでいた。そこで、この2症例を中心に不妊治療および妊娠-分娩-産褥経過を報告したい。【結論】本症例のように夫婦のコミュニケーションが円滑でない場合は、不妊治療が成功しても、その後妊娠から育児まで一環した夫婦への精神および社会的サポートが極めて重要である。また、この対策として不妊カウンセラー、IVFコーディネーターは、妊娠-分娩-産褥における精神面を含めた看護介入の方法について、周産期医療スタッフを交えていく必要があると思われる。

O-110 当院における体外受精・胚移植の多精子受精発生に関する臨床的検討

スズキ病院産婦人科 ○村川 晴生, 高橋 重智, 立花 郁雄
飯田 修一, 高橋 克幸, 森 滋
鈴木 雅洲

【目的】体外受精・胚移植（以下IVF-ETと略す）において経験する多精子受精は、様々な原因で発生すると考えられるが、その発生率の改善方法についてはいまだ一定の見解は得られていない。今回我々はIVF-ET周期のうち培養環境を一定に設定した1180周期を対象とし、その発生頻度を臨床的に検討した。

【対象および方法】1995年4月から2000年3月までの間に当科にて施行したIVF-ETのうち、conventional IVFを施行した1180周期、4136受精卵を対象とした。排卵誘発はGnRHaを用いたlong protocol周期（n=792）およびGnRHa非使用周期（n=388）とした。採卵後、前培養時間は4-6時間、媒精濃度は $5-10 \times 10^4$ /mlにて施行した。媒精から18時間の時点で胚発育を実体顕微鏡にて確認し、前核を3ヶ以上認めた場合を多精子受精と判定した。【成績】全周期中の多精子受精率は、受精卵あたり16.8%、採卵周期あたり35.2%であった。年齢別多精子受精率（以下受精卵あたりの割合）は30歳以下：14.7%、31-35歳：15.7%、36-40歳：18%、41歳以上：16.1%と、年齢による差異は認めなかった。不妊原因別多精子受精率では卵管因子：17.3%、男性因子：15.8%、子宮内膜症因子：17.2%、機能性不妊：15.9%であった。GnRHa使用の有無との関連はGnRHa使用群：16.7%、GnRHa非使用群：16.2%と有意差を認めなかった。次に、多精子受精を認めた422周期のうち多精子受精率10%以下の群（A群、n=26）および多精子受精率40%以上の群（B群、n=25）の2群に分けて比較検討した結果、総HMG投与量：2,213±759 IU（A群）v.s 2,145±817 IU（B群）と両群で有意差を認めなかったが、採卵数は15.2±6.9個（A群）v.s 5.3±3.2個（B群）とB群で有意に採卵数が少なかった（ $p < 0.05$ ）。【結論】従来から言われている加齢、GnRHa使用による多精子受精発生の増加は認めなかったが、卵quality低下が予測されるHMGに対する低反応群において多精子受精率が多い傾向が示された。

O-111 IVF-ET における採卵前卵巣血流と受精卵の quality との関連に関する研究

島根医科大学医学部産科婦人科学教室 ○尾崎 智哉, 高橋健太郎, 大西 雄一
金崎 春彦, 宮崎 康二

＜目的＞ IVF-ET において受精卵の quality は、着床率および妊娠率に影響を及ぼす。採卵前は過排卵処理による高エストロゲン環境等により、卵巣内の局所血流は自然周期に比し大きく変化していると考えられ、卵の成熟度にも影響を及ぼしている可能性がある。今回我々は、経腔超音波ドップラー法による卵巣内血流速度波形を計測し、受精率、受精卵の quality および妊娠率との関連について検討を行った。＜方法＞島根医科大学医学部附属病院産科婦人科にて IVF-ET を施行した 10 症例 18 周期を対象とした。IVF-ET 周期はいずれの周期も GnRH analog 併用 (long protocol) hMG+hCG にて卵巣刺激を行い、hCG および黄体ホルモン剤注射による黄体補充療法を施行した。対象周期について、hCG 切り替え日に、経腔超音波カラードップラー法で、主席卵胞周囲の血流速度波形の、peak systolic velocity (PSV)、time-averaged maximum velocity (TAMXV)、pulsatility index (PI) および resistance index (RI) を計測した。また同時に、血清 estradiol 値、progesterone 値を測定した。受精卵の quality については Vecck's preembryo grading system により評価し、grade 1 および 2 を良好胚とした。各測定結果と IVF の結果、受精卵に占める良好胚の割合（良好胚率）について比較検討を行った。＜結果＞ 卵巣内血流計測値のうち、RI および PI は採卵数と有意な相関を認めた (RI: $r=0.726$, $P=0.025$; PI: $r=0.833$, $P=0.0073$) が血清 estradiol 値、progesterone 値とは有意な相関は認められなかった。一方、受精率および良好胚率と各血流測定値との間にも有意な相関は認められなかった。対象を妊娠群と非妊娠群とで比較したが、全ての血流計値に有意差は認められなかった。＜結論＞ IVF-ET 周期において、採卵前卵巣内血流は発育卵胞数、採卵数には影響するが、その後の受精卵の quality には影響せず、経腔超音波カラードップラー法での卵の成熟度判定は困難であると考えられた。

O-112 核小体配列パターンと妊娠率

倉敷成人病センター不妊治療部 ○藤井 好孝, 本山 洋明

【目的】前核期での核小体配列パターンの観察と従来から行われている胚の形態分類を組み合わせれば胚の発育能力をより正確に把握できるのではないかと考え、検討した。【方法】1999年5月31日から2000年4月24日までにICSIを行い、移植ができ、かつ核小体配列を確認できた132周期を対象とした。女性年齢40歳未満だけを抽出した。移植は採卵後3日、4日、5日目で行い、移植胚数は基本的に2個以下としたが、まれに(2周期)3個の場合もあった。胚の観察はホフマンを付けた倒立顕微鏡で倍率200倍で行った。妊娠はGSの確認できたものを妊娠とした。【結果】全体(40歳未満)での妊娠率は54.5%だった。核小体配列が良く(=P0)、形態良好(=Type1)な胚を少なくとも1個移植できた場合の妊娠率は78.7%(37/47)だった。形態がType1でも核小体配列が不良(=P1)の場合は43.5%(20/46)で有意に低かった(χ^2 検定、 $p=0.0001$)。核小体配列がP0でも形態不良(Type2)な胚を移植した場合は52.6%で、両方不良な(P1でType2)胚では25%(5/20)だった。同様に、2000年6月14日時点でのongoingの率については、P0でType1が61.7%(29/47)、P1でType1が34.8%(16/46)、P0でType2が26.3%(5/19)、P1でType2が10%(2/20)だった。【結論】複数の胚を移植したため確実な結論は出せないが、核小体配列パターンの観察と胚の形態分類の組み合わせによって、胚の発育能力がより正確に把握できると思われる。

O-113 胚移植カテーテルへの血液付着が体外受精成績に及ぼす影響について

聖隷三方原病院産婦人科 ○岡田 喜親, 杉本 利幸, 山口万紀子
大石 晃良, 坂田麻理子, 望月 修

〔目的〕体外受精における一連の操作のうち、最終段階である胚移植は簡単ながら、ある意味盲目的な行為で、どの程度着床に影響しているのか今もって定かではない。そこで、今回は胚移植カテーテルへの血液付着の有無に着目し、この現象が体外受精成績に及ぼす影響について検討を行った。〔方法〕対象は平成11年1月から平成12年5月までの体外受精・胚移植で wallace カテーテルによる胚移植を行った 57 症例 100 周期（顕微授精 36 周期を含む）とした。これらを胚移植の内容によりスムーズ群 74 周期と胚移植が困難なためスタイレットを併用したスタイレット群 26 周期に分け、年齢、不妊期間、採卵数、子宮内膜の厚さ、胚移植数、臨床妊娠率、着床率および出血の有無について検討を行った。〔成績〕2 群の年齢（平均）は 34.5 才、34.0 才と同等で、不妊期間、採卵数、子宮内膜の厚さ、胚移植数にも 2 群間に差は見られなかった。一方、胚移植当たりの臨床妊娠率はそれぞれ 35.1%、14.3% で、スムーズ群がスタイレット群に比べ高い傾向を示した。また、カテーテルまたはスタイレットへの血液付着が各々 8.1%、50% の頻度でみられ、両群とも血液付着例では妊娠が見られなかった。さらに着床率はスムーズ群 19.5% に対し、スタイレット群 5.7% と両群間で有意差が認められた。〔結論〕本カテーテルにより血液付着のないスムーズな胚移植が行われた場合に、最良の臨床妊娠率が得られた。一方、スタイレットを用い血液付着が見られた胚移植困難例では妊娠が皆無であった。今回の検討により wallace カテーテルを用いた胚移植に際しては、できるだけスタイレットを用いず、カテーテルに血液付着をきたさないような愛護的操作を心掛けるべきである。

O-114 顕微授精の未受精例に対する電気刺激法の効果に関する検討

山梨医科大学産婦人科学教室 ○笠井 剛, 小川 恵吾, 水野 薫子
永井聖一郎, 内田 雄三, 大田 昌治
星 和彦

〔目的〕卵細胞内精子注入法 (ICSI) を行っても卵が活性化しない症例が存在するが、これらの症例に電気刺激 (DC pulse) を施行し、卵活性化を試みたので報告する。

〔方法〕電気刺激は、BTX 社の ELECTRO SQUARE PORATOR T820 を用いて、精子を顕微授精した後、直ちに PBS 中で通電した。電気刺激の条件は、電圧 375V/cm、通電時間 99 μ sec、1 回の通電であった。マウス卵への患者精子の注入試験及び電気刺激による卵子の活性化、活性化卵の胚移植に関してはすべて患者から informed consent を得た後、施行した。

〔結果〕(症例 1) 精子濃度 1×10^6 /ml の高度乏精子症にて ICSI を 3 回施行したが、いずれも低受精率 (1 回目: 27.3% (3/11)、2 回目: 11.1% (1/9)、3 回目: 0% (0/6)) であった。精子の頭部は円形小型のものを多く認めた。マウス卵への精子の注入では、33.3% (5/15) の活性化率であった。4 回目は 7 個の卵に ICSI-DC pulse を施行し、4 個の 2PN 胚と 3 個の 1PN 胚を得、48 時間培養した後、2 細胞期 grade1、3 細胞期 grade2、4 細胞期 grade1 の胚を 3 個移植した。5 回目は 5 個の卵に ICSI-DC pulse を施行し、3 個の 2PN 胚を得、4 細胞期 grade1 の胚を 3 個移植したが、いずれも妊娠しなかった。(症例 2) IVF にて受精卵が得られないため、ICSI を 6 回施行し、計 7 個の卵に顕微授精したが、2PN が認められたのは 1 個だけであった。精液所見は正常で、マウス卵への注入でも、100% (20/20) の活性化率であった。7 回目は 3 個の卵に ICSI-DC pulse を施行したが、いずれも 2PN で発生が停止した。

〔結論〕卵活性化能が低い精子を用いた ICSI では、電気刺激による卵活性化が有用であると思われる。しかし、電気刺激により卵を活性化しても、発生停止が起こる症例も存在し、このような症例では、卵活性化能低下の原因は、卵側に存在していることが考えられる。

O-115

窒素ガス発生装置を用いた低酸素培養法による
ヒト胚盤胞培養の検討

永遠幸マタニティクリニック ○豊北 美穂, 桑山 正成*, 藤波 隆一
加藤レディースクリニック* 加藤 修*, 山崎 裕行, 道倉 康仁

【目的】近年、哺乳動物胚に対する低酸素培養法が検討されており、ヒト胚においてもすでに優れた培養成績が報告されている。しかしながら現状の気相コントロールシステムでは大量の窒素ガスを消費するため、窒素ポンベの頻繁な交換によるコストの高さや事故のリスクが問題点となっている。本研究ではこれらの問題点を解決するため、市販の窒素ガス発生装置を用いた培養システムについて検討を行った。【方法】①窒素ガス発生装置 (KOFLOC, D2N-16)および液体窒素ポンベ由来ガスの微量成分分析②市販のマルチガス培養器(ASTEC, APM-30D)での定常酸素濃度(5%)までの回復所要時間の計測③マウス前核期卵子を用いて、同システムで5日間培養(M16, 37℃、5%O₂、5%CO₂、90% N₂)後の分割胚、胚盤胞発生率の比較④インフォームドコンセントの得られた患者由来の凍結分割期胚を用いて、同様に4日間培養(G2.2)後の胚盤胞発生率の比較を行った。【結果】窒素ガス発生装置および液体窒素ポンベ由来窒素ガスの純度、酸素含有量、露点に顕著な差は見られなかった。培養器の定常酸素濃度への回復所要時間は共に12分間前後であった。マウス胚の窒素ガス発生装置および液体窒素ポンベを用いた低酸素培養後の分割胚、胚盤胞率はそれぞれ42.5、80.6%および41.1、90%であった。ヒト分割胚の低酸素培養後の胚盤胞発生率はそれぞれ60および40%であった。【結論】ガス成分比較においてその組成に差がなく、マウスおよびヒト胚の培養において高い胚発生率が得られたことから、本研究での窒素ガス発生装置を用いた低酸素培養法は、ヒト胚盤胞培養に対して有効であることが示唆された。

O-116

過排卵刺激時における子宮内膜の内視鏡的評価

豊見城中央病院不妊・内分泌センター ○徳永 義光, 本間 裕朗, 佐久本哲郎

目的: IVF・ET の妊娠率は胚培養技術の向上にもかかわらず依然 20~30%であり、その原因の一つとして着床障害が指摘されている。IVF・ET においては過排卵刺激を行うため子宮内膜の増殖分化過程が自然周期と異なることが考えられる。この点を明らかにするために IVF・ET 施行時着床期子宮内膜の内視鏡的評価を試みた。方法: 対象は GnRHa 投与下に、FSH/hMG にて過排卵刺激し採卵後、胚移植しなかった 31 例。採卵後 7 ないし 8 日目に子宮鏡を施行し、子宮内膜表面像および子宮内膜腺の腺開口と血管の性状を評価した。同時に内膜生検を行い組織学的に検討を加えた。結果: 子宮鏡観察では内膜腺の腺開口は全例がリング状で血管もほとんどが樹枝状ないし静脈瘤様の良好な発達であった。しかしながら子宮内膜全体像は 1) 平坦、2) 単発性隆起性病変、3) 敷石状軽度、4) 敷石状高度、5) polypoid lesion、6) 癒着とに分類出来た。1) 2) 3) を良好内膜群、4) 5) 6) を不良内膜群とすると良好群 13 例、不良群 18 例であった。組織学的には敷石状高度または polypoid lesion を呈していた例で内膜腺過形成を認め、また多くの例で内膜腺の部分的嚢胞状拡張や基底膜下にリンパ球浸潤を伴う内膜表面再生上皮を認めた。これらの子宮内膜変化が過排卵刺激によるものかを検討するため、内膜不良例のうち 2 例において IVF・ET の前後周期で子宮鏡評価を行ったところ、2 例とも前後の周期では良好内膜像を呈していた。考察: 子宮鏡による観察では IVF・ET 施行例における子宮内膜の約 58%が内膜の増殖分化異常と考えられた。

O-117 bromocriptine-rebound 法 (BR法) による子宮着床能の改善 ：子宮内腔液中ホルモン測定のための内腔液採取器具の開発

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○神野 正雄, 星合 敏久, 菅原 新博
酒井 謙, 矢崎 智子, 小野寺潤子
岩下 光利, 中村 幸雄
北里サプライ 井上 保

【目的】新卵巣刺激法のBR法は、卵成熟を改善するとともに、子宮着床能力をも増加して、体外受精妊娠率を向上する。本研究は、子宮着床能改善の機序を検討した。【方法】BR法の卵成熟改善効果を除いて着床率を検討するために、対象を良好形態胚が2個以上胚移植できた体外受精症例のみとした。そして着床率を以下の3群で比較した：初回体外受精でlong法を用いた症例(L法初回群)、long法で妊娠せずその後の体外受精でlong法またはBR法を用いた症例(L法反復群およびBR法群)。BR法は、体外受精の前周期第4日よりhMG開始7日前まで連日bromocriptineを内服した。それ以外はlong法と同じであった。次に、説明と同意のうえで14人の不妊患者で約1月間bromocriptineを内服させ、内服前後の黄体期後期に、独自開発の器具(特許請願#2000-107157)を用いて子宮内腔液を採取し、子宮内腔液中PRL濃度をRIAで測定比較した。さらに、PRLの着床期胚発育への直接効果を調べるために、PRLを0, 0.01, 0.1, 1, 10 IU/ml添加した培養液でマウス胞胚を培養し、培養皿へのspreadingを比較した。【結果】胚移植あたりの着床率は、L法初回群(移植210周期)で54%、L法反復群(52周期)で27%、BR法群(131周期)で43%と、L法不成功例での着床率の低下をBR法は有意に改善した($P<0.05$)。なお移植胚数には差がなかった。hMG投与中の平均血清PRL値は、BR法群でL法反復群より有意に高かった($12.1 \pm 0.6, 8.9 \pm 0.7$ ng/mL)。黄体期後期の子宮内腔液PRL値は、bromocriptine内服中止後に増加した(前 11.7 ± 1.5 , 後 20.1 ± 11.5 ng/mL)。マウス胞胚のspreadingは、PRL 0.1, 1, 10 IU/ml添加群で無添加群より有意に広がった。【結論】BR法はbromocriptine中止後の反跳現象で血清PRLを上昇する。子宮内膜でのPRLの産生と分泌が知られている。BR法は、子宮内膜PRL産生の増加または血清PRL増加の間接的効果で、子宮内腔のPRLを増加し、PRLの胚発育促進効果により着床率を改善すると考える。

O-118 精漿による頸管細胞からのインターロイキン-8産生促進効果

浜松医科大学産婦人科学教室 ○金山 尚裕, 北村 公也, 松山 薫
後藤 淳子, 鈴木 留美, 高田佳世子
松浦 俊樹, 西口 富三

【目的】受精卵の着床時には子宮内膜の肥厚と内膜上にCD44、インテグリンなどの発現が重要である。子宮内膜の肥厚には各種の炎症性メディエーターが関与している。ケモカイン- PGE_2 相互関連は子宮内膜の肥厚の一翼を担っている。なかでもインターロイキン-8 (IL-8) は子宮内膜の肥厚や頸管組織の活性化を惹起することからIL-8の着床周辺期での役割が注目されている。一方腔内に射精された精漿についての生理的意義に関する研究はほとんどない。今回精漿が子宮組織からのIL-8の産生を促進し着床環境を促進するのではないかと作業仮説をたて以下の基礎的検討を行った。【方法】インフォームドコンセントを得た後、良性疾患で摘出した子宮の頸管を採取し $1 \times 1 \times 0.5$ cm 角に細切した。組織の重量測定を行い、その後10%FCS加MEM培地中で培養した。男性不妊のないボランティアの精漿を培養液中に各種濃度(0-20%)で添加した。12時間後の上清中、細胞中のIL-8の量を測定した。また20%精漿添加群で培養液のpHを変化させ同様に上清中、細胞中のIL-8の量を測定した。【成績】上清中、細胞中のIL-8量は精漿の量依存的、時間依存的に増加した。培養液のpHが5.0以下ではIL-8の産生は精漿添加群と精漿非添加群との間に差は認められなかった。【結論】精漿には頸管細胞からIL-8産生を亢進させる作用があることが示された。しかし正常の腔内pHであるpH4から5ではIL-8産生亢進作用は認められなかった。精漿が頸管に接して存在する場合は内膜肥厚作用をもつことが考えられた。IVF-ETなどではこの作用が発揮されないことが考えられた。また酸性環境では精漿によるIL-8産生が減弱することから射精部位により子宮からのIL-8産生が異なることが示唆された。

O-119

夫リンパ球移植術の流産阻止作用の性差

医療法人假野クリニック ○假野 隆司, 古殿 正子, 加納万里子
石井みさ子
(株)ファルコバイオシステムズ 前田 豊
大阪医科大学産婦人科学教室 植木 實

【研究目的】流産胎児の性差を研究した報告はない。夫リンパ球移植が適応となる自己抗体陰性反復流産の流産胎児の染色体検査と夫リンパ球移植によって生児を獲得した症例との性差を比較検討することで夫リンパ球移植術の流産阻止作用の性差を考察した。

【対象と方法】母集団は2回以上の連続した初期流産の既往を有する352例である。流産胎児の染色体検査は免疫不育症の治療を受けていない抗核抗体、抗cardiolipin 抗体陰性の23例に行った。夫リンパ球移植は119例に行った。有意性の検定は χ^2 テストで行った。全ての検査治療はインフォームドコンセントを得て行った。

【結果】正常核型は17例(73.9%)で、うち16例は女兒(正常核型の94.1%)であった。異常核型のうち出生可能な核型は47X X X、モザイク型ターナー症候群各1例であり、出生が不可能な核型は16番トリソミーの女兒1例、三倍体2例、四倍体1例であった。夫リンパ球移植による生児獲得例の女兒率は43.3%(29/67)で流産胎児より有意($p < 0.01$)に低率であった。

正常核型女兒例のHLAクラスII抗原のsharing 2個以上と夫固有同抗原数2個以下はそれぞれ85.7%、57.1%であった。

【結論】①不育症の流産胎児の染色体核型は正常であることが多い。②自己抗体陰性反復流産児は女兒が多い。③自己抗体陰性不育症は夫リンパ球移植で阻止可能である。④リンパ球移植の適応をHLAクラスII抗原のsharingと夫固有同抗原数で診断することは誤りではない。⑤不育症の胎児染色体検査は次回妊娠の胎児の生存のため極めて有用である。

O-120 精子 Ca^{2+} independent PLA2 の先体反応への関与についての検討

大阪大学医学部産婦人科 ○中嶋 敦子, 大橋 一友*, 中村 仁美
関西労災病院産婦人科* 木村 正, 古山 将康, 東 千尋
大阪大学分子生理化学(修士)** 村田 雄二, 東城 博雅**

(目的) ホスホリパーゼ A2(PLA2) は生体膜の主要成分であるグリセロリン脂質の2位のアシル基を加水分解し脂肪酸とリゾリン脂質を生成する酵素である。PLA2 は膜リン脂質の代謝回転に携わりアラキドン酸カスケードの初発酵素として作用する。近年、cDNA クローニングされた分子量 160K のホスホリパーゼ B/lipase(PLB/LIP)は Ca^{2+} 非存在下で PLA2、リパーゼ、リゾホスホリパーゼ活性を有しラットの検討では小腸刷子縁膜、食道粘膜、精子に存在する。そこで我々は PLB/LIP のヒト精子での存在様式、及びその先体反応との関連性について検討した。尚、本実験ではインフォームドコンセントで了承の得られた健常者の精子を用いた。

(方法) 当教室で作製したラット抗 PLB/LIP 抗体を用いて局在の検討を行った。先体反応の判定にはアクロビーズテスト、PSA 染色を用いた。酵素阻害剤には MAFP (Methylarachidonyl fluorophosphonate) を用いた。酵素活性に関しては高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて測定した。

(成績) 1; ラット抗 PLB/LIP 抗体にて精子頭部への PLB/LIP の局在が確認された。

2; 先体反応終了後の精子では、PLB/LIP 活性が著しく低下した。

3; PLB/LIP 不可逆性阻害剤によって先体反応が抑制された。

(結論) PLB/LIP は精子先体反応時の先体外膜の変化に関与する可能性が示唆された。

O-121 ヒト精漿および血漿中アデニルプリン構成比と精子先体反応

東京歯科大学産婦人科¹⁾ ○兼子 智^{1,3)} 小室 浩²⁾ 郡山 智¹⁾
 明治薬科大学臨床薬理²⁾ 赤星 晃一¹⁾ 黒島 正子¹⁾ 宮越 敬¹⁾
 CREST³⁾ 佐久間雄一¹⁾ 富永英一郎¹⁾ 竹内 幸一²⁾
 田辺 清男¹⁾

【目的】精子先体反応(AR)は精液中では誘起しないが、精漿を除去してアルブミン、血清等を含む培養液中で培養すると自発的に誘起する。われわれは、精漿中にはadenosine(Ado)が存在し、Ado受容体アゴニスト、アンタゴニストは各々AR誘起を抑制、促進することを報告した。ヒト精子ARへの精漿、血漿の影響を検討する一端として、アデニルプリン(ATP、ADP、AMP、Ado、cAMP)含量および構成比を比較した。

【方法】ヒト精液、血液はインフォームドコンセントを得た上、ボランティアから供された。EDTA存在または非存在下に採血し、直ちに遠心分離して血漿を得た。精液(射精後、1-3時間室温放置)は遠心分離し、上清を精漿とした。血漿、精漿は10%TCAで固定、除タンパク後、中和した。アデニルプリンは2-クロロアセトアルデヒドにより蛍光ラベル化し、HPLCにより一斉分析した。

【結果】EDTA非存在下に採血した場合は、速やかにアデニルプリンが消失した。EDTA血漿中の総アデニルプリン量は 18.41 ± 4.73 nmole/ml ($n=7$)、構成比はATP、ADPが90%以上を占め、Ado、cAMPは検出限界以下であった。一方、精漿(28.20 ± 19.58 nmole/ml, $n=7$)ではAdo、cAMPが80%以上を占め、両者のアデニルプリン構成比は大きく異なっていた。精漿、血漿にATPを添加してその代謝動態を観察した結果、血漿ではアデニルプリン自身が速やかに消失するのに対し、精漿では段階的に脱リン酸化されて Adoが蓄積した。

【考察】精漿では各アデニルプリンの脱リン酸化によりAdoが蓄積し、AR誘起を抑制していると推測される。一方、血漿(血清)ではAdo濃度が極めて低いため、抑制が解除されと考えられた。今後、受精の場である卵管液、卵、卵丘細胞アデニルプリンに関する知見が求められる。

O-122 Long PCR 法によるヒト精子ミトコンドリア DNA 全長の増幅

山梨医科大学産婦人科学教室 ○内田 雄三、正田 朋子、平田 修司
 星 和彦

(目的) ヒトのミトコンドリアDNAは16,569bpの環状DNAである。これまでに精子の運動性とヒト精子のミトコンドリアDNAの異常との関連が解析されてきたが、精子のミトコンドリアDNAの解析は部分的欠失についての解析であった。近年確立されたlong PCR法は10kb以上の遺伝子増幅が可能な方法であり、精子ミトコンドリアDNAの全長解析にも応用されつつある。今回われわれは、long PCR法による精子ミトコンドリアDNAのほぼ全長の増幅を試み、さらに、その増幅効率について検討した。

(方法) 同意を得て採取したヒトの射出精子をswimupし、1% SDS - 0.2mM DTT - 0.1Mメルカプトエタノールを含むPBS溶液で処理した後、フェノール抽出・エタノール沈澱によってDNAを調製した。ヒトミトコンドリアDNAの塩基番号254から16215の15,962bpを規定するプライマー、mt254s (25mer)ならびにmt16215as (25mer)、を設計した。調製した精子DNAを鋳型として、mt254sならびにmt16215asを用い、LA Taq (Takara)を使用して、「98℃ - 20秒、68℃ - 15分」を1サイクルとして計30サイクルのPCRを施行した。反応産物をアガロースゲル電気泳動し、エチジウムブロマイド染色によって増幅遺伝子の存在ならびに分子サイズを解析した。また、反応特異性をサザンブロット法により確認した。

(成績) ヒト精子より調製したDNAを鋳型としたlong PCRにより、アガロースゲル電気泳動・エチジウムブロマイド染色にて確認が可能なレベルの約16kbの増幅遺伝子が得られた。サザンブロットの結果、この増幅遺伝子はミトコンドリアDNAに由来するものであることが明らかになった。

(結論) ヒト精子のミトコンドリアDNAの約96%の領域を効率的に遺伝子増幅する方法を確立した。本法によりヒト精子のミトコンドリアDNAの複数の欠失や再構成などを同時に解析することが可能であり、ミトコンドリアDNAの異常に基づく精子機能の異常の解析に極めて有用な方法であると考えられる。

O-123 精子鞭毛に存在する構造蛋白質遺伝子Tektinの単離 および解析とhumanへの応用

大阪大学医学部泌尿器科 ○中村 吉宏, 宮川 康, 松宮 清美
奥山 明彦
大阪大学微生物病研究所 田中 宏光, 井口 尚子, 野崎 正美
西宗 義武

精巣における精子形成は性成熟以降、生涯を通じて行われ、1.精原細胞の増殖・分化 2.精母細胞の減数分裂 3.精子細胞の形態形成という3つの過程に分けられるが、精子の形態形成に関連する分子生物学的解析は未だ不明な点が多い。

Tektin はウニの精子の鞭毛から単離された蛋白質であり、繊毛や鞭毛の微小管、さらに中心小体、中心体、紡錘体などに存在すると考えられている。また、A,B,C3種類の family を形成し、各々30%前後の相同性を示すことが知られている。今回、我々はまずマウス半数体精子特異的 cDNA ライブラリーより新規 Tektin 遺伝子を単離しその解析を行った。得られた遺伝子の解析から、哺乳類においてもウニで解析された Tektin family に共通のアミノ酸配列を認め、それが精子の構造に関わる蛋白質で、鞭毛に局在することを明らかにした。次にデータベース検索により、human においても Tektin が存在することが示唆された。このことから、現在 human Tektin 遺伝子の単離および解析を行っている。Tektin が精子鞭毛に存在し、精子鞭毛の運動への関与が予想されることから、ヒトにおける精子形態異常や精子無力症などの原因遺伝子の一つである可能性が示唆され、将来的に臨床検体を用いた解析を行う予定である。

O-124 ヒト H19 遺伝子における精子 imprinting mark のメチル化解析

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○浜谷 敏生, 丸山 哲夫, 酒井のぞみ
山本百合恵, 吉村 泰典

【目的】genomic imprintingとは親の性に依存的なゲノムの修飾を意味し、imprinted gene(IG)では各親由来のアレルが等価に発現しない。そのため、発生胚が一方の親由来の染色体のみから構成されると胎状奇胎や卵巣奇形腫を生じ、減数分裂が染色体の不分離などで正常に進まないとい奇形、流産などとなる。imprintingの機構として、DNA配列におけるCpG islandのcytosine(C)のメチル化が重要である。卵由来・精子由来アレルの双方は、受精直後に大幅な脱メチル化を受ける。しかし、IGの近傍にはこの着床前の脱メチル化に抵抗してアレル間のメチル化の違いを保持する領域があり、differentially methylated region(DMR)と呼ぶ。既知のIGであるIGF2(insulin-like growth factor 2)とH19遺伝子は隣接するが、両遺伝子の発現は同一のエンハンサーに依存し競合するため、IGF2は父性アレルからのみ発現し、H19は母性アレルからのみ発現する。また、両遺伝子のDMRはIGF2-H19間に存在し、ラット、マウス、ヒトでhomologyが高いが、ヒトDMRにのみ39bpの繰り返し配列が6個(hcs1~6)存在する。そこで、我々はヒトhcsのアレル特異的メチル化を詳細に検討した。**【方法】**まず、患者の同意の下ヒト精子、脳、腎よりDNAを抽出し、bisulfite法により脱アミノ化した。この処理により、メチル化を受けていないCはウラシルへと変換されるが、5'メチル化Cは変化しない。hcsの前後でおのおのプライマーを設定しPCRを行い、PCR産物を電気泳動後泳動ゲルより抽出しTAクローニングに供した。各PCR産物あたり最低20個のコロニーからそれぞれプラスミッドDNAを抽出し、シークエンサーを用いて各臓器ゲノムDNA中のhcsにおける5'メチル化Cの位置と割合を解析した。**【結果】**精子においてhcsは極めて高レベルのメチル化状態を認めた。一方、体細胞においてはいずれのhcsのメチル化レベルともおおそ50%(父性アレルの高メチル化/母性アレルの低メチル化)であった。さらに、hcs中4個のCpGが集中する領域ではアレル特異的メチル化が際だっていた。**【結論】**hcs中4個のCpGが集中する領域が父性アレルのimprinting markとして重要であり、IGF2-H19発現調節機構において重要な役割を果たすことが示唆された。

O-125

精子受精能評価法に関する検討

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○Victor Takane, 藤原 敏博, 末永 昭彦
 東京大学医学部附属病院分院産科婦人科* 小笠原綾子, 藤本 晃久, 大井なぎさ
 大須賀 穰, 矢野 哲, 堤 治*
 武谷 雄二

【目的】不妊治療においては、精子受精能を把握しそれに応じた必要十分な治療法を選択する必要がある。従来様々な精子機能評価法が考案されているが、単一のパラメータによる評価には限界があるといわざるを得ない。今回我々は、conventional IVF を行った症例につき、媒精に用いた精子に対して複数の精子機能検査を行い、その結果と受精率との関連について検討を行った。【方法】1999年10月から2000年6月に当科で conventional IVF を行った症例のうち採卵数が5個以上であった30例に対し、インフォームドコンセントを得た上で以下の検討を行った。精子は原精液所見を計測した後、Percoll/Swim-up 法で運動精子を回収し媒精に供した。余剰精子が得られた場合に以下の3種類の検査を行った。① CASA(IVOS)による精子運動パラメータの定量、② アクロビーズテスト、③ Kruger strict criteria 変法による精子形態の評価。これら検査の結果と各症例の受精率との関連を解析した。【成績】① CASA のパラメータのうち、運動率あるいは直進運動精子率は、いずれも40%以上ではほぼ一定の高い受精率を示した。また path velocity および progressive velocity はいずれも40~50 μ m/sec 以上で受精卵が得られるようになり、以後速度と受精率は正の相関を示した。②アクロビーズテストにおいては、精子懸濁液4 $\times 10^6$ /ml から始まる1,2,4,8倍希釈液にMH61抗体結合ビーズを添加し、24時間後の精子とビーズの結合の判定により、結果を0,1,2,3,4の5段階で評価して行った。受精率に対する検査の感受性は95%で特異性は80%であった。③ Kruger strict criteria 変法では、type 1の割合と受精率には相関がみられた。またアクロビーズテストのスコアとtype 1精子の割合との間にも相関が認められた。④ CASA で良好な運動性が認められたり、Kruger strict criteria 変法でtype 1精子の割合が高かったにも関わらず受精率が低い例がみうけられた。【結論】今回検討した精子機能検査は、単独でもある程度の有用性は示されたが限界もあり、今後これらを組み合わせることにより、より精度の高い評価が期待できるものと考えられた。

O-126

精子中心体機能評価：受精過程後半の胚発生能を予知する新しいアッセイ

東北大学医学部産科学婦人科学 ○寺田 幸弘, 佐藤 由実, 森田 順子
 村上 節, 岡村 州博

『目的』ヒト精子が卵に侵入すると頸部に存在する精子中心体より微細管の形成が誘導され精子星状体を構成する。前核形成時に星状体は増大し雌性前核に至り、雌雄前核の融合を誘導する。更に中心体は二分し、第一分裂のための紡錘体の形成を司る。すなわちヒト受精において中心体は精子より継承され精子侵入後の胚発育に必須であり、その事実は中心体機能が個々の妊娠性を反映するのではないかという仮定を導く。今回我々はヒト精子中心体の機能を評価するアッセイを開発し、その結果が精子侵入後の受精卵の発育能を反映することを明らかにしたので報告する。『方法』妊娠性を有すヒトドナー精子(2例)とヒト体外受精胚移植プログラムでの余剰精子(17例)を家兎成熟卵にICSIして3時間後に固定、蛍光抗体法にて核の脱凝縮、微細管の形成を観察した。なお、本実験は本学倫理委員会の承認のもとに行われた。『成績』ICSI後3時間の家兎卵内にヒト精子頭部の脱凝縮と、中心体からの星状体の形成が観察された。体外受精余剰精子を同様に家兎卵にICSIして星状体形成率を算出した。形成率を精液検査の各パラメーターで2群にわけ比較するも有意差は認められなかった。しかし受精卵(前核期卵)が高分割率を示した群と低分割率を示した群との間で有意な差がみとめられた。『結論』正常ヒト精子中心体は家兎卵内でも星状体の形成を誘導する、すなわち家兎卵はヒト精子中心体の機能評価のモデルになることが明らかになった。また、このアッセイを不妊症症例に応用したところ星状体の形成率は通常の精液検査の結果と相関せず、精子侵入後の受精卵の発育能を反映した。以上より、精子中心体機能評価は精子より受精卵の発育能を推測できる新しい不妊症機能検査であることが明らかになった。中心体の機能的な完全欠損が存在するならばそれはICSIでも克服できない受精障害であり、さらなる検討を要する。

O-127

ヒト造精細胞(第一精母細胞)の体外培養下における
減数分裂完成の為の培養法の検討

セントマザー産婦人科医院 ○田中威づみ, 田中 温, 永吉 基
栗田松一郎, 馬渡 善文, 竹本 洋一
高崎 博幸, 井手 紀子, 岩本 智子
長野亜紀子, 鎌田 恵里, 竹本 佳世
神戸大学農学部附属農場 楠 比呂志

【目的】第一精母細胞(Pr SC)の段階で发育の止まった原発性無精子症患者は全体の半数以上もあり、もしこの发育の止まったPr SCを体外培養系の中で2回の減数分裂を終了させることが可能となれば、発生した円形精子細胞(r-St)を用いて妊娠することも夢では無くなってくる。今回我々はこのPr SCの体外培養系の検討を行い、臨床上有用な結果を得たので報告する。本実験は全て患者の同意の下に行われた。【方法】①vero細胞(大日本製薬)をMEM培養液のみ-(A)、MEM培養液+ホルモン[FSH(50IU/L)+Testosterone(1μmol/L)]-(B)、10%ブタ精巣網液-(C)、50%ブタ細胞網液-(D)、ヒト人工卵管液(当院で作成) (E)、の5種類の溶液内で培養した(37℃、5%CO₂ in air)。Confluentとなった時点より共培養を約5日間開始した(32.0℃、5%CO₂ in air)。②vero細胞を使用しない、10%ブタ精巣網液-(F)、50%ブタ精巣網液-(G)、MEM+ホルモン[FSH(50IU/L)+Testosterone(1μmol/L)]-(H)内で培養した。(A)~(H)の8種類の全ての培養系において培養するPr SCの数は2個とした(減数分裂の過程が観察し易くする為)。③睾丸組織をRBC Lysing bufferで洗浄後、眼科用尖刀で細切し、0.125%collagenase+0.01%DNAaseを含んだDPBSで酵素処理を行い、遊離した造精細胞の中よりPr SCの形態学的特徴を有する細胞を外径φ30μmのピペットで選別吸引し、vero細胞上、および各種培養液dropの中に散布した。④減数分裂後は発生した細胞の染色体数、染色分体数は、この細胞をヒト体外培養で发育したM-II卵子内に注入し、凝集した染色体を確認した後にFISH(WCP, TelVysion)で診断した。【結果】①各種体外培養液系(A)~(H)におけるr Stの発生率は(A) 0%(0/50)、(B) 0%(0/50)、(C) 8.0%(4/50)、(D) 10.0%(5/50)、(E) 9.8%(8/82)、(F) 0%(0/50)、(G) 0%(0/50)、(H) 0%(0/85)であった。②1ヶのPr SCより4ヶに分裂した小型の円形の細胞はrecipientの卵子内で染色体数23、染色分体数23、倍数性はhaploidであった。【結論】1個のPr SCが体外培養系の中で2個、4個に分裂、増殖することを観察した。この新しく发育した細胞は、染色体レベルでの鑑別により、r Stであることが証明され、Pr SCが体外培養の中で2回の減数分裂の完成の後にr Stに发育したことが確認された。

O-128

ヒト各種造精細胞の染色体レベルでの鑑別

セントマザー産婦人科医院 ○田中 温, 永吉 基, 栗田松一郎
馬渡 善文, 田中威づみ, 竹本 洋一
高崎 博幸, 井手 紀子, 岩本 智子
長野亜紀子, 鎌田 恵里, 竹本 佳世
神戸大学農学部附属農場 楠 比呂志

【目的】従来、各種造精細胞の診断は各々の細胞の形態学上およびFISH分析(間期における)の所見により行われてきたが、その正診性には限界がある。今回我々は各種造精細胞の最終診断となる染色体レベルでの鑑別を試み臨床上有用と思われる結果を得たので報告する。本実験は全て患者の同意の下に行われた。【方法】①睾丸組織をまずRBC Lysing bufferで洗浄後、眼科用尖刀で細切し、0.125%collagenase(Type I A S)と0.01%DNAaseを含んだDPBSで酵素処理を行い第一精子細胞(Pr SC)および円形精子細胞(r St)を選別採取した。②第二精母細胞(Sec SC)とr StはPr SCの体外培養系の中で发育した細胞を用いた。③ICSI症例で採取されたGV期卵子を体外培養し、M-IIとなった卵子をrecipientとした。④卵子を0.1mM CaCl₂、0.05mM MgSO₄を含んだmannitol内に浸漬し交流8V/cm、1000kHz 8秒間、その後に直流1200V/cm、99μsを印加し卵子を活性化した。⑤Pr SCは外径φ15μm、Sec SCはφ12μm、r Stはφ10μmのinjection pipetteで各々吸引し、pipette内で核と細胞質とが分離し、さらに核が正常であることを確認後、電気刺激約30分後の卵子に注入した。⑥2PN、2PBを確認後、1時間毎に観察し、2PNが消失した時点で卵子を固定し、ギムザ染色及びFISH分析(WCP, CEP, TelVysion)を行った。【結果】①各種造精細胞をrecipientに注入後、2PNを確認できた割合は80.8%(21/26)[Pr SC:87.5%(7/8)、Sec SC:66.7%(4/6)、r St:83.3%(10/12)]、2PNが消失した割合81.0%(17/21)[Pr SC:85.7%(6/7)、Sec SC:75.0%(3/4)、r St:80.0%(8/10)]、凝集した染色体が確認できた割合は、94.1%(16/17)、[Pr SC:100%(6/6)、Sec SC:66.7%(2/3)、r St:100%(8/8)]であった。②Pr SC、Sec SC、r Stの染色体数、染色分体数、セントロメア数は(46,92,46)、(23,46,23)(23,23,23)であった。WCP, CEP, TelVysionを用いたFISH分析の結果、各々のスポット数は(2n, 2n, 4n)、(n, n, 2n)、(n, n, n)であった。一方間期核を対象とした従来法でのFISH分析では(2n, 2n, 2n)、(n, n, n)、(n, n, n)であった。【結論】Maturation arrestの症例の診断及び治療の際に必ず問題となる円形の造精細胞は一体何であるかという最終診断には染色体レベルでの鑑別が必要であることが判明した。

O-129

ヒト円形精子細胞の精子への体外成熟培養の検討
—vero cells との共培養—

セントマザー産婦人科医院 ○田中 温, 永吉 基, 栗田松一郎
馬渡 善文, 田中威づみ, 竹本 洋一
高崎 博幸, 井手 紀子, 岩本 智子
長野亜紀子, 鍛田 恵里, 竹本 佳世
神戸大学農学部附属農場 楠 比呂志

【目的】円形精子細胞(r St)が最も分化したintact survivalである原発性無精子症患者にとってr Stを卵管内に注入する顕微授精(ROSI)が唯一の妊娠する方法ではあるが、その成功率は極めて低い。低値の原因の一つとしてr Stの卵子の活性化能の未熟さが指摘されており、これを補う為のr Stの精子への体外成熟培養が盛んに行われているが、未だ十分な結果が得られていない。今回我々はM. Sousa等の報告(1999)に改良を加えたr Stの体外培養系の検討を行い、運動性を有する形態正常の成熟精子の発生に成功したので報告する。本実験は全て患者の同意の下に行った。【方法】①vero細胞(大日本製薬)をMEM培養液のみ(A), MEM培養液+ホルモン[FSH+Testosterone(T)], [FSH(50IU/L)+T(1μmol/L)]-(B), FSH(50IU/L)+T(10μmol/L)-(C), FSH(500IU/L)+T(1μmol/L) (D), FSH(500IU/L)+T(10μmol/L) (E)], 10%ブタ精巣網液-(F), ヒト人工卵管液(当院で作成) (G)の溶液内で培養した(37℃, 5%CO₂ in air)。細胞濃度は1×10⁵/mlに調整し、ほぼconfluentとなった時点より共培養を開始した。(32.0℃, 5%CO₂ in air)③Mediumは2日毎に半分づつ交換し6日間観察した。

【結果】各種培養系における核の偏在、核の濃縮、鞭毛の発生、運動性鞭毛、未熟精子、成熟不動精子、成熟運動精子の各々の割合は[A:25.1%(88/350), 12.2%(43/350), 3.1%(11/350), 1.1%(4/350), 9.7%(34/350), 4.3%(15/350), 0.01%(2/350)], [B:23.6%(224/950), 15.1%(143/950), 7.6%(72/950), 2.5%(24/950), 12.8%(122/950), 5.1%(48/950), 0.2%(2/950)], [C:20.0%(10/50), 16.0%(8/50), 12.0%(6/50), 0, 16.0%(8/50), 6.0%(3/50), 0], [D:20.0%(10/50), 16.0%(8/50), 4.0%(2/50), 0, 12.0%(6/50), 8.0%(4/50), 0], [E:20.0%(10/50), 18.0%(9/50), 6.0%(3/50), 0, 60.0%(3/50), 4.0%(2/50), 0], [F:8.0%(8/100), 6.0%(6/100), 1.0%(1/100), 0, 0, 0, 0], [G:2.0%(2/100), 1.0%(1/100), 1.0%(1/100)] 【結論】生体内では約2~3週間かかるといわれているspermiogenesisが、in vitroでは5日間で終了した理由は不明ではあるが、r Stを体外培養し、運動成熟精子にまで発育できることが確認できた。

O-130

当科における卵管鏡下卵管形成術の成績と予後について

東北大学医学部産科学婦人科学 ○結城 広光, 村上 節, 寺田 幸弘
岡村 州博

【目的】当科における卵管鏡下卵管形成術の臨床成績とその予後について調査すること【対象】平成7年12月から平成11年10月に子宮卵管造影法にて卵管間質部及び峡部閉塞と診断された原発性不妊15例、続発性不妊症11例、閉塞卵管数44卵管を対象とした。手術時平均年齢30.5±3.55歳で平均不妊期間は3.4±1.6年であった。【結果】骨盤内所見からの卵管閉塞原因はクラミジア感染(Chl) 50%、原因不明26%、術後癒着及び骨盤内感染は共に8%、子宮内膜症及び卵管峡部癒着が共に4%であった。卵管再疎通率は56%(再疎通25卵管/閉塞44卵管)、症例あたりの手術完遂率は80.8%(21/26例)で、卵管あたりの原因別手術完遂率は原因不明症例では100%、術後癒着症例で66.7%、子宮内膜症、PIDで50%であったのに対し、Chl症例では44%と低率であった。また、原因別術後卵管再閉塞率は原因不明症例が25%に対しChl症例では71.4%と高率であり、術後IVF-ET移行率は43.5%(10/23例)でその80%はChl症例であった。術後妊娠率は36%(9/25例)で、妊娠例の88.9%が術後12ヵ月以内に妊娠成立していた。

【結論】Microsurgeryと比べ閉塞卵管部の病理診断は得られないが、術後妊娠率はほぼ同等の成績で低侵襲な卵管鏡下卵管形成術はMicrosurgeryあるいはIVF-ETに先行すべき有用な治療法と考える。また、術後卵管通過性を認めた症例は術後1年は自然経過観察可能であると考えられた。

O-131 経卵管采卵管鏡下卵管形成 (TFFT) の適応と妊孕性回復の意義

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○谷垣 伸治, 末岡 浩, 谷垣 礼子
松田 紀子, 土屋 慎一, 浅田 弘法
小澤 伸晃, 久慈 直昭, 宮崎 豊彦
吉村 泰典

【目的】卵管内腔の観察と癒着剥離を行うことを目的として開発された卵管鏡下卵管形成(falloposcopic tuboplasty:FT)システムは、経頸管的にアプローチして全長10cmのeversionによる卵管疎通性の回復が可能である。しかし、卵管遠位部の病変、とくに卵管留水症に代表される膨大部先端から采部における病変に対する治療成績は通過性回復成績および妊娠成績ともに良好なものではない。これに対して、卵管采から逆行性にFTカテーテル挿入し、卵管形成を行う経卵管采卵管鏡下卵管形成(trans-fimbrial FT:TFFT)を施行し、その有効性について検討した。【方法】両側卵管閉塞を適応として、経頸管FT(transcervical FT:TCFT)を行い、カテーテルの到達が不可能であった膨大部遠位の内腔癒着に対して、腹腔鏡下または開腹下に経腹的アプローチによるFT治療を行った。腹腔鏡手術では両側腹部の5mm径鉗子挿入孔からFTカテーテルを腹腔内に挿入し、卵管采側より逆行性にFTカテーテルのeversionを行った。【結果】TFFTは、18例について施行し、その卵管通過性回復成績は患者ベースで17/18(94.4%)であった。TFFTの適応となった遠位部病変を有する対象患者のクラミジア抗体陽性率は10/18(55.6%)を占め、TCFTの対象となった全両側卵管閉塞患者の36.7%に比較し高値を示した。妊娠成績は、経過観察期間が全例2年未満の統計と差を認めなかった。TFFTの適応は卵管留水症および卵管采癒着に代表される卵管周囲に病変を有する例であったが、TCFT後の妊娠例において遠位部病変を対象とした治療後の妊娠成立はこれまでに認められず、TFFTの有効性が示された。【結論】遠位部閉塞とくに卵管留水症に対する治療として、逆行性にFTを施行するTFFTは妊孕性の回復を含めた有効な卵管治療手技であることを示唆し、新たな治療選択肢となることを示した。

O-132 TCR施行症例の術後妊娠の検討

愛知医科大学産婦人科 ○松下 聡, 浅井 光興, 野口 昌良
中西 正美
総合大雄会病院産婦人科 増田 知之, 酒向 香

【目的】Transcervical Resection (TCR)は、粘膜下筋腫、子宮内膜ポリープ、子宮奇形等の子宮腔内病変に対する低侵襲的手術法であり、不妊症における子宮因子の治療に有効である。近年、周辺機器の発達等により急速に普及してきているが、今回、当教室におけるTCR施行症例の術後の妊娠および分娩について検討した。

【対象と成績】平成7年1月～平成11年12月までの間に、愛知医科大学付属病院および総合大雄会病院産婦人科においてTCRを施行した53例中、不妊症および挙児希望を認めた15例を対象とした。TCRの適応疾患は、粘膜下子宮筋腫9例、子宮内膜ポリープ4例、中隔子宮1例、Asherman症候群1例であった。15例中術後8例に妊娠が成立し(内2例はIVF-ETにより妊娠)、術後妊娠許可より妊娠までの平均期間は11.6ヶ月であった。妊娠が成立した8例中、流産が1例、現在妊娠中が1例であり、帝王切開が施行された症例は6例中3例であった。その内TCR施行が帝王切開の適応となった症例は1例であった。また経膈分娩後に子宮破裂を起こした症例があり以下に呈示する。症例は27歳G(1)P(1)で、前回平成7年6月24日(妊娠39週)に3114gの児を経膈分娩している。平成8年9月5日に鶏卵大の子宮筋腫分娩にてTCR施行した。平成10年10月の最終月経をもって自然妊娠し近医にて妊娠管理された。平成11年6月25日(妊娠38週6日)15時59分に3082g、女児を吸引及びクリステル圧出術併用にて分娩し、分娩後不穏状態となったため大雄会病院産婦人科に搬送となった。超音波検査にて腹腔内出血を疑い緊急開腹術施行。(TCRにて筋腫核出した)子宮左側の左円靱帯直下より膈先端に至る子宮破裂を認め、子宮摘出した。

【結論】不妊症に対するTCRの有用性は高いと思われた。またTCR施行後の妊娠・分娩管理には、開腹術の筋腫核出術に準じた慎重さが必要であると思われた。

O-133 不妊患者に対する外来 Transvaginal hydrolaparoscopy (THL) の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○佐藤 雄一, 櫻井 明弘, 中野 義宏
地主 真理, 武内 裕之, 三橋 直樹

【目的】近年晩婚化にともない不妊を訴える患者は増加してきているが、そのスクリーニング検査が充分であるかは疑問である。ダグラス窩より腹腔鏡を挿入し骨盤内を観察する THL は、局所麻酔下に施行可能であり、卵管周囲癒着や内膜症初期病変の診断ができ、卵管の通過性も確認できるため、従来の子宮卵管造影法(HSG)に代わるものとして期待されている。今回局所麻酔下の THL を外来患者に施行したので報告する。

【方法】人工授精を3回以上行っても妊娠せず、子宮が前傾前屈で可動性良好な、手術既往のない機能性不妊患者を適応とし、十分なインフォームドコンセントを得た4例に対して行った。ボルタレン座薬 50mg を挿肛した後、外来処置室にて、ルートキープ、碎石位をとり、イソジンクリームによる腔内洗浄を行った。子宮内腔に小児用 8Fr バルーンを挿入した後、マルチン鉗子にて子宮腔部後唇を把持し、後陰門蓋に2%キシロカイン 2-4ml で局所麻酔を行った。子宮腔部の下 1.5cm の部位に尖刀にて小切開を入れ、3.9mm 径のトロカールを挿入し、生理食塩水を注入しながら腹腔内の観察、卵管色素通水を行った。モニターは患者からも見える位置におき、適宜腹腔内の状態を説明した。スコープ、トロカールシステムはケン・メディカル社のものを使用した。最後に同じスコープで子宮内腔を観察し、腔内洗浄、腔ガーゼを挿入して検査を終了した。

【結果】4例すべてにおいて、局麻下に THL が施行でき、両側卵巣、卵管の観察および通色素検査が可能であった。腹腔内に卵管周囲癒着などの異常を認めた症例はなく、また子宮内腔の異常も認めなかった。平均手術時間は12分、出血は少量、穿刺時軽度の痛みを訴えたが、鎮痛剤の追加を要した症例はなく、また重篤な合併症も認めなかった。

【考察】THL は HSG に比べ、より多くの情報が得られ、不妊治療の方針決定に有用であると思われる。また外来で局麻下に施行可能なので、HSG にかわるスクリーニング検査になりうる可能性が示唆された。

O-134 不妊症患者の子宮筋腫核出術後の妊娠に関する検討

岐阜大学医学部産婦人科 ○青木 生美, 操 良, 古井 辰郎
今井 篤志, 岩垣 重紀, 玉舎 輝彦

【目的】子宮筋腫は、生殖年齢女性の約20%に見られ、しばしば着床障害、習慣性流産の原因となるといわれている。今回我々は、不妊症治療における子宮筋腫核出術の効果および適応を再考するために、過去10年間に子宮筋腫核出術を施行した不妊症患者の術後の妊娠についての調査を行った。【対象と方法】過去10年間に当科で子宮筋腫核出術を行った患者146症例にアンケートを行い、回答が得られた56症例のうちの不妊症症例20例を対象とし、術後に妊娠が成立した10例（妊娠群）と平成12年5月現在妊娠が確認されていない10例（非妊娠群）に分けて検討した。子宮筋腫の大きさに関しては、術前の超音波断層法での測定値を用いた。【結果】平均年齢は妊娠群34.1±2.3歳、非妊娠群36.0±3.2歳で有意差はなく、術前の平均不妊期間は妊娠群5.0±3.7年、非妊娠群7.3±4.3年で有意差を認めないものの、妊娠群では短い傾向にあった。最大筋腫径、筋腫の個数、術中内膜への手術侵襲の有無に関して妊娠群と非妊娠群との間に有意差を認めなかった。非妊娠群では子宮筋腫以外の不妊因子を持つ症例が妊娠群と比較して多かった。非妊娠群では残存筋腫がある症例が妊娠群と比較して多かった。子宮筋腫の発生部位に関する検討では、非妊娠群と比較して、妊娠群において筋層内筋腫および粘膜下筋腫の占める比率が高く、漿膜下筋腫症例が少なかった。妊娠例では術後半年～4年以内（平均2.2年）に妊娠に至っていた。【考察】子宮筋腫が粘膜下および筋層内に存在しており、その他の不妊症の原因がない場合、あるいは原因があり不妊症に対する治療がある程度の期間行われても妊娠に至らない場合には、子宮筋腫が不妊症の原因となっている可能性が考えられる。

O-135 腹腔鏡補助下子宮筋腫核出術の妊娠成立に対する有用性

鈴鹿回生総合病院不妊センター ○磯部 哲也, 田窪伸一郎
 三重大学医学部産科婦人科学 箕浦 博之, 竹内 茂人, 野田 直美
 与那覇 斉, 田中 慶介, 西浦 理佳
 豊田 長康

侵襲の少ない腹腔鏡下手術が普及しつつある昨今、当院不妊センターでは5年前より、子宮筋腫を合併する不妊症患者に対して腹腔鏡を用いた筋腫核出術を行っている。今回我々は腹腔鏡補助下子宮筋腫核出術(LAM)の妊娠成立に対する有用性について検討したので報告する。対象症例は非観血的な人工授精などの不妊治療を反復施行しても妊娠に至らず、子宮筋腫が不妊因子となっていると考えられる11症例である。症例によって術前にGnRHaの投与を行った。癒着剥離術を同時に行った5症例についてはsecond look laparoscopyを施行して再癒着の程度が少ないことを確認した。術中子宮内膜に貫通した3症例については術後にヒステロスコピーで内膜の状態を確認後妊娠を許可した。術後11症例中8例について妊娠成立が確認され、その75%が術後半年以内であった。術後妊娠に至った8症例のうち自然で妊娠したものが5例、AIHによって妊娠したものが2例、その他1例であった。今回の検討により、子宮筋腫を合併する不妊症患者において、LAMは妊娠成立に対して非常に有用であると考えられた。また、複数の不妊因子が考えられる場合に子宮筋腫核出術を優先させるべきかどうかについては今後検討していきたい。

O-136 卵巣チョコレート嚢腫に対する腹腔鏡下手術後の妊娠についての検討

富山県立中央病院産婦人科 ○橋本 学, 舟本 寛, 前 喜代子
 中島 正雄, 飴谷 由佳, 佐竹紳一郎
 小嶋 康夫, 中野 隆, 館野 政也

不妊症の原因の1つとして、子宮内膜症が挙げられる。最近では腹腔鏡下に子宮内膜症性の病変を処置し、妊娠率の向上が認められている。今回は当科における卵巣チョコレート嚢腫に対する腹腔鏡下治療後の妊娠成績について検討を行い報告する。

対象は、当科にて卵巣チョコレート嚢腫に対して腹腔鏡下に手術を施行した104例中、挙児希望のあった56例。

嚢胞は両側性17例(30%)、片側性39例(70%)。嚢胞の大きさ(最大径)は2.1cmから13cmで、平均5.5cmであった。r-AFS分類による総点数の平均は47.8点(18点~150点)であった。

手術後、妊娠は56例中32例(57%)で成立し、その内訳は自然妊娠21例(66%)、体外受精11例(34%)であった。手術症例全体における自然妊娠率は37.5%(21/56)であった。

手術術式は、アルコール固定=29例(52%)、核出術=24例(43%)、アルコール固定+核出術=3例(5%)であったが、アルコール固定後の自然妊娠は9例、核出術後の自然妊娠は10例と術式による差は見られなかった。また、妊娠していない症例では14例がアルコール固定、9例が核出術を施行されていた。ほとんど全ての症例で腹腔内に癒着を認め、癒着剥離術が施行された。

重症子宮内膜症においては、癒着を全て剥離することは困難なことが多い。しかし、当科では可能な限りの癒着剥離と嚢胞に対する処置、病巣焼灼などを行った後、GnRHの投与や、一定期間妊娠に至らない場合には積極的にARTを行っている。子宮内膜症性癒着だけでなく、チョコレート嚢腫が不妊とどのような関係にあるのかはまだ不明な点もあるが、これらに対し腹腔鏡下に処置を行うことで約40%に自然妊娠が成立していることから、有用な治療法であると考えられる。

O-137 多嚢胞性卵巣症候群に対する holmium laser を使用した ovarian drilling の治療成績

済生会神奈川県病院産婦人科 ○岸 郁子, 村田 美穂, 木村 陽子

小西 康博, 中野眞佐男

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 浅田 弘法

【背景および目的】多嚢胞性卵巣は、排卵障害を主訴とする不妊症で受診される頻度の高い疾患である。診断および治療法には未だに議論があるが、排卵障害の治療には、内科的治療すなわちクロミフェンあるいはhMG製剤を用いる方法と、外科的治療すなわち腹腔鏡下の卵巣表面蒸散術（ovarian drilling）の2つの方法がある。今回我々は、Holmium laserを使用したovarian drillingを施行し、良好な排卵率および妊娠率を得たのでここに報告する。

【対象および方法】対象は、済生会神奈川県病院産婦人科不妊外来を受診した排卵障害を主訴とする不妊症患者のうち、ovarian drillingを1997年5月から2000年2月にかけて施行した8症例である。不妊症のスクリーニングにおいて排卵障害以外の原因が見あたらない症例を対象とした。また、多嚢胞性卵巣症候群の診断は、日本産婦人科学会の基準によった。また、今回対象として症例は、クロミフェンを使用しても排卵が不確実であり、かつ、hMG製剤による排卵誘発を行うことにより卵巣過剰刺激症候群となった症例である。治療法は気腹による腹腔鏡下手術でHolmium laserを用いて両側卵巣表面に小孔を約30～60カ所開けるようにして行った。

【結果】すべての症例で治療後に自然排卵周期となった。しかし、1例は2周期は排卵したもののその後無排卵になり、現在はhMG-hCGによる治療を行っているところである。また、累積妊娠率は3ヶ月で13%、6ヶ月で50%、13ヶ月で88%でいずれの妊娠も単胎であった。妊娠症例7例のうち1例の妊娠は体外受精によるものであるが、そのほかの6例は排卵誘発剤を使用しない周期における妊娠であった。このことを考慮に入れて、ovarian drillingの効果によると考えられる妊娠率は13ヶ月で86%であった。

【考察】Holmium laserを用いた卵巣焼灼術は多嚢胞性卵巣症候群の治療に有効な治療方法の一つであると考えられた。

O-138 子宮外妊娠に対する腹腔鏡下手術と自然治癒待機療法についての検討

横浜市立大学医学部産婦人科 ○高島 邦僚, 石川 雅彦, 近藤 芳仁

石山 朋美, 村瀬真里子, 横井 夏子

池田万理郎, 平原 史樹

（目的）近年、子宮外妊娠における腹腔鏡下手術は侵襲度が低く妊孕性を温存できることで注目されており普及している。その一方で、子宮外妊娠の早期診断が可能になり従来であれば診断がつかず治療を行わなくても自然治癒していた症例に対しても手術等の治療が行われる様になり、本来不要であった手術操作による卵管損傷などの問題がクローズアップされてきた。そこで疼痛や出血等の臨床症状が軽微である症例に対して、自然治癒を期待して経過観察する待機療法も注目されるようになってきた。そこで当教室にて経験された子宮外妊娠に対する腹腔鏡下手術症例と自然治癒待機症例の治療成績について検討した。（対象）1991年5月から2000年4月までに当科において子宮外妊娠の診断で腹腔鏡下卵管保存手術を施行した50症例と自然治癒待機症例20症例を対象とした。（結果）腹腔鏡下卵管保存手術症例で外妊存続症へ移行した症例は2例に認められた。また自然治癒待機症例で経過観察のみで自然治癒し得た成功率は60%であった。治療3ヶ月後に施行した子宮卵管造影における卵管疎通性は腹腔鏡下卵管保存手術症例で病側卵管、健側卵管ともに75%、自然治癒待機成功症例で80%であった。治療後1年間における正常妊娠率は腹腔鏡下卵管保存手術症例で40%、自然治癒待機成功症例で50%であり、反復外妊率は腹腔鏡下卵管保存手術症例で16%、自然治癒待機成功症例で13%であった。また治癒判定までに要した期間は腹腔鏡下卵管保存手術症例で平均5.7日、自然治癒待機症例で平均16.3日であった。

（結論）治療後の妊娠予後を考慮すると自然治癒待機療法を選択する意義はあるものと思われる。ただし、治療期間が腹腔鏡下卵管保存手術に比し長期化するために治療法の選択においては十分なインフォームドコンセントが肝要であると考えられる。

O-139

子宮内膜症合併不妊に対する腹腔鏡下手術の検討

浜の町病院産婦人科 ○大隈 明子, 福原 正生, 小野山一郎
渡辺 良嗣, 佐野 正敏, 中村 元一

〔目的〕子宮内膜症合併不妊に対する腹腔鏡下手術について、1) その後の妊娠率、および 2) 腹腔内洗浄のみと、電気焼灼術やレーザー蒸散術との間に妊娠率に差があるか否かについて検討した。〔方法〕平成4年4月より平成11年6月までに当科にて腹腔鏡下手術を施行した578症例中、6ヶ月以内にドロップアウトした症例を除いた522例において、子宮内膜症と診断した192例について検討した。〔成績〕腹腔鏡施行時の平均年齢 32.8 ± 4.0 才、平均不妊期間4年5ヶ月 $\pm$ 2年7ヶ月であった。192例全体での腹腔鏡下診断は子宮内膜症(r-AFS分類)1期90例、2期25例、3期50例、4期27例であった。術後の妊娠数および妊娠率は、192例全体で120例(うちARTは29例)、62.5%(ARTを除く妊娠率(以下除と略す)は60.3%)、1期58例、64.4%(除62.5%)、2期9例、36.0%(除29.4%)、3期32例、64.0%(除61.0%)、4期21例、77.8%(除76.2%)であった。また、1、2期で腹腔内洗浄のみを行った症例における妊娠率は58%(除50.0%)、電気焼灼術またはレーザー蒸散術を行った症例における妊娠率は47.6%(除41.0%)であった。腹腔内洗浄のみと子宮内膜症焼灼、レーザー蒸散との間に妊娠率に有意差を認めなかった。〔結論〕1) 子宮内膜症の進行度は妊娠率に影響しないことが示唆された。2) 1、2期では、大量の生理食塩水による腹腔内洗浄のみでも、その後の妊娠に関して有効であることが示された。

一 般 演 題

(示説発表-moderated poster)

P-1 過排卵ラットを用いた卵巢過剰刺激症候群 (OHSS) 関連分子 VEGF とそのレセプターの発現と Gonadotropin-releasing hormone agonist の効果について

札幌医科大学医学部産婦人科学 ○北島 義盛, 遠藤 俊明, 真名瀬賢吾
西川 鑑, 木谷 保, 逸見 博文
千田 学, 林 巧, 長沢 邦彦
工藤 隆一

〔目的〕 卵巢過剰刺激症候群 (OHSS) は排卵誘発により惹起される医原性の疾患である。今回我々は過排卵ラットを用い OHSS の病因因子の一つである血管内皮増殖因子 (VEGF) とそのレセプターである Flt-1, KDR/Flk-1 についてノーザン法を用い, その mRNA の発現を検討した。また, そのときの Gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) 投与の影響を検討した。〔方法〕 25 日齢 SD 系幼若雌ラットを用い PMSG 50IU を 4 日間連続投与後, 第 5 日目に hCG 25 IU を投与することにより OHSS ラットモデルを作製した (OHSS 群: N=5)。また, このモデルにおける GnRHa 投与の影響を検討するため, 水溶性 leuporelin 100 μ g/日 を hCG 投与開始時より 48 時間後まで投与した (GnRHa1 群: N=5) 群と PMSG 投与開始時より hCG 投与 48 時間後まで投与した (GnRHa2 群: N=5) 群を作製した。control として PMSG 50IU を注射後 56 時間して hCG 25 IU を注射した

(control 群: N=5)。すべての群の卵巢は hCG 投与後 2 日目に採取した。(成績) 卵巢重量は control 群 252 ± 19 mg, OHSS 群 420 ± 40 mg, GnRHa 1 群 279 ± 34 mg, GnRHa 2 群 97 ± 17 mg だった。VEGF mRNA の発現は control 群では OHSS 群の 70% だった。GnRHa1, GnRHa 2 群では OHSS 群に比べそれぞれ約 30%, 約 60% 減少した。Flt-1 mRNA 及び KDR/Flk-1 mRNA 発現は各群で VEGF と同様に变化した。(結論) 過排卵刺激により卵巢重量の増加とともに VEGF mRNA の発現の増加を認めた。GnRHa の投与により卵巢重量の減少とともに VEGF, Flt-1, KDR/Flk-1 mRNA の発現は減少した。

P-2 ラット卵巢内 prostaglandin endoperoxide synthase-2 (PGS-2) の局在とその発現機構

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○勝又木綿子, 安藤 素, 安孫子 泉
杏林大学医学部保健学部* 矢崎 智子, 尾崎 恒男, 小菅 浩章
高橋 康一*, 岩下 光利, 中村 幸雄

〔目的〕 Interleukin-1 β (IL-1 β) は prostaglandin (PG) 産生を刺激し, 排卵過程における重要な trigger と成り得ることを報告してきた。今回, PG 産生の律速酵素の一つである prostaglandin endoperoxide synthase-2 (PGS-2) のラット卵巢内における局在と IL-1 β による作用を検討した。

〔方法〕 25 日齢雌性 SD rat に PMSG-hCG を用い過排卵刺激を行い, Digoxigenin-labeled rat PGS-2 antisense riboprobe を用い, *in situ* hybridization により PGS-2 の局在を検討した。IL-1 β 10 ng/ml を全卵巢培養, 顆粒膜細胞ならびに莢膜細胞培養系に添加し PGS-2 蛋白産生におよぼす作用を Western blot analysis にて検討した。全卵巢培養系に IL-1 β , IL-1 receptor antagonist (RA: 1 μ g/ml) を添加し total RNA を抽出し, RNase protection assay にて PGS-2 mRNA の変化を観察した。同時に PGS-2 蛋白並びに PGE2 産生に関しても検討を加えた。

〔成績〕 *In situ* hybridization により hCG 15IU 投与 12h 後では, PGS-2 mRNA は主として顆粒膜細胞に局在が認められた。IL-1 β 投与により 72-kDa, 59-kDa の PGS-2 蛋白は顆粒膜細胞, 莢膜細胞単独の培養系では有意な変化は認められなかったが, 顆粒膜細胞+莢膜細胞および全卵巢培養系では著明に増加した。IL-1 β は PGS-2 mRNA を control に比べ約 27 倍増加させた ($p < 0.001$)。同時に IL-1 β 投与により PGS-2 蛋白, PGE2 産生は有意に促進された。しかしながらこれらの IL-1 β による促進作用は IL-1RA 添加により完全に抑制された。

〔結論〕 排卵期において PGS-2 mRNA は顆粒膜細胞に主として存在した。IL-1 β は特異的に IL-1 受容体を介し PGS-2 mRNA を発現させ, さらに顆粒膜細胞と莢膜細胞相互の作用により PGS-2 蛋白を産生し, PGE2 産生を促進していることが明らかとなった。

P-3

ラット卵巣顆粒膜細胞における Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) の発現

群馬大学医学部産科婦人科学 ○土屋 恵, 峯岸 敬, 中村 和人
平川 隆史, 安部 和子, 井上 京子
松田 弘子

【目的】 Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) はステロイドホルモン合成の場においてミトコンドリア外膜から内膜への輸送を司る重要な蛋白として知られている。一方 TGF- β は生体における細胞分化をはじめ多種多様の機能を細胞に発現させる成長因子であるが、これまで精巣ライディッヒ細胞や卵巣黄体細胞においてはステロイド合成に対して抑制的に働くとの報告がある。今回、我々は未熟顆粒膜細胞における StAR mRNA の発現と、それを調節する因子の1つと考えられる TGF- β の作用につき検討した。

【方法】 21 日齢幼若雌ラットに diethylstilbestrol (DES) を4日間連日投与したのち卵巣を摘出し、無血清培地にて顆粒膜細胞の初代培養をおこなった。培養顆粒膜細胞に FSH, 8-Br-cAMP をそれぞれ添加し StAR mRNA 発現の経時的・量的変化を cRNA プローブを用いた Northern blot 法にて検討した。次に TGF- β を添加して培養した後さらに FSH を添加した場合、StAR mRNA の発現量にどのような影響を与えるか検討を行った。

【結果】 1) 卵巣顆粒膜細胞において StAR mRNA の発現は FSH 30ng/ml 添加後2時間という短時間で強く誘導され、以後24時間まで時間経過と共に減少した。2) FSH 刺激による StAR mRNA 発現量は、添加する FSH に対し容量依存的に変化した。3) 8-Br-cAMP 1mM を添加し StAR mRNA の発現量の変化をみると、2~6時間でピークとなり以後次第に減少した。4) 8-Br-cAMP の量的変化により StAR mRNA の発現は容量依存的に変化した。5) FSH と同時に TGF- β を添加しても FSH の StAR mRNA 発現誘導に対する影響はみられないが、TGF- β 0~30ng/ml を添加し30時間培養した後 FSH を添加すると TGF- β の容量依存的に StAR mRNA の発現は変化し FSH 単独のものに比べ最大6倍の増強効果がみられた。

【結論】 ラット卵巣顆粒膜細胞において StAR mRNA は cAMP の系をとって誘導され、また TGF- β は FSH による StAR mRNA の誘導作用を増強することが明らかとなった。これらのことから未熟顆粒膜細胞の成熟に伴うステロイド産生のメカニズムにこれらの諸因子が関与していることが示唆された。

P-4

ラット顆粒膜細胞における FSH 受容体 (FSHR), フォリスタチン に対する TGF- β の効果

群馬大学医学部産科婦人科学 ○井上 京子, 峯岸 敬, 中村 和人
五十嵐茂雄, 平川 隆史, 土屋 恵
安部 和子, 松田 弘子

アクチピンは TGF- β スーパーファミリーの一つに分類され、ゴナドトロピンレセプターの発現を促進する物質であることが解っている。TGF- β は、生体内の様々な組織で発現が認められており、卵巣の発育にも、影響を及ぼしていることが示唆されている。今回我々は、ラット顆粒膜細胞における FSH 受容体 (FSHR)、フォリスタチン発現に対する TGF- β の効果を検討した。【方法】 DES 前処理を施した幼若ラットより卵巣を摘出し、無血清培地にて顆粒膜細胞の初代培養を行った。培養24時間後、TGF- β 、フォリスタチン、FSH を添加し cRNA probe を用いたノーザンブロットにて FSHRmRNA、フォリスタチン mRNA の発現を検討した。Actinomycin D 添加後の FSHRmRNA、フォリスタチン mRNA の半減期をコントロール群、TGF- β 添加群と比較した。【成績】 TGF- β (10ng/ml) 添加により FSHRmRNA、フォリスタチン mRNA 発現共にコントロール群より有意な増加を認め、それは用量依存性を認めた。また、TGF- β 添加による FSHRmRNA の増加は FSH (30ng/ml) の同時添加により増強した。TGF- β で増加した mRNA はフォリスタチン添加により抑制を受けなかった。TGF- β は半減期には影響を及ぼさず、mRNA の安定性に影響を与えなかった。【結論】 TGF- β はアクチピン同様 FSHRmRNA、フォリスタチン mRNA の発現を増強する作用があることがわかった。TGF- β は mRNA の半減期に影響を与えないことより、転写レベルでの増強作用が推測された。また、アクチピンとは異なり、同時添加のフォリスタチンにより抑制を受けなかったことより、新たに合成されたフォリスタチンは TGF- β の作用を抑制せず、TGF- β はアクチピンと異なった制御を受けていると推測された。

P-5 マウス卵胞内卵子の体外受精後の発生能と初期胚の染色体分析

東京農工大学大学院連合農学研究科 ○佐々木志野, 吉澤 緑
宇都宮大学農学部

【目的】胚の染色体異常について、ヒトでは実験的検討を行うことは不可能であり、実験動物等を用いての正常性や安全性の確認が不可欠と考えられる。Badenas *et al.* (1989)は排卵時間の2~4時間前に回収されたマウス未受精卵の受精率は低下し、多倍体の出現率が増加したと報告している。本研究では、ホルモン処理により過剰な数の卵胞発育を誘起させた雌マウスより卵胞内卵子を採取し、体外受精を行い、その結果得られた受精卵の発生能と初期胚の染色体を分析した。【方法】F₁(BALB/c×C57BL/6J)未経産雌マウスにPMSGおよびhCGを各5IU腹腔内投与し、hCG投与9、10、11および12時間後に卵胞内卵子を回収し、hCG投与16時間までTYH培地、37℃、5%CO₂、95%空気で前培養した。hCG投与12時間での排卵卵子も4時間培養後、また、対照区としてhCG投与16時間後に排卵卵子を得て、同時に体外受精に供した。2時間前培養した精巢上体尾部精子を 2×10^5 精子/mlの濃度で媒精し、6時間後に卵子をWhitten培地中に移し発生培養した。媒精17時間後に第1卵割期受精卵、また94時間後に桑実胚および胚盤胞の染色体標本を当研究室の常法により作製した。【結果および考察】受精率は卵胞内卵子区で85.2(167/196)~91.7%(144/157)であり、対照区86.8%(211/243)との有意差はみられなかった。第1卵割期における染色体分析において、多倍性を示した胚の割合は卵胞内卵子区で11.6(8/69)~24.2%(46/190)であり、対照区9.5%(20/211)に比べ高かった。胚盤胞への発生は、卵胞内卵子区では61.4(25/35)~67.2%(86/128)であり、対照区84.0%(168/200)に比べ有意($p < 0.05$)に低かった。11H卵胞内卵子区で発生した桑実胚で3倍体の胚が2例みられたが、他区では観察されなかった。この結果より、卵胞内卵子は、受精能を有するが、多精子侵入を受けやすく、また、発生率の低下を示すことが明らかとなり、これらは卵子の成熟が不十分なためであると考えられた。

P-6 マウス未熟卵に対するLPAの体外成熟促進効果の機序の解明

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○小松 淳子, 堤 ゆかり, 森出 直子
山下 瑞穂, 松本 光弘, 檜尾 健二
中川 浩次, 山野 修司, 青野 敏博

【目的】Lysophosphatidic acid (LPA)は卵丘細胞を介してマウス卵の体外成熟を促進する。今回、LPAがどのような機序で体外成熟を促進する効果を示すかについて検討した。

【方法】6~9週齢のB6C3F1雌マウスにPMSG10 IUを投与し、投与48時間後に卵巣より未熟卵を採取し、以下の実験に供した。①200ng/mlのpertussis toxin (PT)を含むかまたは含まないTYH液中で6時間培養した後、各々を 10^{-5} MのLPAを含むかまたは含まないTYH液中で10時間培養した。培養終了後にMII期までの成熟率を検討した。②tyrosine kinase阻害剤であるgenistein (G)30 μ g/ml、PI3K阻害剤であるwortmannin(WT)100nMおよびLY294002 30 μ M、MEK阻害剤であるPD98059 15 μ M、p38MAPK阻害剤であるSB203580 15 μ Mを含むTYH液中で30分間培養した後、各々を 10^{-5} MのLPAを含むかまたは含まないTYH液中で15.5時間培養し、成熟率を比較した。

【成績】①PT、G、PDおよびSBの添加はLPAの体外成熟促進効果を有意に抑制した(PT: LPA群85.3%vs PT+LPA群75.2%; $p < 0.05$; G: LPA群91.2%vs G+LPA群31.0%; $p < 0.0001$; PD&SB: LPA群91.0%vs PD+LPA群69.0%*, SB+LPA群77.4%**; * $p < 0.0005$, ** $p < 0.01$)。

②WTおよびLYの添加ではLPAの成熟促進効果に対する有意な抑制作用は認められなかった。

【結論】LPAは卵丘細胞のGi蛋白にリンクしたreceptorを介しPI3K以外の経路を作動させ、最終的にERKおよびp38MAPK両者を作動させて体外成熟を促進すると考えられた。

P-7 未受精卵に対するエチレングリコール投与後の細胞内カルシウム変化

山形大学医学部産婦人科 ○高橋 俊文, 齋藤 英和

【目的】未受精卵は凍結保存により卵の活性化、表層顆粒の放出、透明帯の変化が起きることが知られている。これらの現象は、いずれも細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加と密接に関係しており、凍結保護剤が原因の一つとして考えられる。今回、凍結保護剤による細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化について検討を加えた。【方法】4-6 週齢の B6C3F1 マウスを過排卵刺激し、hCG 投与後 12.5 時間にて卵管を摘出、卵を採取した。ヒアルロニダーゼ、キモトリプシン処理にて顆粒膜細胞及び透明帯を除去した裸化卵に、 Ca^{2+} 蛍光指示薬 fura-PE3 AM ($3\mu\text{M}$) を負荷し、膜透過型凍結保護剤であるエチレングリコール (EG) 投与後の細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化を測定した。測定は室温 ($21-23^{\circ}\text{C}$) 下に行い、細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化は fura-PE3 の 340nm 及び 380nm に対する蛍光強度比 (F_{340}/F_{380}) を用いた。また細胞外 Ca^{2+} の除去による影響を検討した。【結果】EG 投与後の各濃度 (1%、5%、10%、20%、40%) における最大蛍光強度比はそれぞれ、 0.76 ± 0.02 、 0.98 ± 0.02 、 1.25 ± 0.02 、 1.21 ± 0.01 、 1.12 ± 0.02 であった。細胞外 Ca^{2+} を除去した場合の EG 各濃度 (10%、20%、40%) に対する最大蛍光強度比はそれぞれ、 0.71 ± 0.02 、 1.17 ± 0.02 、 1.07 ± 0.03 であった。また細胞外 Ca^{2+} 存在下では EG 濃度が 1%、5% では細胞膜の破綻は認められなかったが、10%、20%、40% の濃度ではほとんどの卵の細胞膜は破綻していた。細胞外 Ca^{2+} 除去により 10% EG 投与による細胞膜破綻は認められなかったが、20%、40% の濃度では Ca^{2+} 存在下と同様にほぼすべての卵に細胞膜破綻が認められた。【結論】EG 投与により細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加が見られ、高濃度の EG 投与により細胞膜破綻が認められた。この変化は、細胞外 Ca^{2+} 除去によりある程度減弱した。凍結保護剤による細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加を抑制することは、未受精卵の凍結保存に有用であると考えられた。

P-8 Oncostatin M による子宮内膜間質細胞の増殖抑制と分化誘導

鳥取大学医学部産科婦人科 ○大畠 順恵, 月原 悟, 坂本 靖子
山内 延広, 藤井亜希子, 伊藤 雅之
谷口 文紀, 吉田 壮一, 岩部 富夫
原田 省, 寺川 直樹

【目的】Oncostatin M (OSM) は活性化マクロファージおよび T リンパ球から産生される IL-6 ファミリーのサイトカインである。IL-6 は分泌期由来子宮内膜間質細胞の増殖を抑制することを報告したが、本研究では、OSM が正所性および異所性子宮内膜間質細胞の増殖と分化に及ぼす影響を知ることが目的とした。

【方法】手術患者の同意を得て、子宮内膜組織 (増殖期 $n=6$, 分泌期 $n=11$) および卵巣チョコレート嚢胞壁 ($n=9$) を採取し、間質細胞を分離培養した。培養間質細胞における OSM, OSM 受容体 (LIFR, OSMR β) ならびに gp130 の遺伝子発現を RT-PCR 法にて検索した。無血清培養した間質細胞に OSM (0-50 ng/ml) を 72 時間添加し、細胞増殖能を MTT assay で評価した。分泌期子宮内膜間質細胞の培養上清中 PRL を RIA で測定し、COX-2 遺伝子発現を RT-PCR 法で検索することで間質細胞分化の指標とした。

【成績】増殖期および分泌期子宮内膜と内膜症間質細胞のすべてにおいて、OSM, LIFR, OSMR β および gp130 の遺伝子発現が観察された。10 および 50 ng/ml の OSM の添加は分泌期子宮内膜間質細胞の増殖を対照の 66.6% に抑制したが、増殖期子宮内膜と内膜症間質細胞では抑制作用はみられなかった。OSM の添加は分泌期子宮内膜における PRL 産生を有意に増加し、COX-2 遺伝子発現を増強した。

【結論】OSM はその受容体と gp130 を介して子宮内膜の増殖と分化に関与する可能性が初めて示された。一方、子宮内膜症では正所性子宮内膜で観察される IL-6 ファミリーによる増殖抑制機構からの逸脱が示唆された。

P-9 ヒト子宮内膜における μ -カルパインの存在と、その活性化によるインテグリンへの影響

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○青山 和史, 尾崎 康彦, 鈴木 由佳
名古屋市立城西病院* 佐藤 剛, 松原 寛和, 青木 耕治*
生田 克夫, 鈴森 薫

【目的】不妊症や不育症の原因のひとつとして考えられている子宮内膜の血流量の減少が、子宮内膜の低酸素状態を惹起している可能性がある。今回我々はヒト子宮内膜のシステインプロテアーゼである μ -カルパインの存在と、その活性化によるインテグリンの動態を検討した。【方法】カルパインの存在と動態を当教室で作成した pro μ -カルパイン、活性型カルパイン及びドメイン III に対する抗体で、またインテグリンは $\beta 1$ 、3 サブユニット細胞内ドメインに対する抗体で検索した。本人同意のもと手術時に得た正常月経周期を有する子宮内膜組織より常法によって分離培養した子宮内膜上皮と間質細胞を培養実験に用いた。同細胞を低酸素条件下培養し上記抗体を用いた共焦点レーザー顕微鏡で観察した免疫染色法と SDS-PAGE、Western Blotting 法でカルパインとインテグリンの動態を検討した。【成績】子宮内膜上皮と間質細胞で抗 pro μ -カルパイン抗体の染色性が主に細胞質に観察され低酸素培養下でその染色性が低下し、また抗活性型カルパイン抗体の染色性が増加した。Western Blotting 法では低酸素培養下で抗 pro μ -カルパイン抗体の染色性の低下、活性型 μ -カルパイン抗体の染色性の増加とドメイン III 抗体によるカルパインの低分子化が観察された。免疫染色法で細胞質の細胞膜近傍に観察された抗インテグリン $\beta 1$ 、3 抗体の染色性と、Western Blotting 法による染色性が低酸素培養によって減少した。【結論】子宮内膜上皮と間質細胞の細胞質に存在する μ -カルパインが低酸素状態で活性化され、子宮内膜インテグリンの細胞内ドメインを分解することで、インテグリンの機能を障害することが示唆された。

P-10 ヒト正常子宮内膜における iNOS と caspase-3 の免疫組織学的発現の検討：月経発来メカニズムへの寄与の可能性

東北大学医学部産科学婦人科学 ○今野 良, 村上 節, 岡村 州博

【目的】NOは細胞障害作用を持ち、アポトーシスを誘導するといわれてきたが、最近、反対のアポトーシス拮抗作用が報告されている。iNOS(inducible nitric oxide synthase)と caspase-3 蛋白のヒト正常子宮内膜における発現を検討し、月経発来メカニズムにおける役割を考察した。

【対象と方法】正常子宮内膜(N=28:インフォームド Consent 済み:年齢 36-50 歳、mean $\pm$ SD42.3 $\pm$ 4.11 歳; 4 増殖期早期、4 増殖期中期、4 増殖期後期、4 分泌期早期、4 分泌期中期、4 分泌期後期、4 月経期)における iNOS と caspase-3 の発現を免疫組織化学染色で、アポトーシスを TUNEL 法で検出した。

【結果】iNOS の発現は分泌期中期に最も強く、内膜腺上皮、間質の螺旋動脈、マクロファージに局在した。内膜腺上皮の caspase-3 陽性細胞とアポトーシス細胞はともに、分泌期後期以降増加し、強い正の相関関係を示した。腺上皮の iNOS 陽性細胞数とアポトーシス細胞数の間に相関はみられなかった。一方、iNOS/caspase-3 の比を計算すると、分泌期早期・中期にピークを持ち、月経期に向けて次第に低下した。iNOS/caspase-3 比と腺上皮アポトーシス細胞出現率は負の相関関係を示した。

【結論】iNOS に由来する NO は、分泌期子宮内膜で 2 つの異なった機能を持つものと思われる。すなわち、腺上皮におけるアポトーシス拮抗作用 (autocrine) と間質における血管拡張作用 (paracrine) である。

P-11 精索静脈瘤患者の治療成績—高度乏精子症症例について—

富山医科薬科大学泌尿器科学教室 ○岩崎 雅志, 村上 康一, 野崎 哲夫
太田昌一郎, 布施 秀樹

〔目的〕精索静脈瘤のうち高度乏精子症を呈する症例の治療成績についての報告は必ずしも多いとはいえない。そこで、今回その治療成績とともに、予後を予測するパラメーターについて検討した。(対象および方法) 不妊を主訴に富山医科薬科大学附属病院泌尿器科を受診し、触診にて精索静脈瘤と診断し腹腔鏡下内精静脈高位結紮術を施行した症例のうち精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の高度乏精子症26例を対象とした。年齢は24歳~45歳、平均33.1歳であった。患側は左側:16例、両側:10例であり、gradeの判定は鈴木の種類を用いた。精巣重量、gradeおよび血中ホルモン値(LH, FSHおよびテストステロン)、精巣組織所見の検討を行うとともに、手術前および術後3ヵ月において通常の精液検査を施行した。妊娠の有無についても検討した。(結果)精子濃度を $5 \times 10^6/\text{ml}$ 未満(I群)および $5 \times 10^6/\text{ml} \sim 10 \times 10^6/\text{ml}$ (II群)に分けて検討すると、I群は21例、II群は5例であった。治療前後の精液検査の各種パラメーターの推移では、両群ともいずれのパラメーターも術後増加がみられ、I群では精子濃度および精子運動率で、II群では精子濃度にて有意差を認めた(それぞれ $p < 0.05$)。精液所見の改善は寺田の基準を用いると13例(50%)に認められ、I群で10例(47.6%)、II群で3例(60%)であった。妊娠はI群で6例(28.6%)、II群で3例(60%)であり、II群において高率であった。妊娠の有無と各種パラメーターとの関係について検討すると、I群およびII群とも精液量、精子濃度、精子運動率、精巣重量、精巣組織のジョンセンスコアカウントは妊娠例においていずれも高値、一方、血中FSH値およびgradeは、妊娠例において低値を示したが有意差は認められなかった。(結語)高度乏精子症においてもその治療成績は比較的良好な結果であった。術前の各種パラメーターのうち、特に精子濃度が有用であると思われた。

P-12 c-kit 陽性 spermatogonia と造精機能障害の関与

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○谷垣 礼子, 末岡 浩, 松田 紀子
川崎市立川崎病院産婦人科* 土屋 慎一, 福地 智恵, 岩田 壮吉*
浅田 弘法, 小澤 伸晃, 久慈 直昭
吉村 泰典

〔目的〕c-kit は遺伝子解析により同定された protooncogene の 1 つであり、正常精巢の Leydig 細胞および spermatogonia に存在し、分化増殖への関与が示唆されている。ホモおよびヘテロの c-kit mutant マウスを用いて germ cell における c-kit の発現を flow cytometry で分析し、精子形成過程での障害の分化 stage に関わる c-kit の関与を検索する。〔方法〕生後 10 日齢、4 週齢および 11 週齢マウス WBB6F1 (wild type +/+), 細胞膜貫通部を含む 78 個のアミノ酸の欠落がある突然変異のヘテロ $W^+/+$, 660 番目のアミノ酸の点突然変異のヘテロ $W^w/+$, 機能喪失性突然変異遺伝子を 2 個持つ W^w/W^w を使用した。各マウスより精巣細胞を分離し、抗マウス c-kit 抗体 (CD117) と反応させ、flow cytometry で c-kit 陽性細胞率を解析した。〔成績〕生後 10 日齢の幼若 wild type マウスでは c-kit 陽性細胞率は 3.8%であったのに対し、生後 4 週齢および 11 週齢の性成熟マウスでは 0.5%であった。また生後 10 日齢、4 週齢および 11 週齢のヘテロ mutant マウスにおける精巣細胞数、精巣重量は wildtype マウスと大きな差はなく、抗 c-kit 抗体陽性細胞の比率は低値を示す傾向にあり、ヘテロ mutant では精子形成の大きな抑制は認められなかったが、 W/W^w mutant マウスでは wildtype およびヘテロの精巣に比較し、精巣重量、精巣細胞数および c-kit 陽性細胞数は有意に低下していた。しかし、 W/W^w mutant マウスの c-kit 陽性率は 1.2~3.5%と高く、精子形成の強い抑制と maturation arrest の状態が示された。〔結論〕c-kit は精子形成過程の初期段階に深く関与し、男性不妊とくに maturation arrest の発生にかかわる因子であることが示唆された。

P-13 精巣腫瘍症例における造精機能障害と患側精巣摘除術後の精液所見の推移

東邦大学医学部泌尿器科学第一講座 ○野澤 英雄, 三浦 一陽, 工藤 貴正
吉田 淳, 永尾 光一, 原 啓
石井 延久

【目的】精巣腫瘍症例では患側精巣摘除前よりすでに造精機能は低下しているとの報告を認める。しかし患側精巣摘除後の造精機能の自然経過についての報告は少ない。そこで初診時の所見とともに患側精巣摘除後の造精機能の推移について検討した。【対象と方法】対象は1992年から1999年に術前に精液所見および内分泌学的所見を確認できた精巣腫瘍症例36例(21歳～51歳)である。このうち術後に放射線療法や化学療法などの追加療法を施行しなかった17例については、精液所見および内分泌学的所見の自然経過についても検討を行った。【結果】術前精子濃度は $20 \times 10^6/\text{ml}$ 未満20例(55.6%), そのうち無精子症は4例(11.1%)であり、 $60 \times 10^6/\text{ml}$ 以上は5例(13.9%)であった。無精子症を除く32例のうち、術前精子運動率は40%未満16例(50.0%), そのうち10%以下は4例(12.5%)であり、60%以上は8例(25.0%)であった。また健側精巣容積は $4\text{ml} \sim 25\text{ml}$ ($11.1 \pm 4.5\text{ml}$)であった。術後に追加療法を施行せず、術後9カ月～12カ月の精液所見を検討できた17例のうち、術前値と比較して精子濃度の50%以上の改善が得られた症例は11例(64.7%), 50%以上の悪化を認めた症例は2例(11.8%)であり、 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の症例は7例から5例に減少し $60 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の症例は2例から8例に増加した。また術前値と比較して精子運動率の50%以上の改善が得られた症例は7例(41.2%), 50%以上の悪化を認めた症例はなく、60%以上の症例は4例から8例に増加し40%未満の症例は9例から4例に減少した。特に術前血清HCGが高値で血清LH・FSHの著明な抑制を認めた7例では、術後の血清HCGの正常化に伴い著明な精液所見の改善を認めるとともに、精巣容積の増大傾向を認めた。【結語】精巣腫瘍症例の半数以上の症例に造精機能障害を認めたが、患側精巣摘除後に精液所見の改善をみる症例が多数存在した。

P-14 SQA II C と CASA による精子運動機能評価法の比較検討

自治医科大学産科婦人科学 ○鈴木 達也, 柴原 浩章, 藤原 寛行
高見澤 聡, 小川 修一, 出居 貞義
佐藤 郁夫
自治医科大学附属病院臨床検査部 角田 啓道

【目的】種々の精子機能検査法が男性不妊症診断の補助的手段として利用されてきた。このうちCASA(computer-aided semen analysis)は精子の自動的、客観的な評価法であるが、装置自体が高価格であるため、広く一般に普及していないのが現状である。今回我々は CASA と比し安価で簡便な精液自動分析装置 Sperm Quality Analyzer(SQA)の改良器である SQA II C を使用する機会を得たので、その診断的価値に関して CASA との比較検討を行った。

【方法】当科不妊外来に通院中で同意を得た 71 症例(精液検査 26 症例、AIH 39 症例、IVF-ET 6 症例)の新鮮射出精液 71 検体を用い、SQA II C および CASA による精液分析を同時に施行した。

【成績】SQA II C で測定した精子の運動能力を表す指数である SMI(sperm motility index)値、および形態的に正常で運動性が良好な精子濃度を表す FSC(functional sperm concentration)値は各々 230.6 ± 148.5 unit, $39.0 \pm 35.2 \times 10^6/\text{ml}$ (平均 $\pm$ SD)であった。一方 CASA による精子濃度、精子運動率、運動精子濃度は $105.7 \pm 80.8 \times 10^6/\text{ml}$, $51.4 \pm 27.3\%$, $70.1 \pm 72.3 \times 10^6/\text{ml}$ であった。また Kruger による精子形態正常率は $19.0 \pm 8.6\%$ であった。SMI および FSC とも CASA による精液所見、精子形態正常率のいずれとも正の相関性を示した(いずれも $p < 0.0001$)。

【結論】SQA II C は男性不妊症の診療を行う上で、簡便性、経済性において有用な診断法となりうる可能性が示唆された。

P-15

精子核膨化と核蛋白の免疫蛍光分析

川崎市立川崎病院産婦人科 ○岩田 壮吉

立川病院産婦人科 大澤 淑子

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 末岡 浩, 谷垣 礼子, 吉村 泰典

【目的】精子核の凝縮・脱凝縮は遺伝情報を確実に伝達して、受精に導く重要な過程であり、そこには核蛋白が大きく関与していると考えられている。精子特異的核蛋白プロタミンに対する抗体を作製し、核蛋白の置換および精子核膨化に関する検討を行うことを目的とした。【方法】抗プロタミン1ポリクローナル抗体は1次構造に基づくepitope解析から15アミノ酸残基選択による合成ペプチドを抗原として作製した。まず核蛋白を抽出しSDS-PAGE および Western blotting 法により核蛋白分布を解析した。ここで精子核蛋白は、sonication 処理後に尾部を除去した精子核に0.05% lysolecithin 処理及び1.0M NaCl - 5 mM dithiothreitol 液を添加し、膨化させた上で、35% 酢酸で溶解し抽出した。次に精子核膨化を直接顕顕下で観察するために、抗プロタミン1抗体、次いで FITC 標識 2 次抗体を添加した後、5 mM dithiothreitol (以下 5mM DTT) と 1.0M NaCl を用いて膨化実験を行い、蛍光下で経時変化を評価した。【成績】Western blotting 法により、12kDa に抗プロタミン1抗体反応蛋白バンドを検出した。SDS-PAGE においては densitometer を用いた解析により、プロタミン分画が占める割合は約 78% であった。また 5mM DTT 未処理の精子核には抗プロタミン1抗体は結合せず発色が見られなかったが、5mM DTT により還元処理された精子核の場合は蛍光下で発色し、1.0M NaCl 添加により急速な膨化が観察された。【結論】成熟精子核は強く凝縮し、抗プロタミン1抗体は結合しなかったが、5mMDTT 処理によりジスルフィド結合が還元され、抗体の結合が可能となり、蛍光下に精子核膨化が観察された。核蛋白はヒストンからプロタミンに置換されるほど安定することが予想されたが、実際は成熟精子核でも置換は不完全であることが示され、脱凝縮との関連は残存ヒストンやプロタミンの isotype の相違による可能性が示唆された。

P-16

精子の DNA fragmentation について

藤野婦人科クリニック ○濱野 晃浩, 宮田 広敏, 福本 純代

横山 綾子, 沖村 匡史, 竹内 和美

西本 真弓, 藤野 祐司

【目的】これまで、活性酸素は精子におけるDNA fragmentationを増加させると考えられている。一方、精子のチオール基-ジスルフィド基の状態はそれらの結合によりDNA fragmentationの発現性をコントロールしている可能性も考えられている。そこで今回、DTT(ジチオスレイトール)処理しチオール基(-SH)を発現させた精子とNEM(N-エチルmaleimide)処理してチオール基を酸化させジスルフィド基(-S-S-)を発現させた精子を用いてDNA fragmentationに対する発現性を検討した。

【材料と方法】当院において同意のもとに得られた射精精子を30分間室温で放置し、調整の後、以下の検討に用いた。DTTを作用させた精子と、その後NEMを作用させた精子をチオール基の発現の有無を見るためビマン染色を行った。また、精子におけるDNA fragmentationの発現の有無に関してTUNEL法で検討した。

【結果】未処理精子で $7.0 \pm 2.1\%$ のDNA fragmentationが認められた。キサンチン/キサンチンオキシダーゼ(X/XO)に暴露された精子は、暴露後30分でDNA fragmentationの発現が $22.6 \pm 1.1\%$ に増加した。ビマン染色の陽性率はDTT処理後100%、NEM処理後0%であった。一方、DTT及びNEM処理された精子のDNA fragmentationは、それぞれ $27.5 \pm 1.3\%$ 、 $6.2 \pm 2.7\%$ であった。

【結論】DTT 処理により、全ての精子はチオール基(-SH)を発現し、ビマンにより染色された。一方、NEM処理された精子はビマン染色されなかった。このことから精子が精巣上体を通過する際にチオール基(-SH)からより強い構造であるジスルフィド基(-S-S-)へ酸化され、DNA fragmentationを起こしにくい構造へ変化しているものと推測される。

P-17

精子細胞膜蛋白 CD46 の発現と受精能の検討

新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○鈴木 美奈, 永田 裕子, 小島 由美
 松下 宏, 菅谷 進, 藤田 和之
 倉林 工, 田中 憲一

【目的】男性不妊症の中には、精子濃度、運動率など通常の精子パラメータでは異常を認めないにもかかわらず、精子の受精能が著しく欠落している症例が存在する。CD46 抗原は、先体反応を終了した精子において露出した先体内膜に存在し、補体を介して卵細胞膜上の補体レセプターと結合、受精に関与するといわれている。そこで、精子細胞膜上 CD46 の発現を flowcytometry により定量的に測定し、受精率との関連を検討した。【方法】体外受精、胚移植症例で、3 個以上の比較的良好卵が採卵可能であった症例を対象とし、インフォームドコンセントを得たうえで、実際に媒精された精子を使用した。射出精子から swim up 法により運動良好精子を回収し、採卵 4 時間後、50 万/ml の精子濃度にて媒精した。20 時間後に medium change を行い精子を回収した。媒精から 2 4 時間後 (A 群 14 例)、または 36 時間後 (B 群 18 例) にその精子 100 万個を抗 CD46 単クローン抗体 (一次抗体) と反応させ、続いて FITC 標識をした二次抗体により染色し、FACS にて陽性細胞を測定し受精率との相関みた。【結果】A 群において、受精率 ($77.9 \pm 18.1\%$) と CD46 陽性率 ($22.03 \pm 6.10\%$) に有意な相関が認められた ($r=0.535, P=0.047$)。B 群においては、有意な相関は認められなかった ($r=0.183, P=0.473$)。【結論】射出 24 時間後の精子細胞膜上 CD46 の定量は精子受精能力のスクリーニング検査になり得る可能性が示唆された

P-18

ヒト精子先体反応へのプリン受容体の関与

明治薬科大学臨床薬理¹⁾ ○小室 浩¹⁾ 兼子 智^{2,3)}
 東京歯科大学市川総合病院産婦人科²⁾ 竹内 幸一¹⁾ 田辺 清男²⁾
 CREST³⁾

【目的】精子先体反応 (AR) は精液中では誘起しないが、洗浄により精漿を除去すると自発的に誘起し、血漿は AR 誘起を促進する。われわれは精漿および血漿の ATP/adenosine (Ado) 比を観察した結果、精漿では Ado が血漿では ATP が優位であることを見いだした。すでに AR 誘起が Ado により濃度依存的に阻止されることを報告した。今回、ATP および ATP (P2) 受容体の AR 誘起機構への関与を検討した。

【方法】ヒト精液はインフォームドコンセントを得た上、ボランティアから供された。精子は精漿 ATPase を除去するため 50-99% Percoll 直線密度勾配法により洗浄後、精子濃度 $1 \times 10^7 / \text{ml}$ となるようにハックス液に懸濁した。各種薬物を添加して、37°C、1 時間培養後、FITC-コンカナバリン A と PI の 2 重染色法により AR 誘起率を観察した。

【結果】ATP は濃度依存的に AR 誘起を促進し、P2 受容体アゴニスト ($\beta \gamma \text{MeATP}$) も同様な作用を示した。UTP は ATP に比してさらに低濃度で AR 誘起を促進した。ATP、UTP の作用は P2 受容体のアンタゴニスト (スラミン) により拮抗された。PKC 阻害剤のカルフォスチン C により AR 誘起が抑制された。

【考察】以上の結果は、ATP が P2 受容体を介して AR 誘起に関与する可能性を示唆している。UTP が ATP 様の作用を示したことから、P2 受容体サブタイプである P2U (P2Y2/4) 受容体が存在することが推測された。

P2U 受容体は Gq とリンクしており、PKC を活性化する。カルフォスチン C が AR 誘起を抑制したことは、AR への P2U 受容体 - PKC 系の関与を示唆している。

P-19 顕微鏡下精巣内精子採取と細胞質内精子注入法併用による無精子症の治療経験

洛和会音羽病院泌尿器科 ○七里 泰正, 塩山 力也, 北村 健
西村 昌則

【目的】顕微鏡下精巣内精子採取 (Microdissection TESE: 以下 MD-TESE) と細胞質内精子注入法 (ICSI) により非閉塞性無精子症の挙児可能性は上昇したと思われる。当科の MD-TESE の手技、結果、有用性および問題点につき検討する。【対象】28~40 歳の無精子症 7 例 (うち 4 例の 98 年以前の生検は Sertoli cell only が 2 例、maturation arrest が 2 例、うち 1 例は 96~97 年の PESA、TESE 無効例、残り 2 例は精巣萎縮のある fresh な非閉塞性無精子症、染色体異常は 47XXY、46XXYdel(13:14)(q10:q10) が各 1 例。) で、FSH 値は maturation arrest 例が正常でそれ以外は正常上限の 3 倍以上であった。【方法】精巣上体対側の白膜を白膜直下および実質内動脈を可及的に温存しつつ、広く顕微鏡下に切開、20~25 倍拡大下に白~淡黄色で膨化のない精細管を 4~5 本ずつ採取し TESE を施行する。一側精巣につき 15~30 ヶ所で手術時間 59~115 分であった。採取精子は凍結保存、後日 ICSI に供した。【結果】7 例中 5 例 (47XXY 例含む) で成熟精子を、2 例 (46XXYdel(13:14)(q10:q10) 例含む) で尾部欠損精子を採取した。ICSI 施行 5 例中 3 例は妊娠不成立、2 例は授精卵を凍結保存中で、未施行 2 例 (47XXY 例含む) は採取精子を凍結保存中である。術前精巣萎縮の強かった 4 例中 2 例で術後無症状ながらテストステロンの正常値下限以下の低下を認めた。【考察】MD-TESE 採取精子の凍結保存 + 後日 ICSI は良好な精子採取率と先行精巣生検回避の点で有用だが、萎縮精巣例における (1) 手術侵襲に比し採取精子が少なく質が悪いこと (2) テストステロン低下と再 MD-TESE の困難さ、また (3) 染色体異常例の取り扱いが今後の課題と思われた。

P-20 精漿成分内のマウス初期胚発育抑制因子の検討

藤田保健衛生大学産婦人科 ○門脇 恵, 澤田 富夫, 大橋 由政
宇田川康博

【目的】体外受精における精子処理は極めて重要な手技段階と考えられる。即ち、精漿洗浄を十分に行った洗浄精子による媒精は不十分な処理によるものに比べ受精率・分割率に差を認めないが、フラグメント胚が高率に発生する。この原因として洗浄不十分な精子では精漿内に存在すると考えられる胚発育抑制因子が精子と共に卵子内に取り込まれていると推測される。本検討ではこの抑制因子のマウス初期胚発育に及ぼす影響を検討した。【方法】7 週令 B6C3F1 雌マウスを PMSG 5IU, hCG 5IU にて過排卵させ 2 細胞期胚を回収した。精漿はヒト精液をインフォームド・コンセントのもと実験に供した。精液洗浄を一回行ったもの (S-1 群)、二回行ったもの (S-2 群) をそれぞれ 10%・5%・1%・0.5% 濃度にて培養液中に添加し添加後の発育を観察した。さらに添加時期を変え同様の検討を行った。【成績】本院における一時期のフラグメント発生率は受精率 71.3%、分割率 70.0% のうち 63.3% と高率で通常のフラグメント率 33.1% に対して有意に高率であった。マウス初期胚に対してはコントロール群の胚形成率 45% に比べ、S-1 群では 0%・0%・5%・50% を示し、一方 S-2 群では 0%・0%・2%・56% と両群とも濃度依存性に抑制した。また、S-1 群と S-2 群の間には有意ではないが S-2 群で抑制率が高い傾向が見られた。さらに 3 日目添加に比べ 1 日目添加において抑制傾向が強く見られた。【結論】精漿内にはマウス初期胚発育を抑制する因子の存在が示唆され、それは濃度依存性に働いている。また、二回洗浄精漿内により強く認められることから、抑制因子は遠心操作により精子表面から遊離脱落してくるものと考えられた。

P-21 男性因子を有しない性交後検査不良例における精子不動化試験の有用性について

愛知医科大学産婦人科 ○新美 眞, 浅井 光興, 前田 佳子
佐藤 英子, 鈴木 正利, 野口 昌良
中西 正美

【目的】精液検査で異常を認めない症例においても、性交後検査が不良な症例を時々経験するが、必ずしも抗精子抗体は陽性ではない。そこで、女性不妊因子のない症例で、精液検査に異常を認めず性交後検査が不良であった症例に、妻血清を含有した培養液中での夫精子の運動率の変化について検討した。

【方法】対象は、精液検査で精子濃度や運動率に異常を認めず、複数回の性交後検査にて頸管粘液中に運動精子を認めない夫婦21組である。夫婦には精子不動化試験の方法などについて説明し、夫婦の承諾を得てから行った。平均不妊期間は 4.3 ± 1.8 年で、妻の平均年齢は 30.8 ± 3.8 才、夫の平均年齢は 32.9 ± 4.9 才であった。精子不動化試験の方法は、培養液として10%妻血清または10%コントロール血清 (Serum Substitute Supplement) を含んだHTFを用い、80%パーコール単層法およびswim up法にて分離・回収した夫またはコントロールの運動精子を、各々の培養液中に約 1×10^7 /mlの濃度で加えた4通りの組み合わせで精子運動率を観察した。

【成績】精子不動化試験で異常を認めなかった症例は、21例中10例であった。残りの11例では、夫精子そのものに問題があるもの2例、抗精子抗体の存在が疑われたもの6例、患者精子に特異的な抗精子抗体が疑われたもの3例であった。抗精子抗体が強陽性であった1例では、精子不動化に要した時間は7分であった。治療としては、精子不動化試験ですべての精子が12時間以内に不動化する症例にはIVF-ETを選択したが、それ以外の精子不動化試験陽性の8症例にAIHを施行した。良好精子分離後の精子濃度に差はなかったが、6時間後の精子運動率が50%以上の4例が妊娠した。精子不動化試験陰性例10例には、AIHを施行し良好精子分離後の精子濃度が高かった4例が妊娠した。

【結論】抗精子抗体検査が陰性でも精子不動化抗体の保有を推測される症例があるため、性交後検査不良例には積極的に精子不動化試験を行う必要がある。このことによりその後の治療法の適切な選択が可能となる。

P-22 子宮内膜間質細胞の cytokine 産生に対する interferon- γ および IL-4 の作用

大分医科大学産科婦人科学教室 ○奈須 家栄, 浦田健一郎, 栖原 久司
河野 康志, 宮川 勇生

【目的】子宮内膜間質細胞 (ESC) は interleukin (IL)-6, IL-8, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) などの cytokine を産生する。これらの cytokine は月経、細菌感染、着床、妊娠の維持に重要な役割を果たしている。近年、妊娠の維持には Th1/Th2 bias が重要であり、正常妊娠では Th2 優位となることが報告されている。また、習慣性流産では Th1/Th2 bias が異常であると言われている。我々は、妊娠時に局所で産生される Th1/Th2 cytokine として interferon- γ (IFN- γ)、IL-4 に着目し、ESC における IL-6、IL-8、MCP-1 および M-CSF 産生に対する作用について検討した。

【方法】子宮筋腫の手術時に採取した増殖期後期の子宮内膜を用いて、collagenase 処理により ESC を分離、培養した。6-well plate で培養した ESC に IFN- γ (0.01~100U/ml)、IL-4 (0.001~1ng/ml) を添加し、24時間後に上清を回収した。上清中の IL-6、IL-8、MCP-1 および M-CSF 濃度を ELISA 法を用いて測定した。

【成績】無刺激では少量の IL-6、IL-8、MCP-1 および M-CSF の分泌が認められた。IL-6、MCP-1 および M-CSF の産生は IFN- γ の濃度依存性に増加したが、IL-8 の産生は IFN- γ の濃度依存性に減少した。また IL-4 の添加により、IL-6、IL-8、MCP-1 および M-CSF の産生は濃度依存性に増加した。

【結論】IFN- γ 、IL-4 は ESC の cytokine 産生を調節することにより、脱着膜の炎症細胞の機能や分布をコントロールし、妊娠の成立、維持に関与していると考えられる。妊娠の維持には Th1/Th2 bias が重要であるといわれているが、子宮内膜における Th1/Th2 cytokine の働きは複雑に絡み合っており、cytokine network の全容の解明にはさらに詳細な検討が必要であると考えられる。

P-23

子宮内膜症、子宮腺筋症、および子宮筋腫と
エストロゲン受容体 α の遺伝子多型の関連

京都府立医科大学産婦人科学教室 ○石原 広章, 北脇 城, 門 紀子
小柴 寿人, 楠木 泉, 塚本 克美
本庄 英雄

[目的] 子宮内膜症, 子宮腺筋症, 子宮筋腫は性成熟期女性に好発し, 閉経や卵巣摘出により退縮することから, その増殖はエストロゲン依存性であると考えられる. 最近, エストロゲン受容体 α (ER α) の遺伝子多型が骨塩量に関連することが指摘され, 遺伝子型の違いによって局所のエストロゲン作用が異なることが示唆されている. そこで今回, 頭書の疾患とER α の遺伝子多型の関連について検討した. [方法] 月経周期を有する女性 (24~48歳) を対象として, 開腹術または腹腔鏡により病理学的に診断した子宮内膜症(E群, $n = 109$), 子宮内膜症を有さない子宮腺筋症および子宮筋腫 (non-E群, $n = 67$), 子宮頸部上皮内癌以外には婦人科疾患を有さないdisease-free (DF群, $n = 27$) の3群に分類した. さらに, 住民検診を受けた女性を対照 (R群, $n = 179$) とした. 個人から同意を得て採取した末梢血よりDNAを抽出し, ER α 遺伝子のイントロン1上の1塩基多型を制限酵素PvuIIを用いたPCR-RFLP法により解析した. [成績] 遺伝子型PP, Pp, ppの分布は, E群では13:54:33 (%), non-E群では15:52:33と同様であったが, DF群では44:44:11と, E群 ($P = 0.0005$) およびnon-E群 ($P = 0.005$) と異なっていた. R群は24:40:36とDF群 ($P = 0.016$) あるいはE群 ($P = 0.022$) のいずれとも異なっていた. E群, non-E群ではPPの頻度が少なく, DF群ではppが少ないことが示された. また, E群において, 子宮腺筋症または子宮筋腫を合併する群とそのどちらでも合併しない群, チョコレート嚢腫がある群とない群, Re-AFS分類でstage I およびIIの軽症群とstage IIIおよびIVの重症群のいずれの間においても, 有意な差を認めなかった. [結論] 遺伝子型がPPの女性は, Ppやppに比して骨塩量が高いことからERの機能が強い可能性が推定されるが, 逆にPP型はエストロゲン依存性の良性子宮疾患に対してprotectiveである可能性が示された. ER α 遺伝子のPvuII遺伝子多型が, 子宮内膜症, 子宮腺筋症, 子宮筋腫と関連することが示唆された.

P-24

子宮内膜症腹膜病変間質部における GnRH Receptor 発現と
GnRH agonist, GnRH antagonist の線維芽細胞, マクロファージ
に対する作用

岡山大学医学部産科婦人科 ○羽原 俊宏, 中塚 幹也, 野口 聡一
浅桐 和男, 高田 雅代, 小西 秀樹
工藤 尚文

子宮内膜症腹膜病変には, 子宮内膜類似の腺上皮とともに間質細胞の増殖が見られる. 線維芽細胞, マクロファージ, 血管内皮細胞など, 腺組織を取りまく細胞は, 子宮内膜症組織の増殖に大きな役割を果たしていると考えられるが, 依然としてその説明はなされていない. GnRH agonist, GnRH antagonist は, 生体内ではエストロゲン低下により, 子宮内膜症の増殖を抑制する. しかし, 各種細胞へのReceptorを介した, あるいは介さない作用も知られている. そこで, これらの薬剤の線維芽細胞やマクロファージに対する作用を検討した.

[方法] 腹腔鏡検査施行時に生検された子宮内膜症腹膜病変を病理診断ののち, 同意のもと使用し, 免疫組織染色にてGnRH receptorの局在を検討した. 線維芽細胞株 (NIH3T3), およびマクロファージ細胞株 (RAW264.7) のGnRH receptorの発現をimmunoblottingにより検出後, 増殖に対するGnRH agonist, GnRH antagonistの影響を検討した.

[成績] 免疫組織染色にてGnRH Receptorは子宮内膜症腹膜病変の間質部の細胞に局在していた. 線維芽細胞株 (NIH3T3), およびマクロファージ細胞株 (RAW264.7) とともにimmunoblottingにてGnRH Receptorの発現が確認された. GnRH agonist, GnRH antagonist (各 $100\mu\text{M}$) により, NIH3T3の増殖には有意な変化は見られなかったが, RAW264.7の増殖には, 各々, 約20%, 67%の抑制が見られた.

[考察] 線維芽細胞, マクロファージなど子宮内膜症病変内の細胞にはGnRH Receptorが存在しており, GnRH agonist, GnRH antagonistの作用を受けると考えられる. これらの薬剤の間質細胞に対する作用が, 子宮内膜症病変の伸展に抑制的に働く可能性がある.

P-25 ヒト子宮内膜症組織における growth arrest-specific gene 6 (gas 6) および レセプター型チロシンキナーゼの発現

岐阜大学医学部産婦人科 ○岩垣 重紀, 操 良, 藤本 次良
玉舎 輝彦

〔目的〕 血管平滑筋細胞の増殖をはじめとして、様々な生理作用に関与すると考えられる growth arrest-specific gene 6 (gas6) はレセプター型チロシンキナーゼ・Axl/Skyサブファミリーのリガンドであることが報告されている。今回我々は、正常子宮内膜および子宮内膜症組織におけるgas6およびそのレセプターであるAxl、RseのmRNA発現および蛋白の局在を検討した。〔方法〕 この研究に対するインフォームドコンセントを得たうえで採取したヒト正常子宮内膜（12例）および子宮内膜症組織（10例）よりtotal RNAを抽出し、competitive RT-PCR-Southern blot解析を施行することによってgas6、AxlおよびSky mRNAの発現レベルを評価した。また、組織をホルマリン固定、パラフィン包埋組織より薄切し、PPL固定スライドグラスを用いてマイクロウェーブ処理後、抗ヒトgas6、AxlおよびSkyヤギモノクローナル抗体を用いて、avidin-biotin peroxidase complex 法にてgas6、AxlおよびSky蛋白の免疫染色を施行した。〔成績〕 今回検討したすべての正常子宮内膜および子宮内膜症組織においてgas6、AxlおよびSky mRNAの発現が認められた。正常子宮内膜における各mRNAの発現レベルは性周期によって変動しなかった。gas6およびAxl mRNAの発現レベルは正常子宮内膜組織よりも子宮内膜症組織で有意に高値を示した。Sky mRNAの発現レベルは両組織で有意差を認めなかった。また免疫染色によりすべての正常子宮内膜においてgas6、AxlおよびSkyの発現が腺上皮および間質ともに認められ、gas6およびSkyは腺上皮優位に、Skyは腺上皮優位あるいは間質と同程度に発現が認められた。一方、子宮内膜症組織においても正常子宮内膜と同様の発現傾向が認められた。〔結論〕 ヒト正常子宮内膜および子宮内膜症組織においてgas6およびそのレセプターであるAxl、Rseが発現しており、子宮内膜の増殖や子宮内膜症組織の発育・進展に関与している可能性があるかと推察された。

P-26 腹腔内マクロファージと子宮内膜症細胞におけるサイトカイン産生能

鳥取大学医学部産科婦人科 ○山内 延広, 津戸 寿幸, 月原 悟
坂本 靖子, 藤井亜希子, 伊藤 雅之
大畠 順恵, 谷口 文紀, 吉田 壮一
岩部 富夫, 原田 省, 寺川 直樹

〔目的〕 子宮内膜症患者腹水中には高濃度のtumor necrosis factor α (TNF α), interleukin-6 (IL-6)およびIL-8が存在し、IL-6は妊孕能低下に、IL-8は細胞増殖に関与することを報告してきた。本研究では、腹腔内マクロファージと子宮内膜症細胞のIL-6およびIL-8産生能を比較検討した。

〔方法〕 子宮内膜症患者の同意のもと、腹腔鏡下手術時に採取した腹水(n=5)および摘出卵巣チョコレート嚢胞(n=13)からマクロファージおよび子宮内膜症間質細胞を分離培養した。それぞれの細胞をTNF α (0-10 ng/ml) の存在下に24時間培養し、培養上清中のIL-6およびIL-8濃度をELISA法により測定した。内膜症細胞からRNAを採取し、Northern blot法によりIL-6およびIL-8遺伝子発現を検索した。

〔成績〕 子宮内膜症患者の腹腔内マクロファージと内膜症間質細胞のIL-6産生能は同程度であった（平均値73.7 vs 76.4 pg/ml/10⁴cells）。TNF α は内膜症細胞のIL-6遺伝子発現と蛋白産生を濃度依存性に促進したが、マクロファージのIL-6産生には影響を及ぼさなかった。一方、マクロファージのIL-8産生は264.8pg/ml/cellsであり、内膜症細胞の7.1pg/ml/cellsに比して有意に高かった。TNF α はマクロファージと内膜症細胞のIL-8産生を濃度依存性に促進した。

〔結論〕 子宮内膜症患者腹水中に高濃度に存在するIL-6は、腹腔内マクロファージにより産生されと考えられてきたが、子宮内膜症細胞もIL-6の産生源であることが示された。TNF α はマクロファージおよび子宮内膜症細胞のサイトカイン産生を促進することで、子宮内膜症の病態に関与する可能性が示唆された。

P-27

腹水中HGF濃度と子宮内膜症進行期

鳥取大学医学部産科婦人科 ○吉田 壮一, 原田 省, 月原 悟
 山内 延広, 坂本 靖子, 藤井亜希子
 大畠 順恵, 伊藤 雅之, 谷口 文紀
 岩部 富夫, 寺川 直樹

【目的】Hepatocyte growth factor(HGF)は間葉系細胞から分泌され、上皮細胞に存在するc-met受容体を介して細胞増殖、細胞遊走、形態形成、血管新生などの多彩な作用を発揮する増殖因子である。HGFは子宮内膜間質細胞からも産生され、子宮内膜上皮細胞の増殖、遊走、管腔形成を促進することが報告されている。本研究では、子宮内膜症細胞におけるHGF遺伝子発現を検索し、腹水中HGF濃度と内膜症進行期との関連を検討した。【方法】インフォームドコンセントが得られた37例を対象とし、腹腔鏡下手術時に腹水を採取した。ELISA法で腹水中HGF濃度を測定し、子宮内膜症の有無でその値を比較するとともに、R-AFS scoreとの関連を検討した。HGFの産生源を知るため、子宮内膜症由来間質細胞と腹膜細胞を分離培養し、RT-PCR法によりHGF遺伝子の発現を検討した。【結果】HGF濃度は子宮内膜症患者腹水において有意に増加しており(2.38 ± 0.19 vs 1.70 ± 0.14 ng/ml)、R-AFS scoreとの間に正の相関($r=0.556$, $p=0.0003$)を認めた。HGF遺伝子の発現は、子宮内膜症由来間質細胞と腹膜細胞の両方で観察された。【結論】子宮内膜症病変と骨盤腹膜から産生されるHGFは子宮内膜症の進展に関与する可能性が示唆された。

P-28

チョコレート嚢胞を有する不妊患者に対する
エタノール嚢腫固定術後の妊孕性について

自治医科大学産科婦人科学 ○小池 俊光, 柴原 浩章, 小川 修一
 藤原 寛行, 佐藤 郁夫
 中央クリニック 本山 光博

【目的】赤松らの報告以来、チョコレート嚢腫に対して99%エタノールによる嚢腫固定術が広く行われているが、その術後の再発率、生殖機能に関する報告は少ない。我々はエタノール嚢腫固定術後24ヵ月間の再発率、累積妊娠率などについて検討したので報告する。

【対象と方法】対象は当院にて1996年から1998年6月の間にチョコレート嚢腫に対してエタノールによる嚢腫固定術を受けた患者80症例の内、24ヵ月以上追跡可能であった64症例〔うち不妊患者(平均年齢33.0、平均不妊期間49ヵ月)45症例(20症例は固定後3ヵ月以内にARTにより加療)〕で、嚢腫の再発率、術前後のCA125値、不妊患者においては術前後のFSH、LH、PRL値、妊娠率、流産率についてretrospectiveに検討した。また、ARTを受けた症例では同時期に嚢腫核出術を受けた既往を有しARTを受けた15症例と採卵数、受精率などを比較した。

【成績】64例のうち20例(31%)で嚢腫の再発を認め、後に6例が開腹または腹腔鏡手術を要した。再発までの平均期間は12.1ヵ月であった。術前後の平均(±SD)CA125値は各々41.7(36.3)から35.1(21.7)へ有意に低下した($p<0.05$)。不妊患者45例の術前後の平均FSH、LH、PRL値には変化がなかった。累積妊娠は24例(53%)で、うち2例(8%)が自然流産に終わった。アルコール固定後ARTを受けた20症例の患者あたりの妊娠率、平均採卵数(±SD)、受精率は55%、8.9(5.2)、66%で核出術後にARTを受けた症例のそれらは33%、6.3(3.6)、67%であった。

【結論】チョコレート嚢腫に対するエタノール固定の卵巣機能に与える影響は大きくない。また、核出術による発育卵胞数の低下を回避できる可能性がある。しかし、その反面高い再発率を有し、その治療効果には限界がある。

P-29 GnRH agonist 徐放性製剤の QOL に対する影響の検討 — add back 療法併用との比較 —

東京女子医科大学産婦人科 ○清水 聖子, 安達 知子, 杉崎 亜矢
齊藤 理恵, 太田 博明

[目的] 子宮内膜症や子宮筋腫の治療の1つとして GnRH agonist (a) 製剤が汎用されている一つが、程度の差はあるものの、のぼせ、ほてり、発汗などの更年期様症状が高頻度で出現し、患者のQOLを損なう可能性も否定できない。そこで低エストロゲンによるこれら副作用の軽減を図るため、近年 add back 療法の併用が試みられている。今回、GnRHa 単独投与群(G群)とadd-back 療法併用群(A群)の2群に分けて更年期様症状を比較検討した。

[対象および方法] 子宮内膜症(含: 子宮腺筋症)または子宮筋腫を有する有経女性(24~45歳)10例の同意を得て、無作為にG群とA群の2群に分けた。G群はGnRHa療法(酢酸ブセレリン徐放性製剤; 1.8 mg 1回/月、皮下注)単独、A群はGnRHa療法+add back療法[結合型エストロゲン(0.625mg)20日間経口投与、酢酸メドロキシプロゲステロン(5 mg)後半11日間経口投与]で、この治療を4周期行った。治療開始前、開始1ヵ月後、4ヵ月後(投与終了1ヵ月後)、7ヵ月後に婦人科的診察(含: 画像診断)、血中CA125値、血中ホルモン値(E₁, E₂, LH, FSH)を評価するとともに治療開始前から8ヵ月間にわたり月1回、更年期様症状を小山の簡略更年期指数(SMI)にてアンケート調査および問診により評価した。

[成績] SMIの比較では、治療前はG群 26.4±5.4(mean±SE, n=5), A群 23.2±12.8(n=5)、投与期間における最大値はG群 51.8±19.9(n=4), A群 35.0±20.1(n=4)であったが、投与終了1ヵ月後はG群 30.7±10.3(n=4), A群 32.5±19.9(n=4)と低下した。この時点での血中E₂値はG群が25.1~108.2 pg/ml, A群が18.0~85.0 pg/mlに分布した。なお原疾患や自覚症状の増悪は認めなかった。

[結論] SMIは50点以下は臨床上前問題ないと通常評価されている。今回使用したGnRHaは、SMIが異常高値になることはほとんどなく、また治療中に高値を示しても4周期終了後には低下しており、G群におけるE₂値も比較的高値を示した。以上より add back 療法を併用しなくてもQOLが保持されていることが示唆された。

P-30 当院における過去5年間の不育症治療成績

広島大学医学部産科婦人科学教室 ○石井 彩, 原 鐵晃, 吉本真奈美
三春 範夫, 大瀧 紘三

[目的] 近年、生殖生物学の進歩と共に“受精-着床-胎芽発育”過程の一端が明らかにされつつあり、妊娠初期の管理があらためて見直されている。今回我々は、過去5年間に不育を主訴として当科に紹介された186例について、その原因及び治療成績について検討を行ったので報告する。

[対象] 1995年から1999年の5年間に不育症にて紹介された186例のうち当院でスクリーニングを終了した160例とした。内訳は原発性習慣流産79例、続発性習慣流産18例、原発性反復流産45例、続発性反復流産14例、その他4例であった。

[結果] スクリーニング時の異常所見としては、抗リン脂質抗体陽性31例(19.4%)、夫または妻の染色体異常12例(7.5%)、高プロラクチン血症10例(6.3%)、子宮形態異常6例(3.8%)、異常所見なし95例(59.4%)であった。それぞれの原因別に治療を行ったが、染色体異常例と原因不明の原発性反復流産例は無治療で自然経過を観察した。原発性習慣流産例で明らかな原因疾患のないものには、夫リンパ球輸注療法を行った(36例)。治療後の生児獲得率は抗リン脂質抗体症候群に対する低容量アスピリン療法で75%、子宮形態異常に対するTCR施行例で75%、高プロラクチン血症に対するプロモクリプチン内服例で71.4%など、全体として84.3%と高値を示し、免疫療法施行例も79.2%の生児獲得率を示した。自然経過をみた群のうち、原発性反復流産例の生児獲得率は94.7%と高値であったが、染色体異常例では40%と明らかな低値を示していた。

[考察] 流産を反復する場合には早期に原因精査を開始する事が必要であり、個別化した治療を行うことにより高い生児獲得率を得ることができた。また、原因不明の原発性反復流産例に対しては特別な治療は必要ない事が示唆された。

P-31

ヒト子宮内膜間質細胞の生存および分化に及ぼす
Oncostatin M と LIF の意義

大阪市立大学医学部産科婦人科 ○田中 哲二, 阪本 知子, 増田 真希
王 春蓮, 深山 雅人, 荻田 幸雄
和歌山県立医科大学産科婦人科 梅咲 直彦

【目的】IL-6 family cytokineやその受容体分子の遺伝子ノックアウトマウスには、妊娠初期の致死的異常や着床障害が報告されていることから、IL-6 family cytokineによるシグナルが着床期に重要な役割を果たしていることが推定されてきた。例えば、LIFは着床期から分泌期後期にかけて子宮内膜上皮細胞に発現が認められ、LIF受容体は受精卵に発現しており、LIFが卵の発育分化を促進していることも証明されている。LIF遺伝子ノックアウトマウスが着床障害を示すことから、LIFが着床に必須の分子であると考えられている。一方、IL-6 familyに含まれるOncostatin MはLIF受容体に中親和性に結合することが報告されており、Oncostatin MはOncostatin M受容体とLIF受容体の両者を介して刺激効果を与えることが知られている。しかしながらOncostatin MやLIFが子宮内膜間質細胞に及ぼす直接的な影響についてはほとんど解析されていない。

【方法】①患者の承諾を得て子宮頸癌患者から手術的に採取したヒト正常子宮内膜間質細胞を用いて、その生細胞数、分化（脱落膜化）、脱落膜化細胞の生細胞数に及ぼすOncostatin MとLIFの影響を検討した。②生細胞数はXTT法で、脱落膜化指標としてはProlactin分泌量を測定した。

【結果】①Oncostatin Mはヒト正常子宮内膜間質細胞の生細胞数、脱落膜化細胞の生細胞数を有意に促進した。②LIFは脱落膜化細胞の生細胞数を有意に促進した。③8-Br-cAMP刺激による脱落膜化刺激に対して、LIFはProlactin分泌細胞への分化には何ら影響を及ぼさなかったが、Oncostatin MはProlactin分泌細胞への分化を濃度依存性に抑制した。

【結論】Oncostatin Mは、LIFとは異なる機序で、おそらくは特異的受容体を介して、子宮内膜間質細胞の生存および分化を調節している。

P-32

子宮内膜におけるヘパリン結合性成長因子Midkineの検出

東京医科大学産科婦人科 ○中田 敏英, 井坂 恵一, 鈴木 良知
伊東 宏絵, 白田 三郎, 福嶺 紀隆
高山 雅臣

Midkine (MK) は、1988年に胚性腫瘍細胞の分化に際して発現が誘導される遺伝子産物として発見されたヘパリン結合性成長因子であるが、マウスの発生過程では胎生中期に最も強い発現を示し、組織再構築と深い関わりがあると考えられている。このMidkineが剥離再生を繰り返すヒト子宮内膜において如何なる役割を果たすかは興味深いところである。そこで今回我々は、子宮内膜におけるMKの産生および動態について検討した。

【方法】患者のインフォームドコンセントを得た後、子宮筋腫の手術検体から子宮内膜を採取した。子宮内膜は、ひき続きcollagenaseにて分散後、篩にて内膜腺細胞 (EM-G) と間質細胞 (EM-S) に分離し培養を行なった。培養3日目にsteroid hormone、成長因子の添加を行い、培養液は3-4日毎に交換し培養上清は測定まで -20°C にて保存した。また同時に新鮮な内膜組織を採取しOCT compoundに包埋後、急速に凍結して -80°C で保存した。培養上清中のMK濃度は、ELISA法を用いて、免疫組織学的検討は、凍結標本をcryostatにて $5\mu\text{m}$ の連続した凍結切片に薄切後、酵素抗体法により行った。(結果) 免疫組織学的染色では、EM-GにMKの染色を認めたが、EM-Sには明らかな染色は認められなかった。MKの濃度測定結果では、EM-G培養上清中のMK濃度は、培養経過とともに増加し、11日目では平均 89.5 ng/ml ($n=5$) と高値を示し、estradiolの添加により上清中MK値の増加を認めた。一方、EM-S培養上清中MK濃度は、培養経過による増加は認めず、11日目で平均 2.3 ng/ml ($n=5$) を示したが、progesterone添加により著明な増加が認められた。(結論) ヒトMKは子宮内膜の特に腺細胞より高濃度に産生されることが明らかとなった。また内膜細胞からのMK産生はsteroid hormoneの影響を受けることから、月経周期と何らかの関連性を持つことが予想され、細胞分化時に発現するMKは受精卵の着床の際に重要な役割を演じるものと考えられる。その詳細については今後さらなる検討が必要であると思われる。

P-33 子宮内膜の菲薄に対するエストロゲン療法の効果について

新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○小島 由美, 鈴木 美奈, 永田 裕子
菅谷 進, 藤田 和之, 倉林 工
田中 憲一

【目的】：子宮内膜は人工授精(AIH)の妊娠率に関わる重要な因子であり、特に子宮内膜厚が6mm未満の場合には有意に妊娠率が減少することが報告されている。一方、クロミフェンは排卵障害に対する治療法として広く用いられており、自然排卵周期を有する患者に対する人工授精時の排卵誘発法としても頻用されているが、クロミフェンの抗エストロゲン作用により子宮内膜厚が非薄化する症例が少なからず存在する。今回我々は、人工授精時に子宮内膜厚が8mm以下であった症例に対し、プレマリンを投与し子宮内膜厚に対する影響について検討を行った。【対象】：1998年4月1日から2000年3月31日の間に当科においてクロミフェン-HMG-AIHを行った症例のうち、子宮内膜厚が8mm未満であった15症例を対象とした。A群(9例)には再治療周期の月経2日目よりプレマリン1.25mg/dayを、B群(6例)には月経9日目より1.25mg/dayを連日投与した。主席卵胞が20mmを越えた時点で子宮内膜厚を測定したのちHCG5,000IUを投与、その36時間後に人工授精を行った。

【結果】：A群におけるプレマリン投与前と投与後の主席卵胞径は 22.9 ± 1.87 mm, 19.3 ± 2.15 mm、HCG投与時期は 15.2 ± 2 日、 14.8 ± 1.75 日、一方B群における主席卵胞径は 22.7 ± 1.7 mm、 22.9 ± 2.4 mm、HCG投与時期は 14.2 ± 0.56 日、 14.7 ± 0.67 日でありそれぞれ有意差は認められなかった。プレマリン投与前と投与後における子宮内膜厚はA群では 4.6 ± 1.08 mm、 7.5 ± 1.58 mm、B群ではそれぞれ 5.1 ± 0.93 mm、 5.7 ± 1.90 mmでありA群において有意に子宮内膜厚の増加が認められた($P < 0.05$)。妊娠は15例中3例に認められた。結論：子宮内膜の非薄症例に対し、月経2日目よりプレマリンを投与することにより有意に内膜厚の増加が認められ、プレマリン投与の有用性が示された。

P-34 Bromocriptine-rebound 法を併用することで胚の quality が向上するのか？

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○森出 直子, 中川 浩次, 堤 ゆかり
山下 瑞穂, 松本 光弘, 小松 淳子
山野 修司, 青野 敏博

【目的】ART不成功例に対して、神野らの提唱するbromocriptine-rebound法(以下BR法)を応用することで、ARTの成績が向上するか否かを検討した。【対象】平成10年3月から平成12年4月の間に当科においてARTに不成功であった症例のうち血清プロラクチン値が正常であった18例を対象とした。同期間にARTを施行した18例を対照とした。【方法】ART治療前周期の月経周期5日目から卵巣刺激を開始する7日前までプロモクリプチンを1日5mg内服させ、内服終了後7日目からGnRHa併用long法(FSH 225IU×4日+HMG150×5日)を用いた採卵日固定法で卵巣刺激を開始した。同一症例のE2ピーク値、採取卵数、受精卵数、分割卵数、移植胚数、移植胚のグレード、妊娠率を通常の卵巣刺激を行った周期(通常周期)とBR法を行った周期(BR周期)とで比較した。【成績】E2ピーク値は通常周期で1758pg/ml、BR周期で2201pg/mlであり、両者間に有意差を認めなかった。採取卵数、受精卵数、分割卵数、移植胚数の平均値はそれぞれ通常周期では7.4、3.9、3.6、2.6、BR周期では9.5、5.6、4.9、2.6であり、BR周期で多い傾向にあった。受精率、分割率は両群間で有意な差を認めなかったが、移植胚のスコアは、BR周期で6.6点と通常周期の5.3点に比して有意に高値を示した($p < 0.029$)。スコア8点以上の良好胚を移植し得た周期の割合はBR周期で42.6%、通常周期では26.1%であり、BR法で高いものの有意差は認めなかった。BR周期では3例が妊娠した(妊娠率=16.6%)が、対照群では妊娠例は4例(22.2%)であった。【結語】ART不成功症例に対してBR法を応用することでqualityの高い胚を移植することが可能となった。

P-35 低分子量G蛋白質Rhoの妊娠初期絨毛における発現と生理的役割

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○酒井 謙, 塩川 滋達, 葉梨 秀樹
杏林大学医学部保健学部* 鈴木 典子, 高橋 康一*, 岩下 光利
中村 幸雄

〔目的〕低分子量G蛋白質Rhoは細胞質に存在し、細胞外シグナルを受けてインテグリンの活性化を制御する分子スイッチとして働き、細胞運動をコントロールするといわれている。着床現象、すなわち絨毛細胞の脱落膜への侵入にRhoが関与しているか、妊娠初期の絨毛および脱落膜を用いて検討した。〔方法〕人工妊娠中絶時に同意のもとに採取された妊娠6～9週の絨毛および脱落膜を実験材料とした。絨毛組織切片を抗Rho抗体を用い免疫蛍光染色した。脱落膜組織切片を抗Rho抗体と抗サイトケラチン抗体を用いて免疫蛍光二重染色した。また妊娠初期絨毛より蛋白を抽出しWestern-blot解析を行った。さらに、培養絨毛細胞のフィルター通過性をみるinvasion assayを用いて、妊娠初期絨毛におけるRhoの役割を検討した。Rhoの選択的阻害剤であるボツリヌス菌菌体外酵素C3（C3酵素）添加群、Rhoの活性化剤であるリゾホスファチジン酸（LPA）添加群および非添加群の3つの実験群を作製し、フィルターを通過した絨毛細胞数を顕微鏡下に計測した。〔成績〕妊娠初期絨毛にRhoが陽性染色された。脱落膜の免疫蛍光二重染色の結果、脱落膜に侵入したextravilloustrophoblastにRhoが陽性染色された。Western-blot解析では、妊娠初期絨毛に約21kDaのRhoに相当するbandが出現した。invasion assayへのC3酵素の添加は、絨毛細胞の浸潤細胞数(個/mm²)を用量反応性に抑制した(非添加群,30;C3 1ng/ml添加群,20;C3 10ng/ml添加群,15;C3 100ng/ml添加群,7)。LPAの添加は、絨毛細胞の浸潤細胞数を用量反応性に増加させた(非添加群,30;LPA1 μM添加群,34;LPA10 μM添加群,39;LPA100 μM添加群添加群,57)。〔結論〕Rhoが妊娠初期絨毛および脱落膜に侵入したextravilloustrophoblastに発現し、絨毛の脱落膜への浸潤に関与している可能性が示唆された。

P-36 hCG投与日のE₂値が胚盤胞移植の妊娠率に与える影響に関する検討

生長会府中病院不妊センター ○半田 雅文, 小林真一郎, 原田真木子
唐澤 康広, 島田 知代, 浜井 晴喜
加藤 浩志, 磯島 晋三

【目的】我々は第40回本学会において、IVF-ETにおけるhCG投与日の血中E₂値と妊娠率について血中E₂値が上昇することにより、妊娠率が低下する傾向にあることを報告した。しかし、4細胞期、8細胞期の受精卵では良好胚の選択基準が着床する可能性の高さという観点からは不十分であり、血中E₂値を着床条件の一つとして検討するためには移植する胚の条件をさらに厳密にする必要があった。当センターでは1999年5月より採卵数が5個以上の患者に対して、多胎を予防する目的で胚盤胞での胚移植を開始した。すなわち、受精卵を5日間培養し、より厳密に胚の選択を行った上で移植胚数を2個に限定した。その結果、受精後5日目の時点で胚盤胞を2個移植できた周期では116周期中67周期で妊娠反応が陽性となった。このことから、胚盤胞を移植することにより、着床に関する条件のうち胚側の因子を減らして考察することが可能であると思われる。今回、我々は採卵後5日目の時点で胚盤胞を2個移植できた周期に限り、hCG投与日の血中E₂値と妊娠率を再検討したので報告する。【方法】期間は1999年5月から2000年4月までの1年間。胚盤胞を移植した周期のうち、胚盤胞を2個移植し、かつ採卵前のhCG投与日の血中E₂値を測定した102周期を対象とした。血中E₂値を1000pg/ml未満（A群）、1000以上1500 pg/ml未満（B群）、1500以上2000 pg/ml未満（C群）、2000以上2500 pg/ml未満（D群）、2500 pg/ml以上（E群）の5群に分け、その妊娠率と着床率を検討した。【結果と考察】妊娠率はA群83.3%、B群72.7%、C群59.3%、D群35.3%、E群30.8%であった。次にhCG投与日の血中E₂値を2000 pg/ml未満と2000 pg/ml以上の2群に分けて、妊娠率、着床率を比較すると、2000 pg/ml未満で妊娠率69.4% (50/72)、着床率41.7% (60/144)、2000 pg/ml以上で妊娠率33.3% (10/30)、着床率18.3% (11/60)とE₂値が2000 pg/ml未満では2000 pg/ml以上に比べ良好な妊娠率、着床率となった。このことより、胚盤胞の移植においても、以前、我々が報告したように血中E₂値は着床環境に重要な意味を持つと考えられる。

P-37

当院における Assisted hatching の臨床成績

レディースクリニック京野 ○千葉せつよ, 福永 憲隆, 松尾 優子
佐藤 智子, 拝郷 浩佑, 針生 光夫
京野 廣一

[目的] ART 反復不成功例、透明帯肥厚例、高齢などの症例に対し Assisted hatching (AHA)は有効との報告がある。今回当院では、酸性 Tyrode 液または Protease にて AHA を施行後、胚移植を行い、妊娠率ならび着床率について検討したので報告する。

[対象・方法] 2000 年 2 月~5 月までの間に当院で Conventional IVF と ICSI を施行した 68 症例 68 周期を対象とした。Tyrode 群: 19 症例 19 周期、Protease 群: 25 症例 25 周期、Control 群: 24 症例 24 周期である。Tyrode 群は、Day3 に 3 時の方向から酸性 Tyrode 液を透明帯に吹き付け、外側の膜を溶解し、内側の膜に到達したら吹き付けをやめ、ピペットにて膜を吸引し破り開孔させた。Protease 群は、Day2 に Protease 1ng/ml を培養液に添加して 24 時間培養し、透明帯を菲薄化した。その後、3~4 時間の追加培養し胚移植を行った。統計解析は、 χ^2 検定を行った。

[成績] 胚移植あたりの妊娠率は、Tyrode 群 31.5%、Protease 群 44.0%、control 群 45.8%であった。着床率は、それぞれ 16.4%、24.6%、15.7%であった。多胎妊娠率は、それぞれ 10.5%、20.0%、0%であった。

[結論] 2 類の方法で AHA を施行し比較検討した結果、妊娠率には差は認められなかったが、着床率では Protease 群が Tyrode 群と control 群に比べて高い傾向にあった。また、control 群に比べ AHA を施行した群では多胎妊娠になりやすい傾向にあった。今後、更に症例数を増やし検討していきたい。

P-38

GnRHagonist を投与しない IVF-ET の成績

ウィメンズクリニック糸数 ○高宮城直子, 中里 和正, 糸数 健*
糸数病院* 上原 尚, 花城 孝子, 金城利恵子

(目的) IVF-ET の卵巣刺激法として GnRHa を投与する方法が一般的であるが、今回 GnRHa を投与せずに、IVF-ET を施行した症例についてその有用性と問題点について考察した。

(対象及び方法) 1999 年 1 月~2000 年 5 月に当院において poor responder、GnRHa アレルギーなどの理由にて GnRHa を投与しない方法で IVF-ET (ICSI を含む)を施行した 42 症例(27 歳~48 歳)100 周期について年齢別、刺激法別の妊娠率について検討した。刺激法としては自然周期(24)、低用量 hMG (FSH)周期(42)シクロフェニル周期(11)、シクロフェニル+ hMG (FSH)周期(17)、その他(クロミフェンなど)(6)を用いた。主席卵胞径が平均 15.5mm にて血中 E₂、LH 値を測定し、hCG 投与 34.5~35 時間後に採卵した。

(成績) 全年齢において、妊娠率は採卵周期あたり 11.0% (11/100)、ET 周期あたり 23.4% (11/47)、患者あたり 26.1% (11/42)であった。30 歳代に絞ってみると、妊娠率は採卵周期あたり 20.0% (8/40)、ET 周期あたり 38.1% (8/21)、患者あたり 40.0% (8/20)であった。期間中の患者あたりの平均採卵回数は 2.4 回であった。同時期の GnRHa を投与した周期の 30 歳代の妊娠率は、採卵周期あたり 48.5% (32/66)、ET 周期あたり 53.3% (32/60)、患者あたり 55.9% (33/59)であった。

(結論) GnRHa なしの IVF-ET は採卵・ET 周期あたりの妊娠率は GnRHa ありに及ばないが、患者あたりの妊娠率はそれほど低くなく、Poor responder、GnRHa アレルギー、多量の hMG で卵の quality あるいは子宮内膜が悪くなるといった症例においては有用であると思われる。

GnRHa なしの IVF-ET の利点はコストが低い、副作用が少ない、静脈麻酔なしでも採卵できる、毎周期施行できることであり、問題点は採卵数・ET 卵数が少なく採卵回数が多くなること、および LH サージ出現によるキャンセル周期があることであると思われる。

P-39 体外受精における受精卵の形態と妊娠成否の関連についての検討

内田クリニック ○村尾 明美, 安藤 幸, 内田 昭弘

＜目的＞受精卵の形態による Grade 分類と妊娠率との関係、移植胚数の検討などの報告がある。今回体外受精(conventional IVF)における受精卵の形態と妊娠成否の関連についての検討を目的とした。

＜対象及び方法＞当院において conventional IVF を施行した 86 例 131 周期を対象とした。対象は平均年齢 34.7 歳、IVF 適応は卵管因子 34 例、男性因子 19 例、原因不明 33 例であった。対象を妊娠群(P 群 46 例 56 周期)と非妊娠群(N 群 40 例 75 周期)に分類し、Conventional IVF における妊娠成否について受精卵の形態との関連を retrospective に検討した。妊娠群については妊娠群妊娠周期(P-P 群 35 例 37 周期)及び妊娠群非妊娠周期(P-N 群 11 例 19 周期)に分類し検討を加えた。なお、受精卵の形態分類については、Veeck 分類を改変したものを用いた。

＜結果＞(1) 周期あたりの採卵数には各群間で差は認められなかったが、受精卵数及び受精率においては、P-P 群、P-N 群が N 群に比較して有意な高値が認められた。(2) 移植胚に良好胚(G1~G3A)を 2 個以上含む場合、妊娠は 33 周期(38.4%)で成立し、移植胚に良好胚(G1~G3A)を 1 個含む場合の 4 周期(12.9%)に比較して有意な高率が認められた。(3) P 群の総受精卵数に占める良好胚(G1~G3A)の割合は 60.5%で、N 群 49.7%と比較して有意な高率が認められた。また、P-P 群の総受精卵数に占める良好胚(G1~G3A)の割合は 62.5%で、N 群と比較して有意な高率が認められたが、P-N 群 52.4%に対して差は認められなかった。

＜結論＞受精卵の形態分類において、良好胚を 2 個以上移植することにより、妊娠成立の可能性が高まることが示唆された。その良好胚を多く得るためには、受精率の向上が必要であると考えられた。受精卵の形態の良好、不良については症例により一定の傾向を示す可能性があるといえる。

P-40 不妊因子別および回数別にみた ART の成績

セント・ルカ産婦人科 ○平井 香里, 工藤 英子, 熊迫 陽子
佐藤 真紀, 長木 美幸, 広津留恵子
宇津宮隆史

【目的】体外受精-胚移植治療 (IVF) において妊娠率は年齢などを含め、さまざまな因子と関連しており、不妊因子によって妊娠率も異なってくる。今回我々は当院で IVF を行った患者の不妊因子別の妊娠率、IVF 施行回数ごとに得られる妊娠率を比較し、不妊因子と妊娠率の関係、また、回数を重ねている妊娠困難例における不妊因子と妊娠率の関係を検討した。

【方法・結果】対象は 1992 年 6 月から 1999 年 12 月までに当院で採卵を施行し当該周期において胚移植を行った 3664 周期で、不妊因子は、①原因不明群 (30.5%) ②男性因子群 (29.3%) ③卵管因子群 (26.0%) ④子宮内膜症群 (11.8%) ⑤抗精子抗体陽性群 (2.3%) であった。各々の不妊因子における妊娠率はそれぞれ ①16.5%、②16.2%、③16.0%、④16.2%、⑤20.0% となっていた。IVF 施行回数をみると、卵管因子群、男性因子群、原因不明群では、各不妊因子で 25 回近くまで試みている妊娠困難例が含まれていた。中でも男性因子群は回を重ねている妊娠困難例が最も多くみられた。妊娠率は各々の不妊因子で 10 回前後までは一定して得られていたが、男性因子群では、23 回、24 回と回を重ねても妊娠が得られていた。このことより、男性因子群が妊娠までに時間を要していることが判明した。しかし、原因不明群では 13 回以降の妊娠はみられなかった。また、抗精子抗体陽性群は 11 回まで IVF を施行しており、殆どの回で妊娠は得られていた。このことは、抗精子抗体陽性群は妊娠までに時間をあまり要さないことが示唆される。子宮内膜症群では 17 回まで IVF を施行した人がおり、10 回前後まで一定した妊娠率が得られていた。

P-41

当科における受精卵凍結保存法の工夫

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科 ○田谷 順子, 齊藤 正博, 伊東 宗毅
林 直樹, 石原 理, 木下 勝之
(株)朝日ライフサイエンス 小杉 武夫

近年、受精卵の凍結保存法は操作時間の短縮化や簡便性の点からガラス化 (Vitrification) に関心が持たれている。しかし、どの施設においても安定した成績を得るまでには至っておらず、プログラムフリーザーを使用する緩慢凍結法を選択せざるおえないのが現状と思われる。凍結終了後は液体窒素を満たした容器にいったんストローを移し、その後アンプルホルダーにストローを収納してから液体窒素タンク内のキャニスターに保管する方法が一般的である。今回、我々はプログラム完了後からキャニスターに保管するまでの操作の簡略化を目的とし、フリーザー専用の凍結アンプルホルダーに改良を加え、ダイレクトに液体窒素中にストローを浸漬して保存する器具を考案したので報告する。

プログラムフリーザーはCRYO 10 (PLANER)を用い、Horneらの方法を参考にして凍結プログラムを作成した。さらに操作の簡素化を計るため、凍結保存液ならびに融解液は市販のPAI Cryo Kit (Pacific Andology)を使用した。プログラムフリーザーに装備されているホルダーは特注のストロー固定具を取り付けたホルダーと交換し、常法に従って受精卵を凍結した。プログラム終了後、ストローはホルダーごと即座に液体窒素タンク内のキャニスターに投入して保存した。融解はホルダーごとストローを微温湯に浸して行った。本法を全胚凍結となったICSI症例 (DAY3) に応用した結果、凍結融解後の受精卵の生存率は64.3%, 2日間の追加培養の後に胚盤胞期に達した受精卵の割合は62.5%であった。3個の胚盤胞期胚を移植後妊娠が成立し、双胎の男児が誕生した。プログラムフリーザーの付属器具に改良を加えることにより、凍結終了後容易にストローの収納が可能となった。また、従来の方法と比較し、凍結融解後の受精卵の生存率に差は認められなかった。

P-42

胞胚腔収縮処理を行った胚盤胞凍結法の開発

蔵本ウイメンズクリニック ○元石 睦郎, 江頭 昭義, 杉岡美智代
梅林 ツナ, 福田貴美子, 東島 利紀
蔵本 武志

目的: 緩慢凍結法によるヒト胚盤胞の凍結保存法は有効な方法が確立されていない。そこで、緩慢凍結によるヒト胚盤胞の凍結法改善を目的に、胞胚腔の収縮処理を行った後に凍結保存を行い、その有効性を検討した。

方法: 患者の同意のもと、胚移植後の余剰胚を5~6日目まで培養し得られた初期胚盤胞以上の胚を基礎試験に使用した。凍結処理を行う前に機械的に胞胚腔を収縮させた後に凍結保存した。耐凍剤にはエチレングリコールを使用し、アルコールバス式のプログラムフリーザー (アステック社) にて緩慢凍結を行った。さらに、胚盤胞移植を行った患者の余剰胚盤胞を凍結保存し、妊娠が成立しなかった場合にホルモン補充周期下で余剰胚盤胞を解凍し移植を行った。

結果: 胞胚腔収縮処理を行った Good 胚盤胞 (A~A' ラク)、Fair 胚盤胞 (B~B' ラク) および Poor 胚盤胞 (C~C' ラク) を凍結・融解した結果、融解直後の生存率はそれぞれ 100% (8/8)、94% (17/18) および 86% (18/21) であった。その後48時間の体外培養を継続した結果、24時間後の生存率はそれぞれ 75% (6/8)、61% (11/18) および 14% (3/21)、48時間後の生存率はそれぞれ 63% (5/8)、44% (8/18) および 10% (2/21) であった。また、現在までに5例で移植を行った結果、2例で妊娠が確認された。以上の結果より、緩慢凍結を行う前に胞胚腔の収縮処理を行うことで、良好な生存率が得られた。また、当然のことながら胚質の低下に伴い生存率も低下した。妊娠率に関しては、今後さらに例数を増やし検討を行いたい。

P-43 ICSI法によりマウス卵に授精させたヒト形態異常精子および不動精子の染色体異常

旭川医科大学生物化学教室 ○渡邊 誠二, 上口勇次郎

男性不妊症の治療に用いられているICSI法では、精子を人為的に選択して卵子に授精させるため、選んだ精子の遺伝的リスクが重要な問題となる。そこで、マウス卵へのヒト精子ICSI法を用いて以下の研究を行った。

【実験1】頭部形態異常（小形および大形）精子の染色体異常率

方法：インフォームド・コンセントに基づいて得られた精液サンプルのHEPES-BWW懸濁液から、運動能をもつ頭部小形（短径、長径 $3\mu\text{m}$ 以下）及び大形（短径 $3\mu\text{m}$ 以上、長径 $5\mu\text{m}$ 以上）精子を選別し、ピエゾマイクロマニピレーターでマウス卵に授精させた。第一卵割中期に染色体標本を作製し、精子由来染色体の異常率を調べた。
結果と考察：小形精子142例における構造的染色体異常（4.9%）、異数性（2.8%）および二倍数性（0%）の各頻度は正常精子458例の場合（9.0%、1.7%、0%）と有意差を示さず、頭部小形化の原因は低数性異常ではなく核凝縮異常であることが示唆された。大形精子108例における構造異常（8.3%）および異数性（2.8%）の頻度は正常精子の場合と差を示さなかったが、二倍数性異常（4.6%）は有意に高値であり、大形精子の中には染色体数の増加が原因で頭部が大形化したものが含まれることが示された。

【実験2】不動精子（頭部形態は正常）の染色体異常率

方法：液化後の精液サンプル中から直接選別した不動精子を実験1と同様にマウス卵への顕微授精に供した。

結果と考察：不動精子45例における構造異常（2.2%）、異数性（0%）および倍数性（0%）の各頻度は正常精子の場合と差を示さず、精漿中の形態正常不動精子をICSI治療に利用できる可能性が示唆された。

【実験3】HEPES-BWW溶液が不動精子に及ぼす影響

方法：不動精子をHEPES-BWWまたは精漿中に1時間保存した後にICSIを行い、染色体異常率を比較した。

結果と考察：HEPES-BWW保存精子41例における構造異常頻度（29.3%）は精漿保存46例の場合（6.5%）に比べて有意に高く、前者溶液での保存は不動精子に構造的染色体異常につながる変化を引き起こすことが示唆された。

P-44 当科における体外受精胚移植法 (IVF-ET) による妊娠例の検討

東京医科歯科大学医学部附属病院産科婦人科 ○水口 玲子, 清水 康史, 己斐 秀樹
坂本 秀一, 久保田俊郎, 麻生 武志

当科では、1989年より体外受精胚移植法 (IVF-ET) による治療を開始し、現在までに、198例457周期に治療を行なった。今回、同法による妊娠例を対象に検討を行なった。結果の判明している451周期のうち妊娠例は77例で、採卵あたりの妊娠率は17.1%であった。凍結卵解凍胚移植による妊娠3例を含め、80例の妊娠例のうち、流産は19例（23.8%）、子宮外妊娠は7例（8.8%）、早産は8例（10%）、正期産は46例（57.5%）であった。34歳以下で妊娠した43例中、流産は5例（11.6%）、子宮外妊娠は5例（11.6%）であり、35歳以上で妊娠した37例では、流産は15例（40.5%）、子宮外妊娠は2例（5.4%）であった。多胎は14例で、うち双胎が12例、品胎が2例（うち1例は一児胎内死亡にて双胎となった）であった。正期産46例のうち帝王切開となったのは11例（24%）であり、早産8例のうち帝王切開となったものは4例（50%）であった。正期産46例のうち双胎は8例であり、55人の出生児のうち低出生体重児は5人であった。双胎で一児胎内死亡となった以外は、死産および新生児死亡はみられなかった。早産8例は、双胎5例、品胎1例であり、妊娠25週の双胎で2児とも胎内死亡となった例が1例あった。35歳以上の妊娠例では流産率が高かった。高齢症例、難治症例に対する対策等について考察したい。

P-45

当院における脊髄損傷男性不妊に対する体外受精の検討

社会保険相模野病院母子センター ○本橋恵美子, 根本 玲子, 望月 愛郎

内野 直樹

社会保険相模野病院泌尿器科 佐藤 和彦

【目的】従来、脊髄損傷男性不妊の夫婦は育児を諦めざるを得ない環境にあった。しかし、体外受精の普及によりこれら夫婦にも近隣の施設で生児を得られる可能性が充分考えられるようになった。われわれは過去4年間に10組の夫が脊髄損傷の夫婦に対し体外受精を施行し、妊娠分娩例を経験したので報告する。

【対象および方法】平成8年1月より平成12年3月までの4年間に当母子センターで体外受精を行なった10例43周期を対象とした。妻の年齢は23~35才で、排卵誘発はGnRha- HMG- HCGのshort protocolで行ない、精子は用手法、経直腸的電気刺激射精法 (TREE)、精巣内精子抽出術 (TESE) 等で採取した。採取された精子はその濃度、運動率に応じてconventional IVFまたはICSIを選択した。結果) EEはシーガーモデル14を使用し電圧5~30ボルトで行ない、これにより得られた精子濃度は $0\sim 3100 \times 10^4 / \text{ml}$ 、運動率は0~25%であった。TESEは2例7周期に行ない1周期は精子を回収できなかった。1例2周期はIVF- ET、10例40周期はICSIを行ない、42周期中28周期 (66.6%) で受精卵を移植した。4例 (40%)、6周期 (14.3%) に妊娠が成立した。症例1は初回が8週で流産、2回目は品胎で32週の早産であった。症例2は初回が9週で流産、2回目は現在妊娠継続中である。症例3、4は単胎正常産であった。児は全て順調に発育し、2年3か月までの経過観察で、精神運動発達に異常を認めない。【結論】脊髄損傷男性不妊の夫婦では採精方法を選択し、精液所見に応じた体外受精を行うことが必要と思われた。

P-46

不妊症婦人における血液、腹水中の高感度測定による
ビスフェノールA値

東海大学医学部産婦人科学教室 ○奥脇 伸二, 和泉俊一郎, 鈴木 隆弘

松林 秀彦, 村野 孝代, 牧野 恒久

【目的】内分泌かく乱物質として近年注目されているビスフェノールA (BPA) は、ポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂等を用いた食品用容器・金属缶からの溶出が報告され、ヒトへ暴露による健康影響に関する懸念がもたれている。BPAはそのエストロゲン作用から、子宮内膜症発生に関与するとの報告もある。今回我々は、主として不妊症婦人における腹水中および血中のBPAを測定し、BPA値と子宮内膜症の期別分類との相関をも検討することを目的とした。

【方法】主として、食生活、居住環境などの生活環境や、病歴を含む生化学データなどが入手可能な開腹手術や、腹腔鏡検査を受ける不妊症婦人からボランティアを募り、測定対象としてインフォームドコンセントのもとに血液、腹水を採取した。得られた30検体を、エチル誘導体化GC-MS法を用いたBPA高感度分析により分析し、調査を実施した。

【成績】検討した30症例は、平均年齢31.9歳 (22~41歳)、平均不妊期間27.6ヶ月 (4~120ヶ月) であった。30症例中子宮内膜症合併症例は13例 (43.3%) で、r-AFS分類はStage I期4例、II期0例、III期8例、IV期1例であった。30症例中8例 (26.7%) に妊娠が成立した。また、30例中の1例において、その腹水中BPAが1.7 ng/mlで検出されたが、操作ブランクが真の値よりも小さく、それに伴い測定値が真の値よりも大きく算出された可能性が示唆された。その他の腹水及び血液でのBPAの測定値は、全て検出感度以下であった。

【結論】さらに検討する検体数を増し、操作ブランクにより配慮した検討が必要であると考えられる。

P-47 細径腹腔鏡手術における生理食塩水注入後穿刺法の試み

北海道大学医学部産婦人科 ○佐藤 修, 小田切哲二, 武田 真光
三國 雅人, 工藤 正尊, 藤本征一郎

【目的】細径の腹腔鏡システムは、その低侵襲性から不妊治療における有用性は高く、近年広く用いられている。しかし、closed method にともなう大網損傷、腸管・血管穿破など、安全性にまだ問題がある。今回我々は骨盤腔から生理食塩水を満たしていき腹腔穿刺する事によって確実にトロッカー挿入ができると考え、その手技と安全性について検討した。

【方法】不妊を主訴とした 4 例を対象とした。子宮腔内に留置したバルーンカテーテルより、卵管通水法と同様に 37℃の生理食塩水を注入していき、ダグラス窩に十分なスペースができた後に経腹超音波下にダグラス窩を穿刺し、生理食塩水を合計 700~2500ml 注入した。続いて Head-up position で恥骨上より経腹超音波下に腸管像をよけながらミニサイトを挿入した。このトロッカーより気腹し、臍窩からのスコープ用トロッカーを完全に監視下で刺入した。

【結果】生理食塩水注入開始から第 1 トロッカーを挿入するまでの平均時間は 33.5 分 (25~40 分)、注入生理食塩水は 1675ml (700~2500ml)、全例で経腹超音波下に穿刺するためのスペースを確保できた。腸管・大網の穿刺は認めなかった。また、生理食塩水を満たしたことによる呼吸・循環動態の変化も認められなかった。

【結論】生理食塩水注入後穿刺法は重篤な合併症なく安全にトロッカー穿刺できる手技となりうる。やや時間がかかるため全例に施行することは必ずしも可能ではないが、既往開腹例・肥満症例などでは臓器穿刺が回避できるため有用であると考えられた。

P-48 THL (transvaginal hydrolaparoscopy) を用いて骨盤内所見はどの程度把握できるのか？—腹腔鏡下の観察と比較して—

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○武内 裕之, 佐藤 雄一, 三橋 直樹

【目的】THL は従来施行されてきた腹腔鏡よりも侵襲が少なく、局所麻酔剤でも施行可能な手技である。不妊症の診断などへの有用性が期待されているが、その手技や観察方法は独特であり、骨盤内所見の診断精度に関する報告は少ない。今回、THL と腹腔鏡で観察した所見を比較して THL の有用性を検討した。

【方法】腹腔鏡下手術予定であらかじめ同意の得られた 23 症例 (不妊症 3 例、子宮筋腫 11 例、良性卵巣腫瘍 8 例、子宮外妊娠 1 例) を対象とした。全身麻酔下にまず後腔円蓋に専用のベレース針を刺入し、加圧パックで生理食塩水を注入しつつ骨盤内の観察を行った。骨盤内観察を終了後、スコープを子宮腔内に挿入して観察した。次いで子宮内腔の観察を行った後に、腹腔鏡で骨盤内の所見を観察した。THL には Circon 社 (ケン・メディカル社提供) またはオリンパス社製のセットを使用した。

【結果】THL で観察できたのは 43 付属器であり、観察できなかった 3 箇所はすべて左側であった。観察できた 43 箇所のうち卵管周囲癒着または卵巣周囲癒着が認められたのは THL で 10 例 (23.3%)、腹腔鏡で 8 例 (18.6%)、r-AFS の癒着スコアの平均はそれぞれ 0.63 (range 0~4)、1.72 (0~12) であった。腹腔鏡で認められた 8 箇所の癒着はすべて THL で認識可能で、一方、THL で認められたフィルム状の軽度な 2 箇所の癒着は腹腔鏡では確認できなかった。子宮外妊娠では THL により左卵管膨大部の腫大が明瞭に認められた。THL 施行後に hysteroscopy を施行した 18 例ではすべての症例で子宮内腔および両側卵管口が観察でき、1 例で両側卵管口の閉塞が認められた。ダグラス窩閉塞の 1 例ではスコープが直腸漿膜内を貫通していたが、縫合などの処置は不要であった。

【結論】THL により卵管の疎通性と付属器周囲の状況が腹腔鏡とほぼ同等の精度で観察でき、さらに子宮内腔の詳細な観察も可能であった。

P-49 妊孕能向上を目的とした保存的手術療法の有効性の検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○西村佳与子, 松浦 講平, 小野田 親
田中 信幸, 岡村 均

【目的】子宮腺筋症を有する婦人では不妊や流産反復など妊孕能が低く、妊孕能低下機序が明らかでないため治療法の選択に苦慮することが多い。GnRH アナログ療法では病巣の縮小効果に関する一定の成績は得られていない。我々は子宮壁前後いずれか一侧のみに病巣が存在する場合に、病巣を可能な限り摘出する手術療法を積極的に選択している。今回、子宮腺筋症以外に明らかな不妊／不育因子を認めない13例の治療効果を検討し、本手術の有効性を検討した。【対象】子宮筋腫、卵管閉塞、子宮内膜症を合併した例は対象から除外した。対象13例の手術施行時年齢は 33.9 ± 2.9 才 (26~38 才) で、いずれも未経産婦人であった。内訳は、3例が原発不妊 (不妊期間: 7.0 ± 0.0 年)、5例が続発性不妊 (同; 3.0 ± 0.8 年)、3例が2回以上の流産反復であった。全例に月経困難症を認め、うち5例は重症であった。術前の子宮サイズは過鶏卵大から新生児頭大で、GnRH アナログの術前投与は行っていない。子宮前後両壁に病巣のあるものは基本的に手術適応から除外しているが、摘出可能と判断した1例のみ今回の検討症例に加えた。手術術式は病巣直上の漿膜を縦切開 (漿膜面に病巣が達している例では楔状に漿膜切開) して病巣を達する。病巣を把持・牽引して病巣と正常筋層の間を先細の鉗子やクーパーで分離しながら深部に達し、子宮内腔に達しないように病巣を内腔と平行した面で一次的に切断する。対側の子宮壁を手指で圧排しながら残存病巣をスライス状に追加切除していく。病巣の切除率は、80~95%以上と判定した。残存した正常筋層断端は2層に閉鎖して漿膜縫合を行った。【結果】術後避妊期間中を除く9例中4例が分娩を終了している。妊娠成立周期は、自然周期が2例とIVF-ET周期が2例であった。重症の月経困難症を訴えた5例のうち3例が術後に著明改善を認めた。【結論】子宮腺筋症病巣縮小手術の有用性は高く、子宮腺筋症以外に明らかな不妊／不育因子を認めない症例に対して有効な治療法と考えられた。

P-50 高周波細径プローブを用いた Laparoscopy-assisted intrapelvic sonography による卵巣の観察

三宅医院産婦人科 ○妹尾 大作, 國方 健児, 三宅 馨
香川医大母子科学講座周産 (生) 期学 秦 利之

【目的】高周波細径プローブを用いた Laparoscopy-assisted intrapelvic sonography (LAIPS) による卵巣の観察を行い、卵巣の微細構造ならびに月経周期に伴う微細な変化を評価し得るか否かについて、経腔超音波 (TVS) 所見と比較し検討した。

【方法】腹腔鏡または腹腔鏡下手術を施行した22歳から43歳までの婦人で、本研究に対し十分なインフォームドコンセントの得られた30例のうち正常卵巣45例 (卵胞期中期: 16例、卵胞期後期: 13例、黄体期16例)、PCO 8例 (peripheral type 4例、diffuse type 4例)、卵巣皮様嚢腫3例、子宮内膜症性嚢胞4例を対象とした。腹腔鏡施行前にTVSを施行した後、腹腔鏡下に小骨盤内に生理食塩水で満たして卵巣を水浸させ、ラジアル回転する高周波細径プローブ (周波数20MHz) を用いて卵巣を観察した。

【成績】1) 正常卵巣では、卵胞期中期で全例において卵胞が観察され、卵胞の境界がTVSに比して鮮明に描出された。卵胞期後期で发育卵胞の観察が可能であった11例のうち、6例 (54.5%) で卵丘が描出されたが、TVSでは描出されなかった。黄体期で黄体の観察が可能であったものは12例 (75%) で、TVSに比してより高輝度に描出された。2) PCOでは特に peripheral type で著明な白膜肥厚像が認められたが、TVSでは不明瞭であった。Diffuse type では卵胞の境界および隔壁がTVSに比して鮮明に描出され、隔壁を形成している卵巣実質の菲薄化がTVSより明瞭に観察された。3) 卵巣皮様嚢腫では内部に高輝度領域を伴う嚢胞像として描出され、子宮内膜症性嚢胞では嚢胞内がTVSに比べてより微細な顆粒状のエコー像として描出された。

【結論】LAIPS は卵巣の微細構造や月経周期に伴う微細な変化をTVSに比して鮮明に描出し得ることが明らかとなった。

P-51

男性不妊患者における染色体変異の検討

東邦大学医学部泌尿器科学第一講座 ○工藤 貴正, 三浦 一陽, 吉田 淳
永尾 光一, 原 啓, 西見 大輔
中島 耕一, 石井 延久

【目的】男性不妊患者において染色体変異は希ではなく、造精機能障害との関連も一部では明らかにされている。我々は1992年以来、男性不妊患者の染色体を検討し報告を重ねてきた。今回は、既知事項の検証に加え新知見と思われる事項を報告する。

【対象と方法】対象：1992年1月より99年12月まで8年間に不妊を主訴に東邦大学大森病院リプロダクションセンターを受診した男性患者2513人。方法：男性不妊一般検査に加え末梢血リンパ血培養によるGバンド分染法を行った。一部症例ではCバンド法、Qバンド法、高精度分染法の追加やFISH法を併用し検討した。XYY男性の射出精子染色体をFISH法で検討した。

【結果】患者背景として非閉塞性無精子症は453人（18.0%）、精液濃度2000万/ml以上の症例は1008人（40.1%）であった。正常変異57人（2.3%）を除いた性染色体変異は85人（3.4%）、常染色体変異は51人（2.1%）に認めた。正常変異では9番染色体の腕間逆位が多数を占めた。非閉塞性無精子症群では性染色体異常を高頻度（12.8%）に認め、内分泌異常群でも有意に高頻度であった。常染色体変異は精子濃度500万/ml以下の高度乏精子症で7.1%と高かった。XYY男性ではモザイク例に無精子症、純系例で正常精液を認めた。射出精子染色体における異常も軽度であった。常染色体変異では相互転座を27例で認めた。ロバートソン転座は16例であった。

【考察】染色体変異の出現率は既報及び諸家の報告と同様の傾向を示した。XYY男性においては過剰Yが不妊責任とは考え難い所見を認め、妊孕能において正常変異の範疇に分類し得ると考えられた。相互転座は検討症例を重ねる度に新型の変異が出現し、複数症例で同一型を未だ認めていない。ロバートソン転座は13番と14番染色体間の転座が13例を占め、特定染色体に集中する傾向を認めた。

P-52

当院における機能性不妊症の診断と治療成績

近畿大学医学部産婦人科 ○辻 勲, 高瀬規久也, 向林 学
三橋 洋治, 中野 太郎, 星合 晃

＜目的＞当院における機能性不妊症の診断と治療成績を検討する。＜対象＞1995年1月から1998年12月の期間に、当科において不妊症スクリーニング検査を完全に行うことができた281症例。＜結果＞スクリーニング検査により機能性不妊症と診断した症例は41例14.6%に存在した。これらの内、臨床的子宮内膜症症例10例中4例に腹腔鏡検査を施行したがすべてに子宮内膜症が確認された。逆に、子宮内膜症の疑診もおかなかった31例中6例に腹腔鏡検査を施行し50%に子宮内膜症が確認された。この2群間の妊娠率には有意差はなかった。以上よりスクリーニング検査により機能性不妊症と診断した41例中、腹腔鏡検査後にも機能性不妊症と診断された真の機能性不妊症症例は33例80.5%であった。逆に、スクリーニング検査により器質性不妊症と診断した40例中にも、HSG異常のみを認めた症例中に腹腔鏡検査では異常を認めなかった例、つまり真の機能性不妊症症例は3例1.2%存在しており、これらを合わせると281症例中36例に真の機能性不妊症が存在した。当科の成績ではスクリーニング検査により診断した機能性不妊症41例中10例に腹腔鏡検査を施行し6例60%に妊娠が成立した。スクリーニング検査により診断した機能性不妊症症例中最も妊娠率が高率であったのはHSG後性交指導のみで待機した症例で、31例中13例に妊娠が成立している。これは全妊娠例36例中の50%にも相当する。さらに、HSG後の妊娠までの期間をみると施行周期の妊娠が24%、6カ月以内が48%、1年以内が78%を占めていた。＜結論＞機能性不妊症の診断については腹腔鏡検査を省略することは可能かもしれないが、腹腔鏡検査後の妊娠率が高率であることから治療的意義は大きいと考えられる。治療についてはHSG後6カ月から1年以内は待機療法、それ以後は腹腔鏡検査の実施が必要と思われる。

P-53

クラミジア抗体価と卵管周囲癒着に関する検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○小堀 宏之、武内 裕之、三橋 直樹

＜目的＞ 昨今、性行為感染症のひとつであるクラミジア感染症は卵管性不妊の原因として注目されている。今回、腹腔鏡下に卵管の状況を確認し、かつ血清クラミジア抗体価を測定した症例について卵管周囲の癒着の状態とクラミジア抗体価の関連を検討したので報告する。

＜対象と方法＞ 1997年1月より1998年12月までの間に当院で施行した腹腔鏡手術及び検査519例中、手術前後にクラミジア抗体価測定を施行した96例(子宮卵管造影検査の異常38例、原発性不妊症18例、子宮内膜症13例、子宮外妊娠13例、卵巣嚢腫6例、PID6例、その他2例)を対象とした。腹腔鏡下手術は気管内挿管全身麻酔下で、腹腔鏡検査は静脈麻酔下で気腹法で行った。まず腹腔鏡下に両側付属器の状態を確認し、AFS分類に基づいて癒着スコアを算定した。1)手術前後に測定したクラミジア抗体価(IgG, IgA: ELISA法)によりそれぞれについて陰性・陽性の4グループ(+/, +/+, -/+, +/+)に分類し、グループ間で癒着スコアについて検討した。2) IgG及びIgAが陽性であった症例に対してはクラミジア抗体価と卵管周囲の癒着スコアの相関について検討した。

＜結果＞ 1) IgG, IgAの陰性・陽性で分類した4群間の癒着スコアはそれぞれ-/群: 4.4 ± 1.4 、+/群: 13.2 ± 4.5 、+/+群: 11.1 ± 2.1 でANOVAを用いた検定で有意差を認めた。2) IgG抗体価及びIgA抗体価と卵管周囲癒着スコア間には明らかな相関性は認められなかった。

＜結論＞ 血清クラミジア抗体価が陽性の症例では卵管周囲に癒着が見られる可能性があり、特にこれらの症例で不妊症を合併している場合は腹腔鏡検査が必須であると思われる。また、クラミジア抗体価は癒着の重症度の指標とはなりえないことが示唆された。

P-54

採卵時麻酔後の回復過程と不妊治療成績

：プロポフォールとケタミンの比較

埼玉医科大学総合医療センター麻酔科 ○照井 克生、半田 富美、川添 太郎
 埼玉医科大学総合医療センター産婦人科 田谷 順子、伊東 宗毅、斎藤 正博
 林 直樹、石原 理、木下 勝之

「目的」IVF/ICSIのための採卵時の静脈麻酔法として、当施設では従来ケタミンを用いてきた。今回麻酔後の回復が速やかな特徴をもつプロポフォールを用い、その効果と副作用を検討した。「対象と方法」1999年10月より2000年5月までの8ヶ月間に採卵を行った216人を対象とした。プロポフォール間欠静注を主体とした麻酔法を用いた症例をP群、ケタミン静注を中心とした麻酔法を用いた症例をK群として、麻酔後の回復過程と不妊治療成績に与える影響を比較した。麻酔中は麻酔専門医により管理を行い、麻酔覚醒直後と約2時間後に患者に問診し、下腹部痛・悪心・ふらつきの程度、記憶・夢の有無と内容を調べ、回復過程を比較検討した。「結果」①プロポフォールの平均投与量は257mg、ケタミンの平均投与量は50.7mgであった。②麻酔覚醒直後のふらつきは、P群で44.9%、K群で91.2%とP群で有意に少なく、2時間後の時点でも差が認められた。悪心の頻度には差がなかった。K群では治療中の記憶を訴えた患者が48.6%あった。これに対して下腹部痛の訴えは、麻酔直後ではP群がK群よりも多かった(60.9%対49.1%)ものの、2時間後には差が消失した。当日の退院が遅れた例は共に見られなかった。③P群、K群で採卵率、受精率に差はなかった。妊娠率はP群21.3%、K群27.1%とP群で少ない傾向にあった。「考察」プロポフォールは作用時間が短く、速やかな覚醒と不快な副作用が少ない特徴がある。今回の結果から、プロポフォールは短時間に強い刺激が加わる採卵時の麻酔に適していることが示された。しかし呼吸抑制が強く、投与時には麻酔専門医による管理が必要と考えられる。また、IVFの成績に影響がないかさらに検討する必要がある。

P-55

日本人正常男性の生殖機能についての国際調査
—非選択的若年者を対象として—

聖マリアンナ医科大学泌尿器科学 ○西田 智保, 岩本 晃明, 矢島 通孝
星野 孝夫, 馬場 克幸, 松下 知彦
山川 克典, 宮野 佐哲, 吉池 美紀
野沢資亜利

1992年にコペンハーゲン大の Skakkebeak らのグループより、この半世紀でヒト精子数が半減している、との衝撃的な報告がなされ、また、同じ時期に欧米諸国において、精巣腫瘍、尿道下裂、停留精巣といった生殖異常の発生頻度が増加していることから、なんらかの外因性環境因子（内分泌攪乱化学物質）が関与しているのではないかと、との仮説が立てられた。その検証のために、Skakkebeak らを中心とする正常男性の生殖機能に関する国際共同研究が発足し、まず妊婦のパートナー（配偶者）を対象とした男性生殖機能の調査を実施し、今回デンマーク、フィンランドですで行われた非選択的若年者を対象とする調査に参加した、現在 227 名までの調査が進んだので、国際調査の途中経過を報告する。1999 年 5 月から川崎地区において、対象者は、年齢 18 歳から 24 歳までの若年男性（男性集団として大学生）で非選択的若年者を対象にした、診察、精液検査、血液検査、アンケート調査からなる生殖機能調査を実施した。平均年齢は 20.5 歳、精液所見の平均値は、精液量 2.8ml、精子濃度 $69.5 \times 10^6 / \text{ml}$ 、運動率 58.1 %、精巣容量は、左が $23.1 \pm 4.2 \text{ml}$ 、右が $23.8 \pm 3.8 \text{ml}$ であった。1 例に精巣腫瘍を認めた。その他の生殖奇形は認めない。精索静脈瘤は左側に 21.7 %（Grade 1 : 10.6 %, Grade 2 : 7.1 %, Grade 3 : 4.0 %）、右側に 8.0 %（Grade 1 : 4.9 %, Grade 2 : 2.7 %, Grade 3 : 0.4 %）認めた。このうち左側のみは、15.9 %、右側のみは、2.2 %、両側は、5.7 % であった。現在、アンケート調査、血液中の各種内分泌ホルモンの測定値等を解析中であり、今後、各国のデータと比較し、内分泌攪乱物質との関連を検討してゆく予定である。本研究は、厚生省厚生科学研究で行われた。

P-56

男性不妊症の実態に関する研究

東邦大学医学部泌尿器科学第一講座 ○三浦 一陽, 永尾 光一
博慈会記念総合病院 白井 将文

【目的】男性不妊症の本邦での実態は不明な点が多いので、その実態を知る目的で全国調査を行った。

【方法】1996年～1997年に日本泌尿器科学会の許可を得て、泌尿器科指導医のいる全国の病院を対象にアンケート方式で新患数、男性新患数、男性不妊新患数を調査した。一方、男性不妊の診療を自施設で行っているか、また診療していない場合、どのような施設に紹介しているかも調査した。1998年は1997年の調査で自施設で男性不妊を治療している施設に不妊患者数のみを答えて頂く調査を行った。

【結果】1996年の回収率は1,133施設中582施設（51.4%）で、診療しているが308施設（52.9%）診療していないが274施設（47.1%）であった。1997年の回収率は1,151施設中508施設（44.1%）で、診療しているが254施設（50.2%）診療していないが252施設（49.8%）であった。1998年は1997年に自施設で男性不妊の診療をしている254施設を調査し130施設（51.2%）より回答を得た。

泌尿器科外来新患に対し男性不妊症の占める頻度は1996年は泌尿器科外来新患数350,742例の内男性新患数225,624例（64.3%）であり男性不妊新患数は5,369例で泌尿器科外来新患の1.53%、男性新患数の2.38%の頻度であった。1997年は泌尿器科外来新患数299,706例の内男性新患数191,572例（63.9%）であり男性不妊新患数は5,863例で泌尿器科外来新患の1.96%、男性新患数の3.06%の頻度であった。1998年は泌尿器科外来総新患数191,940例の内男性新患数は125,782例（65.5%）であり、男性不妊症は4,611例で泌尿器科外来新患の2.4%、泌尿器科男性患者の3.7%の頻度であった。

【考察】1996～1998年間の回答より、推定して現在男性不妊で診療を受けているのは、全国で10,000人位と推察される。一方、婦人科的不妊専門クリニックの急増により、男性側の原因を診察することなく、直ちにARTを行う傾向があり、診療を受けない男性不妊も相当数存在すると考えられる。

P-57 自然妊娠カップルの出生児における健康アンケート調査結果 —妊婦のパートナーを対象とした男性生殖機能国際調査より—

聖マリアンナ医科大学泌尿器科学 ○宮野 佐哲, 岩本 晃明, 矢島 通孝
星野 孝夫, 馬場 克幸, 松下 知彦
山川 克典, 西田 智保, 吉池 美紀
野沢資重利

過去 50 年間に精子数の減少や、精巣腫瘍、尿道下裂、停留精巣といった生殖器の異常が増加しているという報告があり、原因として外因性内分泌かく乱化学物質の影響が示唆されている。しかし、一般生活環境において、内分泌かく乱化学物質が本当に男性生殖器に影響を及ぼしているかについて現在のところ明確な解答が得られていない。

我々は、厚生省厚生科学研究費の補助により 1997 年 11 月から 1998 年 12 月にかけて川崎・横浜地域において、妊婦のパートナー（配偶者）を対象とした男性生殖機能の国際調査を実施し、妊孕能を有する日本人男性の精液検査、理学所見、血液中のホルモン値の測定を行った。この疫学調査は、現在問題となっている内分泌かく乱物質の男性生殖機能への影響を検討する目的で、国際共同研究として実施されている。この調査の参加 359 カップルを対象に、追跡調査として、生まれた子供に関するアンケート調査を実施した。今回、出生児の健康状態および先天性疾患の発生等についての結果を集計したので報告する。アンケート調査への回答率は 66% であり、合計の子供の数は 231 名となった。生まれた子供の月齢、体重、身長、父親年齢の平均値はそれぞれ、 9.9 ± 0.4 ヶ月、 2989.9 ± 409.7 g、 49.2 ± 2.3 cm、 32.0 ± 4.3 歳であった。子供の性別は、男児比が 0.515 であった。この数値は日本全国の最近の統計結果と近い値である。子供に認められた先天異常は、心疾患 4 件 (1.73%)、停留精巣 1 件 (0.43%)、その他 7 件（陰嚢水腫 2 件、先天性横隔膜 1 件など）であった。今後は国際調査で得られた両親のデータと対応させて、内分泌かく乱化学物質との関連について検討していきたい。本研究は厚生科学研究及び環境庁委託研究事業で行われた。

P-58 不妊クリニックにおけるカウンセリングの構成と機能

IVF 大阪クリニック ○山口 美穂, 岩本 英熙, 中岡 義晴
河田 淳, 福田 愛作, 森本 義晴

【目的】日本において、不妊カウンセリングは 1990 年代半ばから始まっているが、諸外国に比べるとまだまだ未熟である。今回、我々は当クリニックでおこなっている不妊カウンセリングの構成と機能を紹介することにより、諸家の批判を目的とした。【方法及び結果】当クリニックでは、心理学と社会福祉学を専攻とする 1 名のカウンセラーが業務にあっている。不妊カウンセリングを進めていくにあたり、3 つの構成と機能に分けている。①ファーストインタビューは、原則として初診患者全員にアセスメントを目的として 20 分～30 分かけて行う面接である。治療に関する不安や要望を聴取するなかで、患者が望む治療の速さやどの治療段階で抵抗を感じる可能性があるかを推測する。併せて、不妊を意識してから気持ちの変化、家族構成など患者をとりまくサポート源、仕事の有無、夫の治療に対する協力、性交渉を含めた夫婦の関係、経済状況の項目にわたる心理社会面の聴き取りを行い、所見にまとめる。特に心理面に関しては、神経症か否かの判定を行う心理テスト (CMI) も行う。②ミドルインタビューは、医師からの要請や希望者を対象とし、40～50 分かけて行う 2 回目の面接である。主な目的は、治療段階をレベルアップしようとするときの意思決定、夫婦の葛藤解決、検査や治療についての医療的な疑問の解決のために行われる。医療的側面が多く関与するものに関しては、医師と緊密に連絡をとり、問題を解決していく。また、精神面での不調がみられると判断した場合、継続して治療的面接を行う手続きをする。③ストレスケアは心理学的にケアが必要と考えられた患者に対する治療面接で、自律訓練法などのリラクゼーションも取り入れつつ行う。時間は 1 回 40～50 分で、一人ひとりの状態に応じて面接回数も異なる。【考察】日本では、不妊カウンセリングを看護部門で担当していることが多いが、その機能は医学的側面に偏る傾向がある。カウンセリングの機能にアセスメントや心理治療も加えるならば、生殖医療にも通じ、心理学の専門教育を受けた者がカウンセラーの役割を担うことが重要であると考えられる。

P-59

不妊治療の満足度調査

岡山二人クリニック ○林 伸旨, 名越 一介, 杉山喜代美

【目的】不妊治療における被医療者の満足は、挙児できて初めて達成されるものであり、医療者は妊娠率向上に努めなければならない。また医療は知識・技術の一方的供与ではないことから、被医療者の満足度調査が必要であると考えられる。【方法】1997年より毎年2月に不妊治療外来通院者を対象として、無記名アンケート方式により「満足・ほぼ満足・普通・やや不満・不満」の五段階評価で満足度調査した。さらに本年3月には総合評価以外の項目を変更し追加調査した。

【成績】医師評価で満足回答が占めた割合は、1997年（有効回答数187）50%、1998年（176）54%、1999年（216）53%、2000年（137）55%であった。総合評価で満足回答は、1997年（186）43%、1998年（237）46%、1999年（247）52%、2000年（181）51%であった。追加調査で検討した総合評価五段階回答別の百点満点評価は、満足（ $n=61$ 、33%） 95.4 ± 5.3 (mean $\pm$ SD)、ほぼ満足（ $n=102$ 、56%） 85.8 ± 7.9 、普通（ $n=18$ 、10%） 74.4 ± 10.6 、やや不満（ $n=3$ 、2%） 53.3 ± 15.3 、不満（ $n=0$ ）であった。また満足回答は、それぞれ快適環境 61%、待ち時間 33%、会計処理 44%、心理配慮 39%、秘密保持 45%、成績公開 56%、情報提供 26%、方針提示 23%、希望選択 41%、説明同意 48%であった。

【結論】機関総合評価の満足回答は、本年2月と3月で質問項目を変更追加して調査したところ、満足回答が減少し、ほぼ満足回答が増加した。特に情報提供や方針提示での満足回答率が低く、当院の問題点が明らかとなった。日常診療における被医療者の満足は、情報や技術の提供だけでなく、心理面やプライバシーの配慮、快適環境、適正な待ち時間などから総合的に得られると考えられ、ニーズを把握し、問題点の抽出ができる調査を同一項目で継続しておこなう必要があると考えられる。

P-60

生殖補助医療技術に対する国民および医師の意識調査

昭和大学医学部産科婦人科学教室 ○岩崎 信爾, 田原 隆三, 藤間 芳郎

矢内原 敦, 齋藤 裕, 矢内原 巧

岡井 崇

山梨医科大学保健学Ⅱ講座 山縣然太郎

【目的】日本における生殖医療のよりよい方向を検討する目的で、平成11年度厚生省科学研究（子供家庭総合研究事業）の一環として生殖補助医療に対する患者の意識調査を行い、さらに同年代の一般女性と患者における性別役割（ジェンダー）に関する検討を行った。【対象及び方法】一般国民（3646名）、日本産科婦人科学会体外受精登録施設の産婦人科医（402名）、登録施設以外の産婦人科医（399名）、小児科医（400名）、患者（804名）、の合計5651名を対象としてアンケート調査を行った。【結果】総数5651名中3492名（回収率：合計で61.8%、一般国民で70%）の回答を得た。ドナーの精子もしくは卵子を用いた体外受精を「認めてよい」または「条件付きで認めてよい」と答えたのは小児科医を除く各群の半数以上であり、患者では約80%であった。第三者の受精卵を用いた体外受精、代理母、借り腹に関する質問で「認めてよい」または「条件付きで認めてよい」と答えたのは患者が最も多くそれぞれ53.4%、54.1%、66.5%であった。しかしいずれの方法においても自分自身が利用したいと答えたのは数%であった。また、患者のジェンダーについての意識は、「結婚したら子供を持つのが当たり前」や「家を自分の代で途絶えさせてはいけない」などが同年代の一般国民に比較して多く、保守的であった。【考察】本研究は回答率が60%以上と高く国民意識のスタンダードとなりうる資料であり、さらなる解析を行い今後の我が国の生殖医療の在り方を考える参考としたい。また不妊治療患者がどういう意識で治療を受けているのか、生まれてくる子どもの権利をどう考えているのかなどを検討する資料となり得ると考える。

一 般 演 題

(示説発表-unmoderated poster)

UP-1

PCOSの臨床的検討 一重症度の指標を求めて一

聖粒会慈恵病院産婦人科 ○小山 伸夫, 蓮田 大二

[目的]月経異常の原因の一つであるPCOSは症候群で単一の疾患ではないと考えられ、その病態は未だ不明で重症度を判定する指標はない。そこで日産婦の診断基準に基づいたPCOSを臨床的に検討し、重症度を判定する指標を求めた。[方法]1998年1月から12月までの1年間に月経不順、不妊症等にてLH-RHテストを施行した190例を対象とした。またLH-RHテストでLH前値 $>7\text{mIU/ml}$ 、FSH前値 $<14.4\text{mIU/ml}$ をPCOSパターンと設定した。[成績]全体の190例中LH-RHテストがPCOSパターンを示したのは57例(30%)であった。解析可能な171例のうち月経不順の症例は112例(A群)、規則的月経周期を示す症例は59例(B群)であった。A群のうちテストがPCOSパターンを示したのは42例(37.5%)(C群)であり、一方B群では11例(18.6%)に過ぎなかった。C群のうちUSGが施行された33症例のうち両側卵巣がpolycysticであったのは30例(90.9%)であり、このうち23例は卵巣の超音波所見は散在型で、7例はネックレスパターンであった。PCOSを対照群と比較すると、LH/FSH、 ΔLH の増加はもとより年齢の低下、月経期間の延長が統計学的有意差を持って認められた。またLH/FSH、 ΔLH は月経不順の程度と正の相関を示した。PCOSにおいてLH/FSHは月経不順度と相関した。[結論]1.最近当科で施行した全LH-RHテストのうちPCOSパターンを示した症例は30%を占めた。2.月経不順例は規則的月経周期を有する例に比較してLH-RHテストにおけるPCOSパターンの率は増加した。3.PCOSは対照群より有意に年齢の低下、月経期間の延長が認められた。4.PCOSは肥満、テストステロン、PRLと相関しなかった。5.LH/FSH、 ΔLH は月経不順度と相関し、特にLH/FSHはPCOSの重症度の判定基準になる可能性が考えられた。

UP-2

多嚢胞性卵巣症候群に対するインスリン抵抗性改善薬
メトフォルミンの使用経験九州大学生体防御医学研究所附属病院産婦人科 ○浅野間和夫, 松田 貴雄, 近藤 晴彦
加藤 秀則, 和気 徳夫

目的：近年、多嚢胞性卵巣症候群（以下、PCOS）の患者とインスリン抵抗性との関連が指摘され、インスリン抵抗性改善剤がPCOSの治療に有用であることが報告されている。今回我々は高インスリン血症を伴うPCOS 2症例に対しピグアナイド系インスリン抵抗性改善薬メトフォルミンを用いてその効果を検討したので報告する。

対象及び方法：いずれもHMGにて排卵を認めない、高インスリン血症を伴うPCOS 2症例を対象とした。メトフォルミン 1000 mg/day 単独内服による治療を症例1は6ヶ月間、症例2は7ヶ月間行い治療の前後で内分泌学的検討を行った。また、両症例とも 3β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損が疑われたためタイプII 3β -HSD 遺伝子の変異検索を行った。

結果：両症例とも高アンドロゲン状態とインスリン抵抗性の改善傾向が認められたが、なお高値で自然排卵には至らなかった。症例1はメトフォルミンによる治療後、卵巣表面電気焼灼術を施行し、HMGによる排卵誘発を行ったところ妊娠成立した。症例2は治療終了後、直ちにHMGにて排卵し、妊娠成立した。尚、両症例ともタイプII 3β -HSD 遺伝子の変異は認めなかった。

結論：(1) 高インスリン血症を伴うPCOS 2症例に対してインスリン抵抗性改善薬メトフォルミンを使用した。(2) 2例とも遅発型の 3β -ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損を疑わせる検査所見であったが遺伝子変異は同定できなかった。(3) 2例ともメトフォルミン単独投与により高アンドロゲン状態とインスリン抵抗性の改善傾向を認めたが十分な改善ではなかった。2例中1例は直ちにHMGを用いたところ排卵、妊娠成立に至った。PCOSの治療に対するメトフォルミンの使用についてはさらなる検討を要すると考えられた。

UP-3

重症卵巢過剰刺激症候群の amrinone による治療

東京大学医学部附属病院分院産科婦人科 ○高井 泰, 五十嵐敏雄, 末永 明彦¹⁾
 東京大学医学部附属病院産科婦人科¹⁾ 丸山 正統²⁾, 大須賀 稯¹⁾, 藤原 敏博¹⁾
 丸山正統記念病院産婦人科²⁾ 百枝 幹雄¹⁾, 西井 修, 矢野 哲¹⁾
 堤 治, 武谷 雄二¹⁾

【目的】近年、卵巢過剰刺激症候群 (OHSS) の発症を予測・予防する様々な方法が検討されているが、依然として発症を完全に予防することは困難である。乏尿例に対しては低用量 dopamine 療法が用いられることが多いが、受容体の down regulation による感受性の低下という問題を有しており、反応性不良の難治症例に苦慮することも少なくない。当科では従来の治療法に加えて、血行動態の改善とともにその利尿作用が近年注目されている amrinone を用いて良好な成績を得ているため、報告する。

【対象】当科で入院管理した重症 OHSS 6 症例 (IVF-ET 5 例、その他 1 例) を対象とした。

【方法】輸液、アルブミン投与に対して反応性不良な乏尿を認めた症例に対して、インフォームドコンセント下に amrinone (アムコラル[®]) 2.5-15 $\mu\text{g/kg/min}$ を持続静注した。amrinone 投与前後に心電図検査を施行した。

【結果】dopamine 反応性不良症例 3 症例を含め、全例で尿量の有意な増加を認め、同時に血液濃縮傾向の改善も認められた。副作用として動悸、肝酵素の上昇が認められたが、頻脈以外の心電図異常や明らかな肝機能障害は認められなかった。1 例では dopamine への変更後に乏尿が再発したため amrinone を再開したところ、尿量の改善を認めた。投与期間が 10 日以上に及んだ 2 症例を含む 3 症例が健常児を出産した。

【考察】amrinone は、乏尿を認める OHSS 症例、特に dopamine に対して反応性不良な難治症例に対して有用であるとの印象を得た。一方、副作用として動悸、肝酵素の上昇を認めること、持続静注のみでは利尿効果発現までに 12-24 時間を要することは今後の課題であると考えられた。文献的に妊婦に対する使用も問題ないと考えられ、我々の検討でも健常児が得られているが、胎児に対する安全性も今後の検討課題であると考えられる。

UP-4 クエン酸クロミフェン(クロミッド)により OHSS をおこした一症例

日立製作所日立総合病院産婦人科 ○樽本 祥子, 廣井 久彦, 所 恭子
 横田 治重

クエン酸クロミフェン (クロミッド) は排卵誘発剤として多用され、hMG-hCG 療法に比べ、卵巢過剰刺激症候群 (OHSS) の頻度や重症度は低いとされている。今回我々は、クロミッドにより OHSS を起こし、腫大した卵巣が茎捻転を起こした症例を経験したので、文献的考察を加え報告する。

症例は 23 歳の未婚妊婦で、他院にて月経異常のためピルサイクルの後、クロミッド 100mg・デュファストンを 5 周期内服していた。月経周期 19 日目に左下腹痛が出現したため、当院内科を初診し、当科を紹介受診した。経膈超音波検査にて両側卵巣の多房性嚢胞性腫大と少量の腹水を認めた。Ht 値 41.4%, WBC 9300、CRP 陰性、血清蛋白 6.7g/dl、エストラジオール (E2) 4060pg/ml、と Ht 値および E2 値の上昇を認め、中等症の OHSS と診断した。左付属器に一致する腹痛が持続し、腹膜刺激症状も認めたため、腫大した卵巣が茎捻転を起こしていると診断し、開腹術を施行した。開腹時 7cm 大の左卵巣嚢腫が 360° 茎捻転していたが、虚血性変化は明らかでなかった。右卵巣にも 5cm 大の嚢胞性腫瘤を認め、両側卵巣嚢腫摘出術を行った。病理組織診断は、multiple cysts of follicular origin で、OHSS に適合するものであった。術後経過は良好で、術後 6 日目には Ht 値 37.5% となり、術後 8 日目に退院となった。術後の経膈超音波検査では、両側の卵巣に follicular growth をみとめている。

UP-5 卵胞壁組織における Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) mRNA 発現の性周期における変動

金沢医科大学産科婦人科学教室 ○郭 一琳, 藤井 亮太, 宮崎さつき
富沢 英樹, 金子 利朗, 牧野田 知

〔目的〕排卵現象における Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) の関与が注目されつつある。今回我々は、卵胞壁組織における G-CSF mRNA の発現の正常性周期における変動を明らかにすることを目的とした。

〔方法〕当科において非卵巣病変のため婦人科手術を受けた正常性周期を有する女性 (n=15、年齢 37.3 ± 7.8 歳、M ± SE) を予めインフォームド・コンセントを得た上で対象とした。基礎体温、各種性ホルモン値によって対象を卵胞期前期、卵胞期後期、排卵期、黄体期に分類し、婦人科手術時に成熟卵胞もしくは黄体壁の一部を採取し、Real time quantitative PCR (TaqMan PCR) 法にて G-CSF mRNA の相対的発現量の変化を測定した。統計学的検討は ANOVA 法により行なった。

〔成績〕卵胞壁組織における G-CSF mRNA の相対的発現量は卵胞期前期 15.3 ± 0.9、卵胞期後期 137.7 ± 31.9、排卵期 14.8 ± 3.7、黄体期 5.3 ± 3.5 であった。卵胞期後期の G-CSF mRNA 発現量は卵胞期前期に比べて 9.0 倍、排卵期に対し 9.3 倍、黄体期に対し 25.8 倍と著しく有意 (P < 0.001) に高く、また卵胞期と排卵期は黄体期に比べて有意に高かった。

〔結論〕以上の結果は、末梢血清 G-CSF 値が排卵の 1～5 日前に有意な高値を示すという報告を強く支持すると考えられ、G-CSF が排卵前卵胞内で局所産生され排卵現象に深く関連性を有していることを明らかにした。

UP-6 成熟マウスの卵胞発育に対する Androgens の作用

群馬大学医学部産科婦人科学 ○王 華, 安藤 一道, 上条 隆典
安部由美子, 山田 清彦, 水沼 英樹

〔目的〕成熟マウスの未熟卵胞 (preantral follicle) と成熟卵胞 (tertiary follicle) に対する Androgens の作用を検討するため、卵胞培養系を用いて実験した。〔方法〕8 週齢 BDF1 系マウスより両側卵巣を摘出し、実体顕微鏡下に卵巣に楔状切開を加え 28 ゲージ針にて卵巣実質を剥離するように卵胞を採取した。このうち 1～2 層の顆粒膜細胞層を伴い卵細胞を有し基底膜が明瞭で 100～120 μm の preantral follicle と、antral formation を有し直径 260 ～ 320 μm の tertiary follicle を実験に使用した。1well あたり 10 個の preantral follicles, または 5 個の tertiary follicles を培養液 (DMEM+ITS⁺) 1ml と共に 4 日間培養し (control)、同時に aromatizable androgen である testosterone (T)、androstenedione (Δ_4) および non-aromatizable androgen である dihydroxytestosterone (DHT) を単独添加培養し、4 日間卵胞径 (2 方向の平均値) の変動を実体顕微鏡下で連日計測した。〔成績〕Preantral follicles について、 10^{-10} ～ 10^{-7} mol の T、 Δ_4 および DHT にて単独培養すると、濃度依存的に有意に卵胞径が増大し 10^{-7} mol の T、 Δ_4 、DHT 添加培養後 4 日目の卵胞径は各々 148.3 ± 2.1 (mean ± SE) μm (n=30)、147.2 ± 1.9 μm (n=30)、146.1 ± 2.3 μm (n=30) と、control (110.5 ± 1.6 μm) (n=30) に比べ有意 (p < 0.0001) の卵胞径増大作用を認めた。一方、tertiary follicles については T、 Δ_4 、DHT にて単独培養すると濃度依存的に卵胞径が縮小し、 10^{-7} mol の T、 Δ_4 および DHT 添加培養後 4 日目の卵胞径は各々 257.5 ± 5.1 (mean ± SE) μm (n=30)、253.8 ± 6.9 μm (n=30)、262.9 ± 9.2 μm (n=30) と、control (303.0 ± 1.6) (n=30) に比べ有意 (p < 0.01) の卵胞径の縮小を認めた。〔結論〕成熟マウスの卵胞培養系を用いた検討から、androgens は未熟卵胞に対しては卵胞発育促進作用を、成熟卵胞に対しては atretogenic に作用することが示唆された。

UP-7

細胞膜外ドメインがゴナドトロピンレセプターの
インターナリゼーションに対する役割について

群馬大学医学部産科婦人科学 ○中村 和人, 峯岸 敬

7回膜貫通 G 蛋白結合型レセプターとして FSH, LH, TSH レセプターは、他の7回膜貫通 G 蛋白結合型レセプターと比べてサブファミリーを形成するほど N 末の細胞膜ドメインが長い。その中でも FSH と LH レセプターはそのホモロジーが高く、最も低い細胞膜ドメインで約 50%、最も高い膜貫通部位では約 75% となっている。一方、ホルモンがレセプターに結合してからのインターナリゼーションを考えてみると、rFSH レセプターではその half-life が約 12 分で、rLH レセプターでは約 100 分である。今回 rFSH, rLH レセプターのキメラレセプターを作ってレセプターのどの部分、つまり細胞膜外、膜貫通部位、C 末端細胞膜内のいずれのドメインがレセプターのインターナリゼーションに対して重要であるか検討を加えた(例えば FLL というキメラレセプターは細胞膜外が FSH, 膜貫通部位が LH, C 末端細胞内ドメインが LH レセプターでできていることを意味する)。その結果によると、細胞膜外ドメインが FSH レセプターでできているキメラ、つまり FLL, FFL, FLF はインターナリゼーションのパターンが FSH レセプターに近く、LH レセプターでできているキメラ、つまり LFF, LLF, LFL は LH レセプターのパターンに近いことが明らかになった。さらに、ホルモンがレセプターに結合した後のレセプター活性が、インターナリゼーションに影響を及ぼすことが知られている。そこで各々のリガンドとキメラレセプターを結合させ、細胞内 cAMP を測定した。その結果、レセプター活性がキメラレセプターのインターナリゼーションに影響を与えていないことが分かった。今回の研究結果からゴナドトロピンレセプターのインターナリゼーションに細胞膜外ドメインが重要な役割をしていることが初めて示された。

UP-8

clomiphene citrate (CC) のエストロゲン受容体 α , β を介した
作用について

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○廣井 久彦, 百枝 幹雄, 黒澤 貴子
東京大学医学部附属病院分院産科婦人科* 堤 治*, 武谷 雄二

【目的】ER には二つの subtype が存在することが近年報告され、組織分布やそれぞれの subtype を介した作用に違いがあることが示されている。排卵誘発剤として用いられている CC はエストロゲン受容体 (ER) を介して、antagonist あるいは agonist として作用すると考えられている。今回、各々の ER subtype を介した CC の作用について検討した。【方法】293T cell に ER α あるいは ER β の発現ベクターとエストロゲン応答領域を持つ luciferase レポーターベクターを遺伝子導入し、種々の濃度の 17 β -estradiol (E2) および CC を培地に添加し、luciferase 活性を測定した。【成績】ER α を導入した系では CC $10^{-10} \sim 10^{-12}$ M の濃度で E2 10^{-10} M の転写活性のおよそ 30% の転写活性を認めたが、ER β を用いた系では CC 添加による転写活性促進は認められなかった。種々の濃度の E2 と CC を同時に添加した系では、ER β を介した場合の方がより antagonist 作用が強い傾向が認められた。【結論】CC は ER α を介してのみ agonist 作用を発揮し、CC の antagonist 作用は ER α および β いずれを介しても認められた。以上より CC の作用は ER subtype により異なることが示された。

UP-9 マウス胚の神経外胚葉に発現するNKX2遺伝子は分泌因子 Shh シグナルに依存的である

旭川医科大学産婦人科 ○田熊 直之, 千石 一雄, 小森 春美
植谷 恵子, 石川 睦男

[目的]

NKX2 遺伝子群は脊椎動物の胚形成の間、その形態形成と細胞分化を調節しているホメオドメインを有する転写因子群である。マウス胚において数種のNKX2 遺伝子は腹側神経外胚葉に発現するが、他のNKX2 遺伝子は心臓や消化管などの器官が誘導される中、内胚葉に発現する。一方Sonic hedgehog (Shh)は脊椎動物の発生初期胚において神経管の背腹軸形成、四肢形成、腹側正中構造の形成などに重要な役割を担っているシグナル分子とされている。今回我々は、Shhの胚発生における役割を明らかにするために、Shh ノックアウトマウス胚において6種のNKX2 遺伝子群の発現を検討した。

[方法]

NIHのUsing Animals in Intramural Researchに従い、野生型マウス胚とShh ノックアウトマウス胚を使用し、Nkx2.1, Nkx2.2, Nkx2.3, Nkx2.5, Nkx2.6, Nkx2.9の6種のプローブを用いて whole mount in situ hybridization を施行した。

[成績]

神経外胚葉に発現するNkx2.1, Nkx2.2, Nkx2.9の発現はShhシグナルが必要であった。また中、内胚葉に発現するNkx2.3, Nkx2.5, Nkx2.6の発現はShhシグナルに非依存的であった。

[結論]

Shhシグナルは神経外胚葉に発現するNkx2.1, Nkx2.2, Nkx2.9の転写を誘導し、神経管、前脳の形成に必須である。しかしながらNkx2.3, Nkx2.5, Nkx2.6等の遺伝子の転写が必要な消化管等の中、内胚葉性器官の形成においてShhシグナルは関与していない可能性が示唆された。

UP-10 成熟および未熟卵の体外培養が卵紡錘体へ及ぼす影響の検討

福島県立医科大学産科婦人科学講座 ○林 章太郎, 柳田 薫, 矢澤 浩之
片寄 治男, 佐藤 章

[目的] 長時間培養を行った成熟卵や、未熟卵の培養から得られた成熟卵では受精・発生能の低下が指摘されている。紡錘体は染色体を分離させる重要な働きをするが、不安定で障害を受け易い。そこで培養卵の発生能低下の原因として卵紡錘体異常に着目し、培養環境が卵の紡錘体異常を誘導している可能性を検討した。 [方法] B6D2F1雌マウスに過排卵誘起を行い、hCG投与15時間後に卵管よりmetaphase II (MII)卵を、またhCG投与7時間後卵巣を細切してGV期(GV)卵とmetaphase I (MI)卵を採取した。0.05%hyaluronidase溶液の中で卵丘細胞を除去後、成熟卵をHTF液中(37℃, 5%CO₂, 5%O₂, 90%N₂)で48時間まで、未熟(GV, MI)卵ではMII卵となるまで培養した。紡錘体の染色には培養後の卵を固定し、 α -tubulin抗体を、次いでFITC標識2次抗体を反応させ、染色体の染色にはHoechst33258を用いた。高感度CCDにて蛍光顕微鏡下に卵の画像を記録し紡錘体形状と染色体配列を評価した。 [結果] 1)成熟卵の培養時間による影響: 培養0時間では正常紡錘体を持つ卵は88.3% (83/94)、異常紡錘体(粗雑、小紡錘体、不定形、無形成) 7.4%、判定不能4.3%で、また染色体配列異常を6.4% (6/94)の卵に認めた。培養24時間の卵では異常紡錘体を50.0% (41/82)、染色体配列異常を46.3% (38/82)に認め、培養48時間ではそれぞれ69.2% (90/130)、73.8% (96/130)であった。2)未熟卵の成熟培養による影響: GV卵から得られたMII卵では異常紡錘体を48.1% (25/52)、染色体配列異常を46.2% (24/52)に認め、MIからMIIとなった卵ではそれぞれ51.9% (14/27)、37.0% (10/27)であった。 [結論] 成熟卵では培養時間が長ければ長いほど卵紡錘体の構造異常、染色体配列異常が増加し、未熟卵の培養で得られたMII卵では更に高頻度にそれらの異常が認められた。このことはヒトにおける培養卵の低い発生成績の一因である可能性が示唆された。

UP-11

未成熟卵子の体外培養 一年齢との関連について

藤野婦人科クリニック ○竹内 和美, 横山 綾子, 沖村 匡史
濱野 晃浩, 宮田 広敏, 西本 真弓
福本 純代, 藤野 祐司

[目的]近年、体外培養技術の進歩はめざましく、未成熟卵子の体外培養も可能となってきた。そこで、我々は小卵胞より得られた未成熟卵子の体外培養時間と患者年齢の関連、ならびに成熟度、受精率、分割率について検討を行ったので報告する。

[材料と方法]未成熟卵子は、当院においてインフォームドコンセントを得たIVF-ET患者で主席卵胞成熟時にhCG10000 IUを投与した60人(25-44才)の小卵胞(直径9~11mm)から穿刺吸引(吸引圧80mm Hg)し採取した。体外成熟培養にはMedium 199 (Sigma)に10%血清を添加した培養液を用い、37°C CO₂ 5% O₂ 5%で成熟培養を行った。培養後MII期への成熟が見られた卵子に対し、夫精子を用いてICSIを施行した。ICSI後HTFにSSSを10%添加した培養液で培養し受精並びに分割を観察した。また、患者FSHの値を測定し比較検討した。

[結果]89周期より91個の未成熟卵子が採取された。そのうち75個(82.4%)の卵子はGV期及びMI期からMII期への成熟が認められたが、16個(17.6%)は成熟が認められなかった。年齢による成熟時間及びFSH値は、それぞれ30歳以下で平均48.0時間、6.5 IU/L、31-40歳で平均33.7時間、8.2 IU/L、41歳以上で平均24.3時間、14.7 IU/Lであった。MII期へ発達した75個の卵子はICSIにより49個(65.3%)が受精、43個(87.8%)が分割した。

[結論]hCG投与後小卵胞から得られた未成熟卵子は体外培養により高率で成熟し、卵子成熟に要する時間が短いほど受精率・分割率が上昇する事が明らかとなった。また、患者の年齢が高くなるにつれ、採取された未成熟卵子の成熟に要する時間は有意に短くなることが明らかとなった。このことから、高齢患者の治療において未成熟卵子の体外培養の可能性が示唆された。

UP-12

long法排卵誘発における prolactin (PRL) 併用投与による
卵发育の促進

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○佐藤 学, 神野 正雄, 酒井 謙
杏林大学医学部保健学部* 星合 敏久, 高橋 康一*, 岩下 光利
中村 幸雄

[目的] 排卵誘発法bromocriptine-rebound methodがrebound現象で内因性のPRLを増加させることにより、ヒト体外受精での卵成熟と妊娠率を改善することを、我々は報告してきた。本研究では、gonadotropin (Gn)とPRLの併用投与による排卵誘発法をマウスで検討し、卵成熟および胚发育に関する効果を解析した。[方法] 8週齢マウスにGnRH agonistで下垂体を脱感作した後、pregnant mare serum Gn (PMS)、hCG投与で排卵誘発を行った。この際、hCG投与の72時間前(n=113)、48時間前(n=61)、24時間前(n=21)または当日同時(n=34)に、0、0.01、0.1、0.3、1、3、10または30単位のPRLを腹腔内に併用投与した。その後、交配し、hCG投与後26~29時間に採卵し、排卵総数、受精卵数を比較した。さらに前核期受精卵を胞胚期まで培養し、胞胚までの发育を比較した。[成績] hCGの72時間前(PMSの24時間前)のPRL投与では、PRL0.3単位投与群/対照群の排卵数は、 $18.6 \pm 2.5(\text{SEM}) / 12.1 \pm 1.4$ 、受精卵数は $14.4 \pm 1.8 / 8.8 \pm 1.2$ であり、ともにPRL投与群で有意に多かった。2細胞への发育は、PRL0.3および3単位で対照に比し有意に良かった(それぞれ 10.1 ± 1.4 、 10.3 ± 1.6 、 6.5 ± 1.0)。胞胚への发育も、PRL 0.3と3単位投与で対照より良好だった(それぞれ 8.6 ± 1.1 、 8.9 ± 1.6 、 5.7 ± 1.0)。hCGの48時間前(PMSと同時)のPRL投与では、排卵数、受精卵数、2細胞胚数、胞胚数の全てが、PRL0.1単位投与で増加の傾向を認めた。hCGの24時間前(PMSの翌日)のPRL投与では、PRL3単位投与で対照より胞胚数が有意に多かった。hCGとPRLの同時投与では、排卵数も、受精・胚发育も対照と差がなかった。[結論] PRL併用投与による排卵誘発は、卵の发育・成熟を促進し、その結果、排卵数の増加と胚发育能の改善をもたらした。0.1から3単位のPRLをhCGの72時間前から24時間前までに投与すると卵の发育が促進され、PRLは胞胚发育の初期と中期に重要であることが示唆された。

UP-13 ヒトおよびラット初期胚における apoptosis 関連遺伝子の発現に関する検討

秋田大学医学部産科婦人科 ○河村 和弘, 佐藤 直樹, 谷川 秀郎
熊谷 仁, 熊谷 暁子, 村田 昌功
福田 淳, 児玉 英也, 田中 俊誠

[目的]近年、初期胚のfragmentationへのapoptosisの関与がTUNEL法により証明されたが、初期胚におけるapoptosisの分子機構はまだ解明されていない。今回我々は初期胚におけるapoptosisの主なシグナル伝達経路であるFas-Fas ligand (Fas L) system、およびapoptosis抑制系であるsurvivinの発現について検討を行った。[方法]ラット未受精卵、受精卵 (1-cell, 2-cell, 4-cell, 8-cell, morula, blastocyst)、ヒト受精卵 (2-cell, 4-cell, fragmented embryo) 各15個よりmRNAを抽出し、RT-PCR、nested PCRを行いFas、Fas L、survivinの発現を解析した。[成績]FasはRT-PCRのみでは検出できずnested PCRを用いて、ラットでは2-cellに、ヒトでは4-cellに発現していた。Fas Lもnested PCRにて、ラットでは未受精卵、1-cell、2-cellに、ヒトでは2-cell、4-cell、fragmented embryoに発現していた。survivinはRT-PCRのみで発現が認められ、ヒトでは2-cell、4-cellにこれまで報告されている3つのsplice variantが認められたが、fragmented embryoではsplice variantのひとつが欠如していた。[結論]FasおよびFas Lの同時発現はラットでは2-cell、ヒトでは4-cell、fragmented embryoに認められた。したがって 割球間のFas、Fas Lのリガンド-受容体相互作用によるFas-Fas L systemは初期胚のapoptosisのシグナル伝達経路の一つと考えられる。また、apoptosisシグナルが初期胚を細胞死に至らしめる決定機構にsurvivinのsplice variantのひとつが抑制系として関与している可能性が示唆された。

UP-14 加齢が透明帯厚におよぼす影響

鹿児島大学医学部産婦人科 ○中江 光博, 沖 利通, 山崎 英樹
桑波田理樹, 堂地 勉, 永田 行博

【目的】加齢により妊孕性が低下することはよく知られている。特に、卵の染色体異常などを中心とした卵自身のquality低下がそのメカニズムと考えられている。今回我々は、卵・初期胚の透明帯厚を観察し、年齢との関係を検討し、若干の知見をえたので報告する。【方法】対象は当科で過去3ヶ月間に体外受精胚移植を受けた12症例18周期である。採卵時、受精後18時間後、授精後48時間目に、卵をビデオテープに録画し卵形態を観察した。透明帯測定法は、静止画変換した画像をモニター上に映し12時・3時・6時・9時方向の透明帯を実測し、4つの平均を透明帯厚と定義した。症例を20才代 (A群)、30~34才 (B群)、35~39才 (C群)、40才以上 (D群) の4群に分類し、統計学的有意差検定を行った。なお、変性卵・未受精卵は検討対象から除外した。【成績】未受精卵: B群; $20.420 \pm 0.518 \mu\text{m}$ 、C群; $23.595 \pm 0.315 \mu\text{m}$ 、D群 $27.005 \pm 3.820 \mu\text{m}$ 、前核期胚: A群; $19.032 \pm 0.817 \mu\text{m}$ 、B群; $23.432 \pm 2.856 \mu\text{m}$ 、C群 $23.712 \pm 2.187 \mu\text{m}$ 、D群 $24.520 \pm 3.099 \mu\text{m}$ 、4細胞期胚: A群; $19.167 \pm 0.340 \mu\text{m}$ 、B群; $22.099 \pm 2.914 \mu\text{m}$ 、C群 $23.361 \pm 4.116 \mu\text{m}$ 、D群 $23.798 \pm 1.740 \mu\text{m}$ 。前核期および4細胞期において、A群とその他の群に有意差を認め、20才代では透明帯厚が有意に薄かった ($P < 0.001$)。また、4細胞期胚において、30代前半と比較して40才以上の症例の透明帯が厚い傾向がみられた ($P = 0.080$)。【結論】未受精卵においては加齢は透明帯厚に影響を与えない。前核期以降では、30才を境に透明帯厚が有意に厚くなり、4細胞期胚以降では、40才を境に透明帯厚が大きくなる可能性が示唆された。

UP-15

ヒト卵子RNA抽出におけるハウスキーピング遺伝子としてのG3PDHの有用性

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○久慈 直昭, 田中 宏明, 松田 紀子
 福地 智恵, 谷垣 礼子, 浜谷 敏生
 浅田 弘法, 小澤 伸晃, 宮崎 豊彦
 末岡 浩, 吉村 泰典

〔目的〕ヒト卵子は実験に使用できる数が限られるため、数個の細胞(卵子)からえられた微量・希薄な mRNA 抽出液を研究に使用する事になる。そのため時に、1) 実際に RNA が回収されているか、2) (特に顆粒膜細胞・精子などによる)genome DNA の混入がないか、を検証する必要が生じる。glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase (以下 G3PDH)は解糖系酵素であり、本酵素 mRNA 検出にはヒト・マウス両方で共通のプライマーを用いることが可能で、かつ intron 部位を挟むことが卵子以外の体細胞で報告されている。本研究では G3PDH mRNA のヒトおよびマウス卵子における発現とその有用性を検討した。

〔方法〕〔材料〕ヒト卵子は体外受精 1-3 日目非受精卵を、あらかじめ informed consent を得た上で使用した。マウス卵子は過排卵処理 B6/C3 F1 マウス由来のものを用いた。(RNA 抽出法および RT-PCR) 卵子からの RNA 抽出は RN easy mini kit (Qiagen 社)、G3PDH に対するプライマーセットは Clontech 社のものを使用、RT-PCR は gene specific primer を用いて行った。

〔結果〕1) 同一のプライマーを用いた RT-PCR (40cycle) で、ヒトおよびマウス卵子に G3PDH mRNA に相当する約 470bp のシングルバンドが検出された。2) 本 mRNA はマウス卵子では GV、MII、受精後の各期卵子に存在し、ヒト卵子で少なくとも 7 個、マウス卵子で少なくとも 10 個から抽出した RNA 溶液においてバンドとして検出できた。

〔結論〕G3PDH mRNA はヒトおよびマウス卵子からの RNA 抽出の際の housekeeping 遺伝子として有用であることが明らかとなった。

UP-16

過剰刺激卵胞における卵胞周囲血管の形態的变化

浜松医科大学産婦人科学教室 ○後藤 淳子, 松山 薫, 北村 公也
 西口 富三, 鈴木 留美, 高田佳世子
 松浦 俊樹, 金山 尚裕

〔目的〕排卵直前の卵胞において、黄体化刺激直後より血管床の増大、血流量の増加、毛細血管の血管透過性の亢進が卵胞腫大と同期して起こるといわれている。しかし、その形態学的変化についての解明は十分とはいえない。今回我々は未熟 rat を用いて、過剰刺激処理後の卵巣における卵胞周辺の血管構築ならびに血管内皮の 2 つの形態学的変化を電子顕微鏡下で観察した。〔方法〕24 日齢 wistar rat を用い次の 3 群を設定した。(A)コントロール群：生食を腹腔内投与(ip)し、48 時間後にさらに生食を ip。(B)過剰卵胞刺激群:PMSG(10IU)を ip. し、その 48 時間後生食を ip。(C)過剰卵胞刺激+黄体化刺激群:PMSG(10IU) ip. し、その 48 時間後に hCG(10IU) ip. 各群の最終投与 6 時間後に以下の実験を行なった。①卵巣血管構築：卵巣血管内にメルコックス樹脂を注入し、NaOH で血管以外の組織を腐蝕させ血管鋳型を作成した。その鋳型を金またはオスミウムプラズマ蒸着した後走査電子顕微鏡(SEM)で観察した。②卵胞周囲血管内皮：卵巣をグルタルアルデヒドで灌流固定した後卵巣を摘出し、オスミウム固定後凍結切断し、オスミウムプラズマ蒸着処理後の血管内皮形態を SEM 観察した。〔結果〕①血管構築：コントロール群や過剰卵胞刺激群に比し、過剰卵胞刺激+黄体刺激群では卵胞単位で周囲血管が発達し血管網は多層になった。②血管内皮：過剰卵胞刺激+黄体刺激群の血管内皮には、その他の群にはみられない孔 (0.1-0.2 μm) が多くみられた。さらにそれらの孔は細胞膜間ではなく細胞質内に存在していることが確認できた。〔結論〕過剰刺激後の卵胞は黄体化刺激にともない、卵胞周囲の毛細血管が密になり、かつ血管内皮に数多くの孔が形成されることが観察された。この孔が細胞質内に存在し窓あき型の状態になっていることから、血管拡張で細胞間隙からタンパク質が卵胞腔内に流入するのではなく、血管内皮細胞内から卵胞腔内にタンパク質等が流入する可能性が示唆された。

UP-17 インドメサシンを用いたマウス排卵におけるPGの関与に関する検討

日本大学医学部産婦人科 ○武谷 千晶, 栃木 明人, 藤 嘉敏
川口市立医療センター産婦人科* 水谷 美貴, 山下 有紀, 吉永 陽樹
栃木 武一*, 津端 捷夫, 山本 樹生

〔目的〕排卵現象においては、プロスタグランジン（PG）が重要な働きをしているが不明な点が多い。そこで今回、PG合成阻害による排卵抑制時の卵胞の変化を知ることを目的として、マウスを用いて排卵誘発時にインドメサシン（IND）を投与した時の排卵現象や卵胞形態の変化を検討した。（方法）ICR系成熟マウスを、PMS-hCGで処理後にIND(15mg/kg)を投与した。INDはhCG投与0,3,6,9時間後に腹腔内投与してhCG投与翌日の卵管内卵子数で排卵の確認を行った。さらに、IND投与後にPGE₂(10mg/kg)を腹腔内投与して排卵を検討した。排卵抑制の最も認められた6時間後のIND例については、卵巣をhCG投与後経時的に採取して、光顕的、電顕的観察を行った。さらに、卵巣をホモジネートしてPGE₂濃度を、RIAで測定した。（結果）排卵数は対照例では平均23.4個であり、IND例では6時間後の投与例で抑制が最も強く、対照例の26.2%であった。これにIND投与3時間後にPGE₂を投与すると排卵の回復が認められた。卵胞の形態はhCG投与11時間後の比較で、HE染色上IND投与で卵子周囲の顆粒膜細胞の放射状形成、卵胞遊離面の卵胞表層細胞の断列化、莢膜細胞層や顆粒膜細胞層の菲薄化などの抑制が認められた。卵胞遊離面の電顕像は、対照例では卵胞の緊満と細胞の断列像が認められたが、IND例では卵胞表面は陥凹し細胞の断列は認められなかった。卵巣内PGE₂濃度は、対照例ではhCG投与後3時間と12時間後にピークをみせたが、IND投与後は低値を示した。（結論）PMS-hCG投与後マウスでは、IND投与で排卵、卵胞壁の変化やPG産生が抑制されたが、PG投与で排卵が回復したことより、PGがhCG投与後の排卵に係わっていることが推察された。

UP-18 マウス各成熟期卵子における syntaxin4 mRNA の発現と解析

太田原赤十字病院* ○岩橋 和裕*, 久慈 直昭, 田中 宏明
杏林大学生理学教室** 北岡 芳久*, 白石 悟*, 浅田 弘法
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 浜谷 敏生, 小澤 伸晃, 末岡 浩
吉村 泰典, 藤原 智徳**, 赤川 公朗**

〔目的〕卵子表層反応は開口放出の一型と考えられ、この開口放出機構を構成する蛋白群が卵子にも存在していることが明らかになりつつある。我々は以前より開口放出関連蛋白 HPC-1/syntaxin family の卵子における発現について報告してきたが、その subtype については明らかではなかった。今回我々はマウス各成熟期卵子における syntaxin mRNA (SYN mRNA) の発現と同定を試みたので報告する。

〔方法〕1. (各成熟期卵子における SYN mRNA の発現) 過排卵 B6/C3 F1 マウス由来 Metaphase II (MII) 期卵より RNA を抽出、開口放出に関係するとされる syntaxin1A、1B、4 について gene specific primer を用いた RT-PCR 法により mRNA の存在を検討した。また、Germinal Vesicle (GV)、MII および受精後卵子について同様に RT-PCR 法により mRNA の存在を検討した。2. (マウス卵子 SYN mRNA の同定) MII 期卵子より抽出した cDNA をクローニングし、sequence 解析を行った。

〔結果〕1. MII 期卵では syntaxin4 のみのシングルバンドが検出され、同一のバンドが GV、MII および受精卵子のいずれでも検出された。2. MII 期卵子から検出した PCR 産物の cDNA 配列は、報告されているマウス syntaxin4 と完全な一致を示した。

〔結論〕マウス卵細胞に開口放出関連蛋白である syntaxin4 が存在することが強く示唆された。

UP-19 ヒト卵胞液からの内分泌攪乱物質ビスフェノールAの検出

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○生月 弓子, 堤 治*, 高井 泰*
 東京大学医学部附属病院分院産科婦人科* 末永 昭彦, 小笠原綾子, 大須賀 穰
 藤原 敏博, 百枝 幹雄, 久具 宏司
 矢野 哲, 武谷 雄二

【目的】ビスフェノール A (以下 BPA) はプラスチックの原料等として我が国では年間約 25 万トン消費され、全河川の 57% から検出される内分泌攪乱物質である。BPA はエストロゲン様活性を持ち、低用量投与によるマウス初期胚発育の促進 (0.23-0.68 ng/ml)、雄の前立腺肥大と精子産生減少 (2 ng/g 母獣体重)、雌の性成熟促進 (同 2.4 ng/g) など、次世代の生殖機能に影響を及ぼすとの報告もあり、ヒトの汚染や生殖機能への影響についても懸念されている。我々は既に母体血、臍帯血、羊水からの BPA の検出を報告しているが、今回はヒト卵胞液中の BPA の検出を試み、その汚染の程度について検討した。【方法】インフォームドコンセント下に、①不妊患者の体外受精の採卵時に採取した卵胞液と血清 36 例 (35±3.82 歳、男性因子: 14 例、卵管因子: 10 例、卵管因子+男性因子: 8 例、子宮内膜症: 1 例、原因不明: 3 例) ②健常女性ボランティア (28±3.81 歳) より採取した血清 26 例を対象とした。BPA 濃度の測定は試料を固相抽出後に濃縮、抗 BPA 抗体を用いた競合 ELISA 法により分析した。【成績】BPA はすべての検体から検出された。血中 BPA 濃度は、ボランティア女性では 2.04 ± 0.71 (0.65~3.71) ng/ml、不妊患者では 1.76 ± 1.12 (0.76~6.01) ng/ml で、両者に有意差はなかった ($p=0.144$, $R^2=0.41$)。一方、卵胞液中 BPA 濃度は 2.38 ± 0.78 (0.84~4.45) ng/ml で、生殖器官の汚染も確認された。不妊患者の卵胞液と血液の BPA 濃度の間には有意な相関はなかった ($p=0.881$)。平均採卵数は 7.1 ± 5.1 (1~23) 個で、採卵数、受精率、卵の grade について BPA 濃度との間に相関はなかった。【結論】ヒト卵胞液から BPA が検出され、実験動物に影響を認め得るレベルの汚染がヒト生殖器官で確認された。BPA がヒトの生殖機能や母体・胎児に及ぼす影響やその体内動態、また不妊症、子宮内膜症との関連についてはいまだ不明である。今後ライフスタイル等の背景解析を含め、多数例の検討が必要である。

UP-20 子宮内膜におけるエリスロポエチンおよびエリスロポエチンレセプターの発現

東北大学医学部産科学婦人科学 ○横溝 玲, 松崎 幸子, 村上 節
 上原 茂樹, 岡村 州博

【目的】マウス子宮内膜においてエリスロポエチンはエストロゲン依存性に産生され、オートクライン・パラクライン的に性周期にともなう血管新生に深く関与しているが、ヒト子宮内膜での関与の有無は明らかではない。今回我々は子宮内膜におけるエリスロポエチン (EPO) およびエリスロポエチンレセプター (EPO-R) の発現を検討した。【方法】内膜に病変を持たない婦人科良性疾病で手術をした患者の同意を得て、摘出子宮より正所性子宮内膜 47 例 (増殖期初期 8 例、増殖期中期 11 例、増殖期後期 6 例、分泌初期 7 例、分泌中期 6 例、分泌後期 9 例) を採取し、-80℃で凍結保存した。EPO、EPO-R 各 mRNA 発現は、凍結検体から ISOGEN にて total RNA を抽出し、RT-nested PCR 法によって同定した。なお各 primer set は cDNA 塩基配列より独自に作成したものをを用いた。また EPO、EPO-R の蛋白レベルの発現は免疫組織化学染色を用い局在を検討した。ホルマリン固定パラフィン包埋切片を市販の抗体を用い染色し、1000 細胞あたりの陽性細胞率を算出した。【成績】正所性子宮内膜における EPO、EPO-R mRNA の発現を月経周期を通じて認めた。また局在は内膜上皮細胞、腺上皮細胞・血管内皮細胞に陽性細胞を認め、特に腺上皮細胞における陽性細胞率は EPO、EPO-R とも増殖期初期に比べ増殖期中・後期以降で有意に増加していた。【結論】EPO および EPO-R はヒト子宮内膜の月経周期変化 (とくに増殖) にオートクライン・パラクライン的に関与することが示唆された。

UP-21 子宮内膜間質培養細胞を用いた IL-1 β による Steroid sulfatase の抑制効果

昭和大学医学部産科婦人科学教室 ○松岡 隆, 矢内原 敦, 古澤 嘉明
藤間 芳郎, 盛本 太郎, 岩崎 信爾
田原 隆三, 齋藤 裕, 矢内原 巧
岡井 崇

子宮内膜は性ステロイドホルモンの影響下に周期的な形態および機能的な変化を繰り返しており、子宮内膜は各種ステロイド代謝酵素により局所調節を受けている。我々は硫酸抱合型のエストロゲンを生体活性の高いある遊離型のエストロゲンに変換する steroid sulfatase (STS) が、排卵期から黄体期初期にそのピークを認め、その後減弱する事を報告した。一方、IL-1 β は黄体期後半に増加することが報告されている。そこで今回 IL-1 β の STS 活性に及ぼす影響を調べるため、以下の実験をおこなった。

【方法】内分泌異常のない良性疾患の患者の同意を得て、婦人科手術時に得られた増殖期子宮内膜より間質細胞を分離培養した。無血清培地に交換の後、IL-1 β (1-100 ng/ml) 及び IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) を単独または同時に添加し、24 時間後 [3 H] estrone-sulfate を基質として whole cell assay をおこなった。培養液より抽出した放射性代謝物質を薄層クロマトグラフィーにて分離精製した後、[3 H] estrone の生成量を酵素活性とした。また、細胞より RNA を抽出し、IL-1 β の STS mRNA への発現の影響を competitive RT-PCR を用いて検討を行った。

【結果】IL-1 β を培養液に添加すると STS の活性は濃度依存性に有意に減少した。STS mRNA の発現も有意に減少した。さらに IL-1ra の同時添加実験では、STS 活性および mRNA の発現は無添加と同等レベルであった。

【考察】IL-1 β は子宮内膜間質細胞の STS 活性と、その mRNA の発現を低下させた。IL-1ra の添加により recover したことより、この作用が IL-1 receptor を介した作用であることが証明された。以上より、IL-1 β は局所において STS を調節し、子宮内膜環境を control している可能性が示唆された。

UP-22 ヒト子宮内膜間質細胞の superoxide dismutase (SOD) 発現におよぼす TNF α の影響

山口大学医学部産科婦人科学教室 ○原田 綾子, 杉野 法広, 高山 尚子
山縣 芳明, 中村 康彦, 加藤 紘

【目的】ヒト子宮内膜間質細胞 (ESC) は TNF α を産生する一方で、TNF α により機能調節を受ける。また、TNF α は、細胞内の活性酸素産生を刺激し細胞障害性を示すことが種々の細胞で知られているが、この活性酸素を特異的に消去する酵素である SOD は、ESC にも発現している。そこで今回は、ESC の SOD 発現に及ぼす TNF α の影響を検討した。【方法】(1) 手術時摘出標本から採取した子宮内膜より ESC を分離し、TNF α (0-10 ng/ml) を添加後、無血清培地に 4 時間培養し、細胞中の Cu,Zn-SOD と Mn-SOD の活性を亜硝酸法にて、またそれぞれの mRNA レベルを RT-PCR 法にて測定した。(2) TNF α による Mn-SOD mRNA 増加作用に PKC が関与しているかを検討するために、まず ESC に phorbol 12-myristate 13-acetate (TPA; 0.4 μ M) を添加し培養した。さらに TPA 又は TNF α ともに protein kinase C (PKC) inhibitor (H7; 50 μ M) を添加し 4 時間培養後、Mn-SOD mRNA レベルを測定した。尚、組織採取に際しては患者のインフォームドコンセントを得た。【成績】(1) TNF α は、用量依存性に ESC における Mn-SOD の mRNA レベルおよび活性を増加させたが、Cu,Zn-SOD には有意な変化を及ぼさなかった。(2) TPA は Mn-SOD mRNA を用量依存性に増加させた。さらに TPA 又は TNF α による Mn-SOD mRNA 増加は、H7 の同時添加によって完全に阻止された。

【考察】TNF α は、ESC の Mn-SOD 発現を有意に増加させ、さらにこの作用に PKC が関与していることが明らかとなった。これは、TNF α に対する ESC の自己防衛機構である可能性が考えられた。

UP-23

ヒト妊娠初期脱落膜の Interleukin-15 産生能

関西医科大学産科学婦人科学教室 ○岡田 英孝, 中嶋 達也, 吉村 智雄
安田 勝彦, 神崎 秀陽

(目的) 妊娠維持にプロゲステロンが重要であり、ヒト子宮内膜間質培養細胞がプロゲステロン依存的に Interleukin (IL)-15 の発現が増加することを報告した。本研究では、ヒト妊娠初期脱落膜での IL-15 の遺伝子発現および産生能を検討し、IL-15 の妊娠維持における意義をさらに検討した。

(方法) 患者の同意のもとに人工妊娠中絶術および帝王切開術時に採取されたヒト妊娠初期脱落膜と胎盤より RNA を抽出し、Northern blot 法にて IL-15 mRNA の発現を比較した。またストレプトアビジンビオチン法を用い免疫組織学的に IL-15 の局在を検討し、ELISA キットを用い妊娠初期脱落膜培養細胞の IL-15 濃度を測定した。

(結果) 妊娠初期脱落膜および絨毛組織、妊娠中期および後期胎盤組織に IL-15 mRNA の発現を認め、特に妊娠初期脱落膜組織に IL-15 mRNA の強い発現 (妊娠初期絨毛組織の約 9 倍、妊娠中期および後期胎盤組織の約 6 倍) を認めた。免疫染色においては、絨毛組織にはほとんど IL-15 の発現は認められず、妊娠初期脱落の間質細胞 (脱落膜細胞) と腺細胞に発現していた。また脱落膜初代培養細胞上清中に IL-15 の産生が認められた。

(結論) 妊娠初期の脱落膜組織内においては、妊娠の成立・維持に重要な役割を担っている子宮 NK 細胞が著増している。そして最近、生体内で子宮 NK 細胞を増殖させる局所因子として IL-15 が注目されている。今回、妊娠初期脱落膜細胞が IL-15 を発現・分泌することが確認され、プロゲステロンの妊娠維持作用の一端がこのサイトカインを介した局所免疫系の制御にあることが示唆された。

UP-24

ラット停留精巣モデルの造精障害における
キサンチンオキシダーゼ系の関与について

秋田大学医学部産科婦人科 ○熊谷 仁, 佐藤 直樹, 谷川 秀郎
河村 和弘, 熊谷 暁子, 村田 昌功
福田 淳, 児玉 英也, 田中 俊誠

(目的) 精細胞の熱ストレスに伴うアポトーシス誘導に、活性酸素の関与が報告されている。当科では、抗酸化剤の投与によりラット停留精巣モデルの精細胞のアポトーシスが抑制され、特にキサンチンオキシダーゼ (XO) 阻害剤である allopurinol が高い抑制効果を示すことを報告した。本研究では精細胞の熱ストレス誘導アポトーシスの機序への XO 系の関与について検討した。(方法) ①ラット停留精巣モデルは、左精巣を腹壁に縫合固定し、右精巣は陰嚢内に留置して、作成した。②停留精巣モデルに allopurinol (Allo, 50mg/kg) および特異的 XO 阻害剤 (BOF-4272, 300 μ g/kg) を投与し、HE 染色ならびに精巣重量比 (重量比: 左停留精巣/右正常精巣) について検討した。③ラット停留精巣モデルから術後 1, 3, 7 日目に両側精巣を摘出した。組織中のヒポキサンチン、キサンチンおよび尿酸をマルチモードカラムを用いた HPLC により定量し、停留精巣側と正常精巣側で比較検討した。(成績) ①重量比の比較では非投与群 (Ct 群) 0.47 ± 0.04 (mean $\pm$ SE) と停留精巣側の重量が著明に減少したのに対し、Allo 群 (0.74 ± 0.09) と BOF-4272 群 (0.83 ± 0.05) では、有意 ($P < 0.05$) に重量比の減少を抑制した。HE 染色では、Allo 群と BOF-4272 群では、Ct 群より多くの精細胞が残存していた。②ヒポキサンチンは停留精巣で正常精巣に比較し、3 日目で 3.6 倍、7 日目で 7.8 倍に増加した。キサンチンは 7 日目で 4.7 倍、尿酸は 3.4 倍に同様に増加した。(結論) ①熱ストレスにより、精巣組織中のヒポキサンチン、キサンチンおよび尿酸が増加していること、②BOF-4272 が精細胞の熱ストレス誘発アポトーシスを抑制したこと、から精巣における熱ストレス誘導アポトーシスの機序への XO 系の密接な関与が示唆された。

UP-25 FSHおよびテストステロン抑制状態でのRatの精巣組織変化 —Spermiationの定量化について—

横浜市立大学附属市民総合医療センター ○齋藤 和男

Prince Henry's Institute of Medical Research O'Donnell L, McLachlan RI
Robertson DM

【目的】精巣中で成熟精子細胞が、Sertoli細胞より離れ精細管内腔に放出される現象をSpermiationと呼ぶ。Spermiationは、ホルモン抑制や中毒物質などにより傷害を受け、Spermiationできなかった精子はRetained Spermatid(RS)と呼ばれ、Sertoli細胞に食食される。しかしspermiationのホルモンによる影響、特に定量化についての報告はない。

【方法】S/O ratを対象とした。Anti-FSH-antibody、またはtestosterone+estradiol implantにより、FSH抑制モデル、testosterone(T)抑制モデル、FSH+T抑制モデルを作成し、Stereological techniqueにより精巣の組織変化を検討した。各細胞別に細胞数をstageの時間分布で除し、時間あたりの細胞産生量、Hourly production Rate(HPR)を検討した。

【結果】無治療群では、精巣あたり $0.74 \pm 0.11 \times 10^6$ (mean $\pm$ SE)のRSが見られた。RSのHPRは、stage IXが最も高く、 $0.03 \pm 0.01 \times 10^6$ /Hr、正常の成熟精子のHPRは $1.24 \pm 0.07 \times 10^6$ /Hrであった。この結果より、無治療群でも2.3%の成熟精子はspermiationできずSertoli細胞に食食された。1週間のFSH、T、FSH+T抑制では、精巣内各種細胞数に変化は見られなかったが、それぞれ13.7%、10.9%、49.7%の成熟精子はspermiationできなかった。Tを2週間抑制すると45.2%、4週間で96.9%の成熟精子がspermiationできなかった。

【結果】ホルモンの抑制によりspermiationは、早期に著しく傷害を受ける。

UP-26 ラットセルトリ細胞に対するGDNFの増殖と生存維持効果

ビー・エム・エル総合研究所研究開発部 ○五十嵐 晃、胡 建国

【目的】昨年、我々は新生仔ラット精巣の器官培養の実験から、Glial cell line-derived neurotrophic factor(GDNF)とFSHがセルトリ細胞とspermatogoniaを増殖させることを報告した。今回、我々はセルトリ細胞におけるGDNFの生理作用を3日齢および18日齢ラットの初代培養細胞について比較検討した。

【方法】ウィスター系ラットより常法を用いてセルトリ細胞を分離培養した。培養細胞のviabilityはトリパンブルー染色により確認した後、その純度をHE染色と β -HSD染色によって決定した。TM4細胞株と培養セルトリ細胞におけるGDNFR α の発現はRT-PCR法を用いて検出した。GDNFとFSHを培養細胞に単独または共添加し、cell counting kit 8を使用して経時的に細胞数を測定した。

【結果】TM4細胞株と培養セルトリ細胞にGDNFR α の発現が認められた。3日齢ラットの48hの培養セルトリ細胞に対して、GDNFは濃度依存増殖作用を示した。また、GDNFとFSHは相乗的な増殖効果を示した。18日齢の培養セルトリ細胞に対してはGDNFは増殖作用は示さなかったが、濃度依存7日間の生存維持効果を示した。

【考察】以上の実験結果から、器官培養におけるGDNFとFSHの相乗的な増殖効果は、セルトリ細胞のみに対する効果であったと考えられる。GDNFは新生児のセルトリ細胞には増殖作用を示し、その後は成体ラットのセルトリ細胞に生存維持作用を示した。これらのことから、GDNFは精巣において重要な生理作用を持っていると考えられる。

UP-27

遺伝的男性不妊モデルマウスに対する GnRH antagonist (Nal-Glu) 療法

大阪大学医学部泌尿器科 ○宮川 康, 東田 章, 山中 幹基
三浦 秀信, 西村 憲二, 辻村 晃
松宮 清美, 奥山 明彦
大阪大学微生物病研究所 西宗 義武

【目的】 *jsd/jsd* mutantマウス(*jsd*マウス)は精巣以外のphenotypeは正常であるが精祖細胞の分化障害を来し、不妊となる遺伝的男性不妊モデルマウスである。内分泌学的にはゴナドトロピンおよび精巣内テストステロン (ITT) が上昇している。このマウスに対するGnRH antagonist療法の有効性について報告する。

【対象と方法】 8週齢の*jsd*マウスに浸透圧ポンプを用いて、Nal-Gluを2500 μ g/kg/dayで4週間投与しテストステロンを抑制することによる精細胞分化への影響をみた。さらにその後Nal-Gluを中止し経時的に組織学的および内分泌学的検討を行った。

【結果】 Nal-Gluの初期投与によりITTが抑制され、精祖細胞から精母細胞までの分化を誘導し得た。その後Nal-Gluを継続したマウスでは精母細胞までの分化にとどまったが、Nal-Gluを中止したマウスでは精祖細胞は2~4週間で精子細胞まで分化した。ITTはNal-Gluを継続したマウスで低下を認めたが、Nal-Gluを中止したマウスでは再上昇を認めた。

【考察】 *jsd*マウスにおいて、GnRH antagonistによるITT抑制により精祖細胞から精母細胞までの分化誘導できたことよりITT上昇がこの段階での精細胞分化を障害している可能性が示唆された。またその後、精母細胞が減数分裂を経てさらに分化するためにはテストステロンが必要であることが示唆された。遺伝的要因による精子形成障害モデルにおいて精子細胞まで誘導し得た報告は初めてであり、GnRH antagonist療法が男性不妊症に対する治療法の一つとなりうる可能性が考えられた。

UP-28

ラット雄性配偶子系列における開口分泌関連蛋白の発現

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○田中 宏明, 久慈 直昭, 土屋 慎一
谷垣 礼子, 浜谷 敏生, 浅田 弘法
小澤 伸晃, 宮崎 豊彦, 末岡 浩
吉村 泰典
杏林大学生理学教室 藤原 智徳, 赤川 公朗

【目的】 雄性配偶子は高度に分化した細胞であると共に、その分化過程が精細管中の部位や細胞形態により明確に区別できるため、特定の蛋白がどの細胞に発現しているかを容易に同定可能である。我々は以前より卵子における開口放出関連蛋白群の発現について報告してきたが、今回ラット精巣における本蛋白群 (syntaxin および vesicle associated membrane protein ; VAMP) の発現と同定を試みた。

【方法】 1. (ラット精巣の免疫染色) 生後3日、6週ラット精巣凍結薄切標本を抗 syntaxin 家兔ポリクローナル抗体および抗 VAMP 家兔ポリクローナル抗体にて免疫染色し、蛋白局在を検討した。2. (ラット精巣ウェスタンブロッティング) 実験1と同一のポリクローナル抗体を用い、SDS-PAGEによる蛋白発現を検討した。

【結果】 1. 6週ラット精細管中で、基底膜に接する細胞の細胞質が顆粒状に VAMP 抗体と反応した。3日令のラットでは、精細管中心部の細胞が抗 VAMP 抗体と反応した。2. ラット精巣膜分画に、抗 VAMP 抗体と反応するバンドが検出され、これはラット脳から抽出した VAMP と同じ分子量を示した。抗シンタキシン抗体に関しては、今回の実験でははっきりした組織内局在、あるいは western blot 上のバンドは認められなかった。

【結論】 vesicle 側に存在する開口放出関連蛋白 VAMP が精原細胞に、思春期以前より発現していることが強く示唆された。

UP-29 過酸化水素曝露精子を用いたマウスICSIの胚発生能に与える影響

聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室 ○石田 恵理*, 栗林 靖, 阿部 有子
菅原 一朗, 斎藤 要, 石塚 文平
聖マリアンナ医科大学泌尿器科学 岩本 晃明
日本大学生物資源科学部動物細胞学* 佐藤 嘉兵

【目的】活性酸素種の1つである過酸化水素(H_2O_2)は、哺乳類の精子に対し高濃度の曝露では精子運動能を完全に抑制することが知られている。一方、近年では卵細胞質内精子注入法(ICSI)により精子運動能に関わらず受精させることが可能となっている。今回我々は、マウス精子に高濃度 H_2O_2 を短時間曝露させ運動能不良な精子に対し ICSI を行い、この精子受精能とその後の胚発生能について検討した。

【方法】B6D2F1 マウスの精巣上体より回収した精子に 1、10mM の H_2O_2 を添加し 30 分間曝露させた。曝露後の精子は、一方を精子運動率と化学発光法による H_2O_2 の測定に、他方を Percoll にて洗浄し ICSI に用いた。ICSI は、同系雌マウスを過排卵処理して得た卵に Piezo 圧電素子を用いて各濃度の H_2O_2 曝露精子を注入することにより行った。2 細胞期の評価は ICSI 後 24 時間に行い、その後 72 時間まで胚の観察を行った。

【結果】精巣上体より回収し percoll 洗浄した精子の運動率は 83.4%であったが、 H_2O_2 曝露後には H_2O_2 の濃度に依存して有意に低下し(71% vs 38%, 0.5%, $P<0.01$)、この時の H_2O_2 の化学発光は非添加群に比し 1mM 群で 15 倍、10mM 群で 161 倍であった。ICSI 後の 2 細胞期への胚発生は、非添加群と両添加群間で有意な低下は認められなかったが(65% vs 62%, 56%)、4 細胞期、桑実胚期への胚発生は、非添加群に比し両添加群ともに有意な低下を示した(4 細胞期 : 37% vs 23%, 20% / 桑実胚期 : 18% vs 7.8%, 4.9%)。

【考察】高濃度の H_2O_2 のマウス精子への短時間曝露は精子運動を抑制するが、この精子を用いた ICSI 後の 2 細胞期への胚発育は保たれる。しかしながら、その後の胚発生は抑制されることが示された。

UP-30 マウス精巣上体精子への過酸化水素暴露による受精能への影響

聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室 ○斎藤 要, 栗林 靖, 菅原 一朗
石田 恵理*, 阿部 有子, 石塚 文平
日本大学生物資源科学部動物細胞学* 佐藤 嘉兵

【目的】近年、精子運動能および精子受精能獲得に活性酸素(ROS)の関与が報告されている。低濃度の ROS は、精子受精能獲得のために必要であるが、高濃度の場合、その精子運動は完全に停止することが知られている。今回我々は、精子運動能に影響しない低濃度で過酸化水素(H_2O_2) をマウス精子へ暴露し、体外受精(IVF)を用い暴露精子の受精能と ROS 発生について検討した。

【方法】ICR 系雄マウスの精巣上体精子に H_2O_2 を 0.05, 0.1, 0.2mM の各濃度で 30 分間暴露し直ちに Percoll にて洗浄した。洗浄後の精子は、運動率を算定後に 2 分し一方をマウス IVF に、他方を ROS の測定に用いた。マウスの IVF は、過排卵処理した同系雌マウスより得られた卵子に各濃度の H_2O_2 暴露精子を 1×10^6 /ml の運動精子濃度で媒精した。受精の確認は媒精後 24 時間に行った。

【結果】精巣上体精子に 0.05, 0.1, 0.2 の各濃度で H_2O_2 を 30 分間暴露すると、精子運動率は、それぞれ $72.8 \pm 11.6\%$ 、 $62.4 \pm 7.8\%$ 、 $59.0 \pm 14.5\%$ と濃度依存性に低下し、0.1 と 0.2mM 暴露群において非暴露群 ($73.5 \pm 7.3\%$) に比し有意に低下した ($p<0.05$)。次ぎに、これらの精子を用いて IVF を行くと、0.05, 0.1, 0.2mM の H_2O_2 暴露群の受精率は、それぞれ 36.8%, 17.6%, 11.3% であり非暴露群 (55.2%) に比べ有意に低下した ($p<0.05$)。一方、ROS の発生は、非暴露群に比べ、0.05mM 群で 1.5 倍、0.1mM 群で 2.1 倍、0.2mM 群で 2.9 倍であった。

【考察】低濃度 H_2O_2 暴露群では、精子運動率の低下を示さないにもかかわらず、IVF による受精率は有意に低下した。このことは、マウス精子の運動能に影響を与えない短期間低濃度の H_2O_2 暴露でさえ精子の受精能に影響を及ぼすことが示された。

UP-31 運動精子と精液中活性酸素 (Reactive oxygen species : ROS) との関連性に対する検討(第2報) —精液所見から見たROS検出率—

横浜市立大学医学部泌尿器科学 ○湯村 寧, 斎藤 和男, 小川 毅彦
佐藤 和彦, 澤田 卓人, 友田 岳志
穂坂 正彦

横浜赤十字病院泌尿器科 岩崎 皓
藤沢市民病院泌尿器科 広川 信

【はじめに】男子不妊症患者の精液の20～40%には活性酸素 (Reactive oxygen species 以下 ROS) が検出され、妊孕性、精子運動性との関連が報告されている。また精液所見の悪いもののほど ROS の検出される率が高い傾向にあるが詳細はまだ不明である。そこで今回同意の得られた患者より採取した精液の所見 (精子濃度・運動率など) を分類し ROS の検出率を調査検討した。【対象及び方法】横浜市立大学並びに藤沢市民病院、大和市立病院泌尿器科男子不妊外来を受診した無精子症を除く180精液を対象とし、精液量、精子濃度、運動率をCell Soft 3000またはC-MEN Version1.02にて測定した。ROS levelは精液0.5mlにluminol 4.2 μ mol/mlを40 μ l添加しその吸光度をluminometer1251で測定した。【結果】ROS陽性の精液は全体で82検体 (45.6%)であった。このうち精子濃度2000万/ml未満の検体では精子10⁶個あたりのROS levelと運動率との間には強い負の相関が認められ、運動率の低下に伴いROS levelは上昇した。しかし濃度2000万/ml以上の精液では相関は認められなかった。精子運動率に関してはROS陽性例は運動率40%以上の検体ではほとんど見られず、40%未満の検体において検出された。更に症例数を増やし検討する予定である。

UP-32 精子運動能に対するクロラムフェニコールの影響

山梨医科大学産婦人科学教室 ○山中 智哉, 正田 朋子, 平田 修司
星 和彦

(目的) これまで、精子形成や精子運動能に及ぼす種々の抗生物質の影響についての報告がされてきたが、日常の臨床において腔内に局所投与されることがあるクロラムフェニコールの精子に対する直接的影響についての検討はみられない。そこで今回われわれは、精子の運動能に対するクロラムフェニコールの影響について検討した。

(方法) 健常男性より同意を得て採取した射出精子を、swim up後、0-3400 μ g/mlのクロラムフェニコールを含む培養液中で、5% CO₂-95% airの条件下で、37℃にて1-8時間培養した。また、培養1時間後に精子を洗浄しクロラムフェニコールを除去した後、クロラムフェニコールを含まない培養液中で同様に追加培養した。精子の運動率 (総運動率および前進運動率) ならびに運動パラメーター (VAP、VSLおよびVCL) の変化をCASAを用いて解析した。

(成績) クロラムフェニコールは、精子の総運動率および前進運動率を抑制した。この抑制効果は、濃度依存的かつ時間依存的であった。また、VAP、VSLおよびVCLはクロラムフェニコールにより濃度依存的かつ時間依存的に低下した。なお、培養1時間後のクロラムフェニコールの除去により、精子運動能の回復が認められた。

(結論) クロラムフェニコールが精子に直接的に作用し、その運動能を濃度依存的かつ時間依存的に抑制することを始めて明らかにした。また、その抑制効果が可逆的であることから、クロラムフェニコールは精子に対して、「殺精的 (spermicidal)」ではなく「静精的 (spermistatic)」に作用することが明らかになった。

UP-33 ウシ頸管粘液貫通試験 (Penetrak) によるヒト精子運動機能の評価

自治医科大学産科婦人科学 ○高見澤 聡, 柴原 浩章, 種市 明代

田中 寧子, 小川 修一, 出居 貞義

佐藤 郁夫

自治医科大学附属病院臨床検査部 角田 啓道

〔目的〕 ウシ頸管粘液はヒト頸管粘液と性状が類似する。Penetrak はウシ頸管粘液をガラス管に充填し、ヒト精子の頸管粘液内貫通性を判定する運動機能検査法である。今回は Penetrak と CASA (computer-aided sperm analysis) を同時に施行し、ヒト精子の頸管粘液内貫通能力が、CASA によるいかなる運動機能計測値と相関するのか検討した。

〔方法〕 当科不妊外来通院中で同意を得た71症例(検査26症例、AIH 39症例、IVF-ET 6症例)の71精液検体を用い、Penetrak、CASA および Kruger による正常精子形態率(Kruger type a)を測定した。

〔結果〕 検体精液は、提供者平均年齢 35 ± 6.4 歳、平均精液量 3.5 ± 1.6 ml、平均精子濃度 $105.7 \pm 80.8 \times 10^6$ /ml、平均精子運動率(Mot%) $51.5 \pm 27.3\%$ 、平均高速運動精子率(Rapid%) $39.0 \pm 20.7\%$ であり、正常精子形態率(Kruger type a)は $19.0 \pm 8.6\%$ と WHO の基準による通常精液所見であった。Penetrak によるヒト精子の頸管粘液内貫通能力と CASA による運動機能計測値との間で相関がみられた($P < 0.01$)ものは、Rapid%($r=0.589$, $p=0.0089$)、VAP($r=0.660$, $p=0.0021$)、VSL($r=0.667$, $p=0.0018$)、VCL($r=0.621$, $p=0.0049$)であった。一方、Kruger 分類による正常精子形態率とは相関はみられなかった。

〔結論〕 Penetrakテストは、従来より精子濃度、運動率、直進運動等との相関が報告されているが、精子の運動・移動形態についての評価は肉眼による主観的な観測では不可能であった。CASA を用いることで客観的評価が可能となり、今回、Rapid%、VAP、VSL、VCL の運動速度の指標に高い相関がみられた一方、直進性を示す STR、LIN には相関はみられなかった。Penetrak 通過性の高い精子の運動形態は蛇行しながらの高速移動と推察された。

UP-34 ヒト精子ミトコンドリアにおけるユビキチン化蛋白の存在

山梨医科大学産婦人科学教室 ○正田 朋子, 平田 修司, 星 和彦

〔目的〕 哺乳動物の有性生殖の過程において、胚のミトコンドリア DNA は母親のみから由来することが明らかにされている。すなわち、精子由来のミトコンドリアは受精後に、選択的に分解・消滅する。最近、サルやウシにおいて、精子のミトコンドリアが受精前に蛋白分解の標識であるユビキチンに標識されているという成績が報告され、精子由来のミトコンドリア DNA の選択的な認識および分解機構との関連が注目されている。しかしながら、ヒト精子のミトコンドリアの選択的な分解機構についてはほとんど解析されていない。そこで今回われわれは、ヒト射出精子におけるユビキチン化蛋白の存在について検討した。

〔方法〕 同意を得て採取したヒトの射出精子を、swim up 後 PBS で洗浄し、超音波処理(トミー精工 UR-20P、最大出力にて10秒間、間欠1分間で合計10回のバースト)を行った。検体を60-30%のショ糖密度勾配溶液に重層し、35000rpmにて12時間超遠心して、ミトコンドリア分画と頭部分画を分離・抽出した。これらの二分画について抗ユビキチン抗体を用いた Western blot 法を施行しユビキチン化蛋白の有無について検討した。

〔成績〕 射出精子のミトコンドリア分画において約65kDaのユビキチン化蛋白が認められた。頭部分画においても同様の分子サイズのユビキチン化蛋白が検出されたが、そのレベルはミトコンドリア分画に比して低レベルであった。

〔結論〕 ヒト射出精子のミトコンドリア分画においてユビキチン化蛋白の存在がはじめて明らかとなった。この蛋白が、受精後の精子ミトコンドリアの選択的分解の標識となり、ミトコンドリアの母性遺伝を規定している要因となっていることが示唆された。

UP-35

精子所見からみたAIHの限界について

高邦会高木病院不妊センター ○田内 悦子, 隈本 巧, 西山和加子
渡邊 英明, 河野由佳子, 野崎あすか
野見山真理, 松本 ゆみ, 小島加代子

【目的】AIHは男性因子や頸管因子、原因不明不妊に対する有効な治療法の一つである。AIHに対する精子所見の影響は大きく、その有効性を高めるためには、用いる精子所見の限界を知り、明確な判断基準を定めることが重要である。そこで今回我々は、原精液および調整後の精子所見から判断できるAIHの限界について検討を行った。

【対象および方法】対象は、平成11年6月から平成12年4月までに当院でAIHを施行した男性因子、頸管因子もしくは原因不明の不妊症177症例416周期である。精子調整にはPercoll法を用い、原精液および調整後のそれぞれについて、総運動精子数(量×濃度×運動率)を算出した。原精液は $10 \times 10^6 >$ 、 $10 \times 10^6 \leq$ 、 $50 \times 10^6 \leq$ 、 $100 \times 10^6 \leq$ 、 $150 \times 10^6 \leq$ 、 $200 \times 10^6 \leq$ の6群に、調整後は $1.0 \times 10^6 >$ 、 $1.0 \times 10^6 \leq$ 、 $5.0 \times 10^6 \leq$ 、 $10 \times 10^6 \leq$ 、 $15 \times 10^6 \leq$ 、 $20 \times 10^6 \leq$ の6群に分類し、妊娠率を比較した。

【結果】AIHによる対症例妊娠率は23.2%、対周期妊娠率は10.1%であった。原精液中の総運動精子数では、妊娠率は、先の6群においてそれぞれ5.6%(1/18)、11.5%(15/131)、9.2%(10/109)、8.1%(7/86)、8.8%(3/34)、15.8%(6/38)と各群間に有意差は認められなかった。調整後の総運動精子数では、妊娠率はそれぞれ0%(0/22)、6.8%(7/103)、11.5%(11/96)、13.5%(10/74)、20.6%(7/34)、8.1%(7/87)となり 1.0×10^6 未満での妊娠例はなく、それ以上では差はなかった。

【結論】原精液では、AIHの判断基準を定めるのは困難であり、調整後の総運動精子数が 1.0×10^6 以上であればAIHを施行する価値はあると考えられた。

UP-36

男性不妊症患者の精液所見とAIH成績の関連性について

自治医科大学産科婦人科学 ○小原ひろみ, 柴原 浩章, 種市 明代
藤原 寛行, 小川 修一, 出居 貞義
佐藤 郁夫
自治医科大学附属病院臨床検査部 角田 啓道

＜目的＞男性不妊症患者において精液所見とAIH成績との関連性を検討した。

＜対象＞1995年～1999年に当科でAIHを施行した男性不妊症患者160人682周期。うちCOH周期は446周期であった。妻年令40才以上、子宮奇形症例は除外した。＜方法＞原精液および処理後精液をCASAを用いて測定した。原精液の形態正常率をKrugerらの方法で測定した。精液所見の判定にはWHO基準(1999年)を用いた。精子形態正常率15%以上をNormal(N)群、5～14%をGood prognosis(G)群、4%以下をPoor prognosis(P)群とした。＜成績＞① 45人49周期で妊娠成立した。对患者妊娠率28.1%、対周期妊娠率7.2%であった。② N群, G群, P群の対周期妊娠率は9.34%(34/364)、5.6%(15/264)、0%(0/54)であり、N群に比べP群で妊娠率は有意に低かった($p < 0.05$)。③ 運動率のみ不良(<50%)である266周期に比べ、運動率、形態率(<15%)ともに不良である253周期において、妊娠率は有意に低かった(10.2% VS 5.1%, $p < 0.05$)。④ 妊娠49周期と非妊娠633周期を比較した。妊娠周期では、形態正常率が有意に高く、処理後の迅速精子率、VAP, VSL, VCLも有意に高かった(すべて $p < 0.01$)。両群間で、処理前・処理後とも精子濃度、精子総数、運動率には差を認めなかった。⑤ 妊娠成立した45人に関し、妊娠成立した49周期と妊娠成立しなかった137周期を比較した。妊娠成立周期では正常形態率($p < 0.05$)、処理後VAP, VSL, VCLが有意に高かった($p < 0.01$)。＜結論＞strict criteriaによる精子形態正常率はAIH成績と密接な関係を認めた。処理前の精液所見のうち、妊娠成立と関連したものは形態正常率のみであった。

UP-37

運動良好精子数からみた配偶者間人工授精の限界

荒川・大桃エンゼルマザークリニック ○荒川 修、大橋 浩栄、大桃 幸夫

【目的】精子洗浄濃縮法は、運動良好精子を簡便に回収できることから多くの施設で行われている。運動良好精子数からみたAIHの有用性と限界について検討したので報告する。

【対象】平成10年10月から平成11年12月までに当院においてAIHを施行した130症例302周期を対象とした。精液所見別に正常群134周期、精子無力症群94周期、乏精子症群24周期、乏精子・精子無力症群50周期に分け検討した。

【方法】月経開始8日目より排卵誘発剤150単位を連日または隔日投与し卵巣刺激を行なった。排卵日の推定は総合評価し、HCG投与後24時間または36時間後にAIHを施行した。精液を90%パーコールによる攪拌密度勾配法により洗浄濃縮し、濃厚精子浮遊液0.5mlをAIHに供した。

【結果】運動良好精子数別の妊娠率では、100万未満 0%(0/16)、100~199万 22.2%(2/9)、200~299万 15.8%(3/19)、300~399万 29.4%(5/17)、400~499万 11.1%(1/9)、500~999万 12.1%(7/58)、1000万以上 12.6%(22/174)であった。40周期に妊娠を認め、周期あたり13.2%、症例あたり29.2%の妊娠率であった。症例別妊娠率では、正常群10.4%(14/134)、精子無力症群16.0%(15/94)、乏精子症群16.1%(4/24)、乏精子・精子無力症群14.0%(7/50)であった。施行回数別の妊娠率では1回目 13.8%(18/130)、2回目 9.4%(8/85)、3回目 19.1%(9/47)、4回目 8.7%(2/23)、5回目 23.1%(3/13)、6回目 0%(0/4)であった。

【結論】運動良好精子数100万未満と施行回数6回以上の患者においては、妊娠する可能性は極めて低く体外受精を含めた高度生殖医療を速やかに考慮する必要があると考えられた。

UP-38

男子不妊症に対する鍼治療の可能性

安城更生病院泌尿器科 ○窪田 裕樹、佐々木昌一*、窪田 泰江*
名古屋市立大学医学部泌尿器科学教室* 矢内 良昌、梅本 幸裕*、林 祐太郎*
郡 健二郎*

【目的】男子不妊症は、精子形成のメカニズムが不明であることから、有効な治療方法がほとんどない。このため原因に対して治療を行う西洋医学的治療のみでなく、東洋医学的な治療もしばしば試みられている。漢方薬投与などの医師が行い易い治療と比べ、鍼治療はその効果に対する評価がほとんどされていない。そこでわれわれは、健常男子を対象として、鍼が精液所見に及ぼす影響について検討した。【方法】精液所見に異常のみられない20~38歳の健常男子5名を被験者とした。鍼は最初の3週間（第1クール）は週2日、次の3週間（第2クール）は連日、任脈上の陰交、気海、石門、関元、中極、曲骨（下腹部正中線上のツボ）に対して行った。射精は毎週2回定期的に行うこととし、精液検査は、治療開始前および1クール終了毎に、3~4日の禁欲後、用手法で採取されたものを、精子運動解析装置（Motility Analyzer HTM-IVOS）にて測定した。【結果】第1クール終了後は、精液所見にはほとんど変化がみられなかった。治療前と比べ第2クール終了後は、精液量は 2.52 ± 1.18 ml から 2.54 ± 0.32 ml と変化がなかったが、精子濃度は 71.7 ± 23.5 M/l から 97.0 ± 37.2 M/l へと増加傾向にあり、精子運動率は $69.2 \pm 19.8\%$ から $89.2 \pm 7.4\%$ と有意な増加を認めた（ $p=0.04$, t 検定）。【結論】正常精液所見の男性を対象とした鍼治療では、精子数や運動率を向上させる結果が得られた。すべての不妊症患者において、必ずしも同様の結果が得られるとは限らないが、少なくとも精子無力症や乏精子症の一部の患者に対する鍼治療の可能性が示唆された。

UP-39

ムンプス精巣炎患者の検討

千葉大学医学部泌尿器科 ○今本 敬, 清水 亮行, 小宮 顕
鈴木 啓悦, 戸辺 豊総, 市川 智彦
伊藤 晴夫

【目的】男子におけるムンプス罹患は、成人においてはその約 20%に精巣炎を併発し、ときには両側の精巣機能が廃絶して男子不妊症の原因となる。今回、ムンプス精巣炎患者について、その造精機能に与える影響を中心に臨床的に検討した。(対象および方法)1987 年から 1999 年までの間に、ムンプス精巣炎にて当科を受診、または男子不妊症を主訴に当科を受診し、ムンプス精巣炎の既往のあった 18 例を対象とした。精巣炎発症年齢は 14-37 歳で平均 22.7 歳であった。併発症として聴力障害を 2 例に認めた。患側は、両側 7 例、片側 9 例、不明 2 例であった。15 例に精液検査を施行した。精子を全く認めないものを無精子症、精子数が 2000 万/ml 未満を乏精子症、2000 万/ml 以上を正常とした。精子運動率は 50% 以上を正常とした。(結果)両側罹患例では 5 例が無精子症、1 例が乏精子症を呈し、1 例のみが精子数、運動率ともに正常であった。片側例では 1 例に乏精子症を認め、5 例は精子数正常であったがそのうち 3 例に運動率の低下を認めた。両側例のうち、罹患後 2 ヶ月で無精子症を呈した 1 例は、18 ヶ月で精子数、運動率ともに正常化した。同症例では、罹患 2 ヶ月後の血中 FSH は高値を示したが、精液所見の改善とともに低下した。精巣容積 10ml 以下の萎縮は 5 例に認められ、うち 4 例が無精子症を、1 例が乏精子症を呈した。無精子症と乏精子症のおおの 1 例に精巣生検が施行され、2 例とも造精機能の低下が証明された。(結論)片側のムンプス精巣炎では、精子運動率の低下を認める症例もあるが無精子症に至ることは少ない。両側罹患例ではそのほとんどが無精子症となる。しかしその中でも、経過中に造精機能の回復を示す症例も存在する。

UP-40

TESE-ICSI が考慮される患者に対する
顕微鏡下精巣内精子採取法 (micro-dissection TESE) の経験

昭和大学医学部泌尿器科 ○坂本 英雄, 五十嵐 敦, 渡辺 政信
吉田 英機
梅ヶ丘産婦人科 辰巳 賢一

【目的】非閉塞性無精子症患者において micro-dissection TESE は造精能の良好な精細管の判定ができ、通常の TESE に比し、少ない精巣組織の切除で精子の採取が可能と報告されている。また、精巣内血管の観察が良好で、動脈損傷等による精巣組織障害が少なく、繰り返し手術が可能と報告されている。今回、TESE-ICSI が考慮される患者に対し micro-dissection TESE を行ったので報告する。【対象】症例 1: 35 歳男性 (FSH8.0mIU/dl)、逆行性射精の診断で AIH を念頭に治療を開始したが、無精子症が出現。症例 2: 43 歳男性 (FSH7.4mIU/dl)、閉塞性無精子症の診断で精管精管吻合術、MESA を施行されるも、挙児得られず、無精子症が持続。症例 3-5: 27 歳男性 (FSH23.0mIU/dl)、39 歳男性 (FSH28.3mIU/dl)、43 歳男性 (FSH43.3mIU/dl)。いずれも精液検査で精子濃度 10 万/ml 以下の高度乏精子症で、射出精子による ICSI は困難と判断された。症例 6: 28 歳男性 (FSH43.0mIU/dl)、数回の精液検査で無精子症であった。症例 1-2 は最初に MESA を施行したが精子が得られず、micro-dissection TESE を行った。【方法】全例、局所麻酔下に陰嚢を切開、一側精巣を創外に脱転。白膜に横切開を加え、顕微鏡下に精巣実質を観察。より太くて白色調の精細管を採取し、TESE に供した。止血は microbipolar を使用し、白膜の修復は 9-0 ナイロンで行った。【結果】症例 1, 2: 組織学的に JSC9。精細管の発達は全体に良好で、精子が採取された。症例 3-6: 組織学的に JCS 2。4 例 4 回に施行、太い精細管を散在性に認め、同部より採取、1 例に精子が採取できた。また、6 症例とも精巣内血管の観察は容易で、血管損傷は少なく、出血時は microbipolar の使用により良好に止血が可能であった。【結論】micro-dissection TESE は血管損傷が少なく、通常の TESE に比べ精巣組織への損傷を軽減できるものと考えられた。

UP-41

重度 tapering 精子の出現頻度による重度奇形精子症の
ICSI成績の予後予測の可能性

立川病院産婦人科 ○大澤 淑子, 末岡 浩*, 岩田 壮吉**
 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室* 久慈 直昭*, 木村 裕幸, 原 唯純
 川崎市立川崎病院産婦人科** 佐藤 博久, 吉村 泰典*

〔目的〕 Kruger 診断基準で正常精子形態率4%以下の重度奇形精子症でもICSIを行うと良好な受精率, 妊娠率を示すことが知られている。しかし我々は精子頭部の長さが幅の5倍以上でアクロソームの欠如した重度 tapering 精子を優位とする症例は顕微授精を行ってもなお受精率が低く妊娠に至らないことを報告してきた。そこで顕微授精における重度奇形精子症の予後予測を行うべく, 重度 tapering 精子に着目し検討を行ったので報告する。〔方法〕 正常形態精子を有する重度 tapering 精子優位症例のICSI患者からインフォームドコンセントを得て形態上正常と思われる精子を顕微鏡下に選択し, ハムスター卵の細胞質内へ注入 (ICSI) した。対照としてAID donorの精子から同様に, 正常形態精子を注入し膨化能を比較検討した。正常精子形態率4%以下の重度奇形精子症例62例を重度 tapering 精子の出現頻度別に分類し, ヒトICSI受精率, 妊娠率を比較検討した。〔成績〕 ハムスター卵子へのICSI実験ではdonor正常形態精子では, 完全膨化率73.9%であったが, 重度 tapering 精子優位症例の正常形態精子は, 完全膨化率43.5%であった。ヒトICSIの臨床統計では, 重度 tapering 精子10%未満の49症例では受精率62.1%胚移植あたり妊娠率22.4%であり, 重度 tapering 精子10%以上20%未満の11症例では受精率61.1%, 妊娠率9.1%であった。重度 tapering 精子が20%以上を占めた2症例では受精率10%で2例とも胚移植に至らなかった。〔結論〕 重度 tapering 精子優位症例では, 鏡検上形態的に正常に見える精子でもハムスター卵内での膨化能がdonor正常形態精子に比し低い傾向があった。ヒトICSIの臨床統計では重度 tapering 精子が10%未満では良好な受精率, 妊娠率を示した。10%以上20%未満では受精率は良好であるが妊娠率が低い傾向を示した。20%以上では受精率が低く胚移植に至る可能性が低いことが示唆された。

UP-42

小児精索静脈瘤に対する手術療法の検討

千葉大学医学部泌尿器科 ○鈴木 啓悦, 市川 智彦, 小宮 顕
 川鉄千葉病院泌尿器科* 清水 亮行, 今本 敬, 鈴木 孝一
 川名 庸子*, 伊藤 晴夫

〔目的〕 精索静脈瘤はしばしば男子不妊症の原因となりうるとされる。今回われわれは, 小児の精索静脈瘤に対する手術症例について検討した。

〔方法〕 平成元年から平成11年までに千葉大学医学部附属病院で手術を施行した小児 (手術時年齢15才以下) の精索静脈瘤11例を対象として検討した。

〔結果〕 全例とも左側のみの精索静脈瘤で, 初診時平均年齢12.4歳 (10歳-13歳6ヶ月), 平均観察期間は4年であった。鈴木 の分類による精索静脈瘤の程度は, II度が6例, III度が5例であった。主訴は10例が左陰囊の腫脹であった。術式は, 高位結紮術6例, 腹腔鏡下結紮術4例, 顕微鏡下低位結紮術1例であった。手術前後のエコー・ドップラー・サーモグラフィーによる治療効果の判定では全例で改善を示した。また術後の精巣容積, ホルモン値 (テストステロン, LH, FSH) も全て問題なかった。ただし3例で軽度の陰囊水腫の合併を見た。

〔結論〕 小児精索静脈瘤に対する手術療法是術後経過も良く, 将来の妊孕性を考慮すると施行すべきものと考えられた。ただし一部の例で軽度の陰囊水腫の合併が認められたり, 術式については今後検討する必要があると思われた。

UP-43

MRIによる精索静脈瘤の評価

京都府立医科大学泌尿器科学教室 ○邵 仁哲, 納谷 佳男, 河内 明宏
藤戸 章, 三木 恒治
京都府立医科大学放射線医学教室 伊藤 博敏, 西村 恒彦

【目的】精索静脈瘤は男性不妊症の原因疾患の一つとして考えられている。我々は、MRIでの精索静脈瘤の描出能および、高位結紮術前、3ヶ月後、6ヶ月後、12ヶ月の血流動態の変化を経直腸的前立腺超音波像ならびに腹腔鏡所見とあわせて比較検討を行った。

【対象と方法】理学的に精索静脈瘤と診断された男性10名、Grade IからIIIの20病変を対象とした。撮像は1.0T超伝導MRI (Siemens社製 Magnetom Expert) および phased array coil を使用し、turboSTIR法 (TR/TE/TI/ = 7980ms/60ms/150ms) にて精索を含む5mmスライス厚の冠状断像を撮像した。得られた画像より、精索内の脈管の描出能、鼠径靱帯レベルで分離される最も優位な脈管の直径の測定と高位結紮術後の精巣からの主な還流路、骨盤内静脈うっ血の状態を検討した。

【結果】全20病変において、精索内の脈管は著明な高信号に描出され、容易に同定された。さらにMIP像では静脈瘤の全体像が明瞭に描出された。優位脈管の直径は、右側は平均5mm、左側は平均6.6mmであった。またほとんどの症例で6ヶ月後から内腸骨静脈系への還流が認められるようになった。また経直腸的前立腺超音波像ならびに腹腔鏡所見で骨盤内静脈の拡張のあるものでは、右側の静脈瘤のグレードが高く、優位脈管の直径が平均以上であった。

【結論】turboSTIR法は均一な脂肪抑制を得られるだけでなく、流れの遅い脈管を高信号に描出するために、精索静脈瘤を明瞭に描出し、非侵襲的かつ広範囲の画像的評価が可能である。turboSTIR法を用いることにより、MRIによる精索静脈瘤の診断と治療効果判定の可能性が示唆された。

UP-44

IL-6と可溶性IL-6受容体複合体の精子運動能に及ぼす影響

鳥取大学医学部産科婦人科 ○藤井亜希子, 月原 悟, 坂本 靖子
山内 延広, 伊藤 雅之, 大畠 順恵
谷口 文紀, 吉田 壮一, 岩部 富夫
原田 省, 寺川 直樹

【目的】子宮内膜症患者における不妊症の発生機序は未だ明らかでない。子宮内膜症患者腹水中には高濃度のInterleukin-6(IL-6)とその可溶性受容体(sIL-6R)が存在することを明らかにしてきたが、本研究では、IL-6とsIL-6Rが精子運動能に及ぼす影響を知ることを目的とした。【方法】WHOの基準を満たした正常精子20検体をインフォームドコンセントを得たうえで洗浄・swim up後に実験に供した。精子におけるIL-6、IL-6受容体(IL-6R)ならびにgp130の遺伝子発現をRT-PCR法で検討した。精子濃度を 5×10^6 /mlに調整し、IL-6 (200pg/ml) またはsIL-6R (50ng/ml) を単独あるいは併用添加して、24、48および72時間培養後の精子運動率をcomputer-assisted semen analysis(CASA) systemを用いて解析した。【成績】精子においてIL-6およびIL-6Rの遺伝子発現はみられなかったが、gp130の遺伝子発現が観察された。IL-6またはsIL-6Rの単独添加は精子運動率に影響を及ぼさなかった。一方、24時間以上の併用添加は精子運動率を時間依存性に低下させた。この低下作用は、抗IL-6受容体抗体の投与によりキャンセルされた。【結論】子宮内膜症患者の腹水中に存在するIL-6とsIL-6Rは複合体を形成し、精子に発現するgp130を介してその運動率を低下させ、子宮内膜症患者の妊孕能低下に関与する可能性が示唆された。

UP-45 不妊症患者に於ける抗精子抗体（精子不動化抗体と凝集素）の意義

社会保険徳山中央病院産婦人科 ○小林 正幸, 手山 知行, 平川 修
伊東 武久

今回は抗精子抗体特に凝集素の意義について検討した。対象は平成9年1月1日から平成12年3月31日までの期間に検査した不妊外来に通う女性212人と夫20名に加えて、以前抗精子抗体が判明していた女性7名とした。検査はBMLに依頼した。一定期間内の不動化抗体陽性率は女性4/212 (1.9%)、男性1/20 (5%)、凝集素陽性率は女性16/212 (7.5%)、男性0/20となった。女性において抗精子抗体の有無と体外受精以外での妊娠率を検討したところ、抗体陰性者では50/129 (38.8%)に対し、不動化抗体陽性者では0/11 (0%)、凝集素陽性者では2/14 (14.3%)といずれも有意に低い結果であった。体外受精を行った場合の妊娠率は不動化抗体陽性者で6/9 (66.7%)、凝集素陽性者で2/2 (100%)であった。不動化抗体陽性者は自然の妊娠は可能性が非常に低く早期の体外受精が望ましい。凝集素陽性者は自然妊娠が可能である症例はあるが妊娠率は低く、なかなか妊娠しない場合は体外受精を考慮した方が良いと思われた。

UP-46 Transforming growth factor β の卵胞液および顆粒膜細胞発現に関する検討

千葉大学医学部産科婦人科 ○伊藤 桂, 嘉藤 貴子, 末吉 智博
確井 宏和, 関 克義, 関谷 宗英

【目的】transforming growth factor β (TGF β)は、体細胞各種に認められ、増殖抑制因子あるいは促進因子として知られている。我々は、卵成熟との関連性を調査するためにTGF β の生殖生理における役割について検討した。【方法】千葉大学医学部産科婦人科においてlong protocol法にて体外受精胚移植を施行した患者のうち、大学の倫理委員会規定に従い同意の得られた14例を対象に、採卵時に得られた卵胞液及び血清中のTGF β のをELISA

(Genzyme, USA)により確認した。次いで、卵胞液中に浮遊する顆粒膜細胞を材料としてRT-PCR法でTGF β 及びTGF β レセプターmRNA発現の有無を検討した。【成績】卵胞液においてTGF β 1はELISAにより 1550 ± 376 pg/ml (mean $\pm$ SD, n=36)であったが、TGF β 2及びTGF β 3はELISA法の検出値以下であった。TGF β 1と患者年齢、total hMG投与量との間には相関が認められなかったが、TGF β 1とprogesterone濃度の間には正の相関が認められ ($r=0.37$, $p<0.01$)、個々の卵胞容量との間にも相関を認めた ($r=0.31$, $p<0.05$)。顆粒膜細胞におけるTGF β mRNA発現はTGF β 1で強く、TGF β 2及びTGF β 3で弱いbandとして認められた。またTGF β レセプターmRNA発現はTGF β R I R IIとも認められた。【結論】TGF β 1が卵胞局所にて働き、卵胞発育に関与している可能性が推察される。更に現在real timePCR法にてTGF β 1の発現と卵の成熟度について検討中である。

UP-47 ラット子宮内膜症モデルにおける子宮内膜症初期病変の形態学的考察

東邦大学第1産科婦人科学教室 ○内出 一郎, 森田 峰人, 中熊 正仁
 栃木臨床病理研究所¹⁾ 井原 智美¹⁾, 菅又 昌雄¹⁾, 三浦 妙太²⁾
 東邦大学病院病理学教室²⁾ 久保 春海, 平川 舜

子宮内膜症の初期発生については未だ明確な解答は得られていない。今回、我々はラット子宮内膜症モデルを用いて、初期発生病変を形態学的に考察したので報告する。

週令8週のSprague-Dawley Ratを用い、Vernonらの方法に基づき実験を行った。ラットは明暗12時間環境で2週間順応させた後、塩酸ケタミンおよびセボフルランの全身麻酔下に腹部正中切開にて腹腔内に至り、右子宮角部を切除の後、子宮内膜面を腹膜側に向けて6-0ポリ弗化ビニリデン糸にて縫合移植した。経時的に再開腹を行い子宮内膜症病変を回収し病理学的な検索を行った。

HE染色、各種特殊染色、免疫組織化学染色を行い、光学顕微鏡にて観察し、同部位を電子顕微鏡にてさらに詳細に検討したところ、病変部に形質細胞、肥満細胞、リンパ球、好酸球が出現し、各々の細胞は時間経過によって変化していくことが観察された。

今回の実験でラット子宮内膜症モデルの超微形態的レベルでの変化を経時的に詳細に追うことにより得られた興味深い所見は、ヒト子宮内膜症病変の解明に有用と考えられた。

UP-48 子宮内膜症、子宮腺筋症および子宮筋腫とCYP17の遺伝子多型の関連

京都府立医科大学産婦人科学教室 ○門 紀子, 北脇 城, 石原 広章
 小柴 寿人, 楠木 泉, 塚本 克美
 本庄 英雄

〔目的〕子宮内膜症、子宮腺筋症、子宮筋腫は性成熟期女性に好発し、閉経や卵巣摘出により退縮することから、その増殖がエストロゲン依存性であると考えられる。最近、アンドロゲン産生酵素である17 α -hydroxylaseおよび17, 20-lyaseをencodeする遺伝子CYP17の多型が、血中のエストロゲン値の多寡や乳癌のリスクと関連することが指摘されている。そこで、頭書の疾患とCYP17の遺伝子多型の関連について検討した。〔方法〕月経周期を有する女性(24~48歳)を対象として、開腹術または腹腔鏡により病理学的に診断した子宮内膜症(E群, n=111), 子宮腺筋症および子宮筋腫(non-E群, n=73), 子宮頸部上皮内癌以外には婦人科疾患を有さないdisease-free(DF群, n=30)の3群に分類した。さらに住民検診を受けた女性を対照(R群, n=90)とした。個人から同意を得て採取した末梢血よりDNAを抽出し、CYP17の5'-非翻訳領域の1塩基多型を、制限酵素MspA1を用いたPCR-RFLP法により解析した。〔成績〕各遺伝子型の頻度の分布A1/A1:A1/A2:A2/A2は、E群では30例(27%):66例(59%):15例(14%), non-E群では12例(16%):56(77):5(7), DF群では5例(17%):21(70):4(13), R群では25例(28%):61(68):4(4)であり、各群間に有意差は認めなかった。しかし、(A1/A1+A1/A2):A2/A2は、E群では96例(86%):15例(14%), R群では86例(96%):4例(4%)となり、E群ではR群に比してA2/A2遺伝子型の頻度が高かった(P=0.02)。〔結論〕CYP17遺伝子多型は子宮内膜症と部分的に関連している可能性が示された。遺伝子型がA2/A2である女性、A1/A1やA1/A2に比して血中エストロジオール濃度が高いことが指摘され、A2 allele保持者が進行乳癌のリスクと関連することが報告されている。今回の成績はこれらと同様に、A2/A2遺伝子型が子宮内膜症と関連することが示唆された。

UP-49 子宮内膜症と子宮腺筋症の正所性、異所性子宮内膜における キサンチンオキシダーゼの発現

秋田大学医学部産科婦人科 ○太田 博孝, 田中 俊誠

【目的】フリーラジカルは妊娠能と深い関わりをもっていることが知られつつある。我々はヒト子宮内膜にNO合成酵素、スーパーオキシド消去酵素やグルタチオンペルオキシダーゼが存在し、月経周期によりダイナミックに変動すること、子宮内膜症では周期を通じ過剰に発現していること、を報告してきた。キサンチンオキシダーゼ(XO)はヒポキサンチンの存在下で、スーパーオキシドを産生する酵素である。今回、XOの子宮内膜における発現を免疫組織学的に検討したので報告する。

【方法】対象は規則的な月経周期を有する正常婦人47例(対照群)、子宮内膜症33例、子宮腺筋症34例である。子宮内膜は患者の同意を得て採取し、10%ホルマリン液で固定した。各切片は薄切後XOの局在を家兎抗ウシXO抗体を用いPAP法で染色した。評価法は、その陽性頻度(1+~3+)と染色程度(1+~3+)から評価ノモグラム(EN)を用い1-5の5段階に分類し半定量化して行った。

【成績】対照群の腺上皮、被蓋上皮細胞におけるXOの発現は月経周期により変動した。対照群では増殖前期(1.0 ± 0)で低く、排卵期から分泌中期(1.6 ± 0.2)にかけて高値を示した。対照群被蓋上皮におけるXO値は腺上皮における値の推移と同様の傾向を示した。子宮内膜症群ではXOの月経周期による変動が消失していた。一方、子宮腺筋症群では月経周期により変動を認めたが、対照群の変動とは全く異なり、月経各期を通じ高値で、3群の中では増殖後期を除く各期を通じ、最も高い値を示した。異所性子宮内膜組織でXOの発現は全例に認められた。子宮腺筋症組織における腺上皮細胞のEN値は 2.6 ± 0.2 と、正所性子宮内膜腺上皮の分泌中期を越える高い値を示した。

【結論】子宮内膜症でXO酵素は月経周期間の変動が消失し、子宮腺筋症では周期全般を通じ過剰に発現しており、これら疾患における疼痛・不妊などの病態生理に関与している可能性が示唆された。

UP-50 子宮内膜症合併不妊症患者におけるART治療後妊娠の 転帰について

兵庫医科大学分娩新生児部¹⁾ ○繁田 実^{1,3)} 濱田ゆかり²⁾ 長谷川昭子³⁾

兵庫医科大学産婦人科学教室²⁾ 霞 弘之²⁾ 小森 慎二²⁾

兵庫医科大学先端医学研究所発生生殖部門³⁾ 香山 浩二^{1,2,3)}

子宮内膜症を合併した妊娠では流産の頻度が増加と言われてきたが、腹腔鏡検査、USGやMRIによる画像検査、血清学的検査などの進歩により子宮内膜症の診断・分類が明確になるに伴い、その妊娠への影響が再検討されている。今回我々も、腹腔鏡で子宮内膜症を診断しART治療で妊娠した症例から、子宮内膜症の妊娠転帰への影響を分析したので報告する。

対象は1999年9月までにART治療で妊娠し、その転帰の判明した197妊娠(分娩153、流産35、子宮外妊娠9で、分娩の内訳は単胎113、双胎34、3胎5、5胎1)である。腹腔鏡で子宮内膜症を確認したのは18例と子宮内膜症を伴わない179例について多胎率、流産率、早産率を比較したが両群に差はなく、単胎、双胎妊娠ともに児の生下時体重およびApgar scoreにも差を認めなかった。以上の結果より子宮内膜症合併の有無は妊娠転帰に影響はしないと考えられる。

UP-51 チョコレート嚢胞に対する手術療法後の卵巣機能の評価 —術後 IVF-ET の成績から—

東海大学医学部産婦人科学教室 ○鈴木 隆弘, 和泉俊一郎, 松林 秀彦
奥脇 伸二, 新井 正, 牧野 恒久

【目的】チョコレート嚢胞に対する各種手術療法の選択は、とくに挙児希望患者の妊娠性を考慮した場合きわめて重要である。最近低侵襲な腹腔鏡下手術が普及しているものの、チョコレート嚢胞を摘出すべきかどうかについては術後の卵巣機能におよぼす影響という観点から賛否両論である。今回、各種術後卵巣機能の評価のひとつとして、術後体外受精—胚移植 (IVF-ET) の成績を検討した。

【方法】1994 年 7 月から 1999 年 7 月の間にチョコレート嚢胞に対して腹腔鏡下に嚢胞摘出を行った 11 名 (A 群)、腹腔鏡下に嚢胞内容を吸引および内腔の電気焼灼を行った 16 名 (B 群)、開腹手術によって嚢胞摘出を行った 11 名 (C 群) の術後初回の IVF-ET における採卵数、受精率、良好胚率を中心に検討した。

【結果】A、B、C 群においてそれぞれ、採卵時におけるチョコレート嚢胞再発率は 36.4%(4/11)、50.0%(8/16)、27.3%(3/11)であった。採卵数 (個) は 5.09 ± 2.91 、 5.37 ± 3.39 、 3.81 ± 2.25 であり、A、B 群間では差がなく、C 群で少なかった。採卵卵子のうち患側卵巣から採取した卵子の割合はそれぞれ、62.5%(30/48)、66.1%(37/56)、53.3%(16/30)であった。顕微授精周期を除外した受精率は $79.2 \pm 26.0\%$ 、 $85.6 \pm 21.0\%$ 、 $77.8 \pm 22.7\%$ で、良好胚率 (Veeck 分類で Grade 1 または 2 の胚/胚数) は 56.0%(14/25)、42.9%(27/63)、57.1%(12/21)であった。

【結論】今回の検討からは、チョコレート嚢胞に対する腹腔鏡下の術式の違いによる術後卵巣機能に差がみられなかった。

UP-52 ART後に経験した discordant twin (DT) の2症例

自治医科大学産科婦人科学 ○平野 由紀, 柴原 浩章, 鈴木 達也
大野 貴史, 高見澤 聡, 出居 貞義
水上 尚典, 佐藤 郁夫

双胎間の体重差が一定以上になる場合をDTと定義される。双胎間輸血症候群がないのに、双胎間の発育に著しい差を認めることがあり、発育不良児の臍帯の卵膜付着・辺縁付着や、児の奇形が原因となることがある。DTの診断基準は諸家により異なるが、今回我々はBabson et alが提唱する推定体重差25%以上をDTとした。1995年5月～1999年末迄の間に当院において226人、416周期のARTを施行し、このうち妊娠成立した110周期について検討した。2周期 (1.8%) にDTを経験したが、いずれもGIFT後の二絨毛膜性双胎であった。

症例1は、38歳女性で0経妊0経産、経腔超音波により妊娠5週0日で確認したGSは1個 (8mm) であったが、妊娠6週2日に2個のGSを認め各々20mm、10mmであった。妊娠7週2日のCRLは各々11mm、3mmと差を認めた。その後も胎児発育にdiscordancyを認め、妊娠34週1日にstucked側の胎児仮死にて緊急帝王切開術を施行。第一子は女兒、2148g、Apgar score (Ap) 7点 (1分)、8点 (5分)。第二子は女兒、1518g、Ap7点 (1分)、8点 (5分)。discordancyは29%であった。smaller twinは心房中隔欠損、心室中隔欠損、両側耳介低形成、左外耳道閉鎖、左上大静脈遺残、第一胸椎形成異常、左第一肋骨欠損、左脳室内嚢胞などの多発内外奇形を合併した。

症例2は、29歳女性で0経妊0経産。妊娠27週まで児の発育に明らかな差を認めなかったが、妊娠29週時より発育差は顕著になり、smaller twinの発育遅延を認めた。妊娠35週4日に母体妊娠中毒症の増悪のため、緊急帝王切開術施行。第一子は男児、2194g、Ap9点 (1分)、9点 (5分)。第二子は女兒、1438g、Ap3点 (1分)、9点 (5分)。discordancyは34%であった。smaller twinの胎盤は辺縁付着であったが、児の奇形は認めなかった。

以上、ART後のDT 2症例について、文献的考察を加え報告する。

UP-53

宇宙環境が妊娠に及ぼす影響
—マウスを用いた微小重力航空機実験—

名古屋市立大学医学部泌尿器科学教室 ○池内 隆人、佐々木昌一、田貫 浩之
小島 祥敬、神谷 浩之、山本 洋人
郡 健二郎

【目的】21世紀は宇宙への幕開けの時代であり、宇宙環境（無重力状態）で正常な生殖が営まれるか否かは、今後の重要課題のひとつである。ヒト以外の動物においては、メダカの受精およびふ化率は地上でのそれと変化のないことがスペースシャトルの実験で証明されている。しかし哺乳類のデータは、まだ不十分である。今回我々は、妊娠中のマウスに微小重力負荷を行い、その安全性について検討した。【方法】ジェット機を放物線飛行（パラボリックフライト）させることにより、約20～25秒間のほぼ無重力な状態を作り出すことができる。1回の飛行で10回程度のパラボリックフライトを行い、合計約250秒間の微小重力負荷を与えた。地上で交配し陰栓が確認されたマウスを9群に分け、1群はコントロール（地上飼育）とし、他の8群をそれぞれ交配後0.5, 1.5, 2.5, 3.5, 4.5, 5.5, 9.5, 16.5日目でパラボリックフライトに搭乗させた後通常に飼育し、それぞれの産仔数および出産可能であった雌マウスの率を調べた。統計学的解析にはt検定を用い、 $p < 0.05$ をもって有意差ありと判断した。【結果】妊娠後3.5, 4.5, 5.5日目でパラボリックフライトに搭乗させた妊娠マウスの産仔数は有意に減少した。また出産可能であった雌マウスの率も4.5日目で有意に低下した。【結論】微小重力環境下では、受精卵が着床する時期（マウスでは受精後4.5日目）の出生数は有意に減少した。また出産したマウスの率も有意に減少した。これは重力の変化は着床前や着床後の出産には大きな変化をおよぼさないが、着床期にはその影響を強く受けることを示唆している。従って微小重力の影響は、妊娠の継続に重要な着床時期に最も影響を受けるものと思われる。

UP-54

脱落膜および絨毛における
20 α -ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (HSD) の発現

関西医科大学産科学婦人科学教室 ○中嶋 達也、岡田 英孝、吉村 智雄
中嶋真由美、安田 勝彦、神崎 秀陽

【目的】20 α -ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (HSD) は、プロゲステロンを生理学的に非活性な形である20 α -ヒドロキシプロゲステロンに変換する能力を持った酵素である。プロゲステロンは妊娠の維持に重要なホルモンであるが、ヒトにおいては、妊娠時における20 α -HSDの発現については調べられていない。今回我々は、妊娠初期の絨毛と脱落膜組織における20 α -HSDの発現をreverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を用いて検討した。

【方法】インフォームドコンセントの得られた人工妊娠中絶症例（妊娠5週～11週）から、脱落膜組織と絨毛組織を採取した。採取した組織からRNAを抽出し、20 α -HSD特異的なプライマーを用いてRT-PCR法を行った。サンプルをアガロースゲル電気泳動して各々の組織における20 α -HSDの発現を検討した。

【結果】脱落膜組織、絨毛組織のいずれにおいても20 α -HSDの発現が認められた。また各々の組織で妊娠週数による発現の変化は認められなかった。

【結論】20 α -HSDは脱落膜組織でも発現していると考えられることから、20 α -HSDは脱落膜におけるプロゲステロンの作用を調節する役割を果たしていることが示唆された。

UP-55

トロンピンはトロフォブラストの浸潤能を matrixmetalloproteinase (MMP) を介して促進する

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生殖機能協同学 ○己斐 秀樹, 清水 康史, 坂本 秀一
久保田俊郎, 麻生 武志

【目的】トロンピンはトロフォブラストの浸潤能を促進する。トロフォブラストの産生する MMP を分析し、その機能を解析し着床の調整機構におけるトロンピンの役割を明らかにする。

【方法】初期絨毛より extravillous trophoblast (以下、EVT)、満期胎盤より villous trophoblast (以下、VT) を分離し使用した。Northern blotting、flow cytometry にてトロンピンレセプター (protease-activated receptor 1、以下 PAR1) の特異的発現を確認した。Matrigel-coated invasion chamber を用いて EVT の浸潤能に及ぼすトロンピンの作用を解析し、cell proliferation reagent の WST-1 を用いて EVT の細胞増殖に及ぼす影響を調べた。さらには、トロンピン添加 (5U/ml) ・無添加時の EVT の培養上清を用いて substrate gel zymography と Western blotting 及び EVT から分離した RNA の Northern blotting を行いトロンピン添加が EVT での MMP 産生と活性化に及ぼす影響を分析した。絨毛と胎盤は患者のインフォームドコンセントを得て実験に使用した。

【成績】1) PAR1 の message およびタンパクの発現は、EVT に特異的に認められた。2) Matrigel invasion assay では、トロンピン (5U/ml) 添加は Matrigel を通過して浸潤する EVT の細胞数を有為増加させた (平均 2.4 倍、 $p<0.05$)。3) トロンピン添加は、EVT の増殖を有為に抑制した ($p<0.05$)。4) EVT の培養上清中の主要な gelatinase は MMP2 で、トロンピン添加により active-form の MMP2 は有為に増加した。5) トロンピン添加により EVT に発現する MT1-MMP は有意に増加した。6) MMP1 と MMP3 が確認されたがトロンピンは MMP1 を有意に増加させた。

【結論】トロンピンは主に MT1-MMP を介する MMP2 および MMP1 の活性化により EVT の浸潤を促進する。トロンピンは着床・胎盤形成の重要な調整因子である。

UP-56

マウス子宮における Neuropeptide Y の発現と着床前後期 における時間的空間的推移

三重大学医学部産科婦人科学 ○与那覇 齊, 箕浦 博之, 竹内 茂人
野田 直美, 田中 慶介, 西浦 理佳
豊田 長康

【目的】Neuropeptide Y (NPY) は現在までに末梢、中枢神経系、消化器系・循環器系などにその発現の報告がされている。妊娠子宮においても子宮平滑筋、血管平滑筋、脱落膜などに発現の報告があるものの、その作用に関しては未だ一定の見解はない。今回我々は、妊娠における NPY の機能を探る第一段階として、マウス子宮の NPY 遺伝子の着床周辺期における時間的空間的発現動態と発現調節につき検討した。(方法) 7 週齢の ICR 系雌マウスと雄マウス、精管結紮マウスを交配させ、膣栓確認日を 0.5 日とし、6.5 日までのマウス子宮を摘出し、AGPC 法により RNA を抽出した。発現動態は RT-PCR 法で半定量的に、real-time PCR 法で定量的に解析した。摘出マウス子宮のパラフィン包埋切片を作製し、1 次抗体に anti-NPY 抗体を使用し免疫組織染色を行った。また、摘出マウス子宮から上皮細胞と間質細胞を分離し、エストロゲン・プロゲステロンを添加し培養した。(結果) RT-PCR 法で NPY 遺伝子は着床期と同時期の妊娠 4.5 日より顕著に遺伝子の発現の増幅を認めた。偽妊娠マウス子宮でも同様の結果が認められた。また、Real-Time PCR 法では NPY 遺伝子の発現量は 3.5 日から 4.5 日で約 130 倍に増加した。エストロゲン、プロゲステロン培養上皮細胞において NPY 遺伝子の発現が誘導された。免疫組織学的検討では妊娠に伴う発現の変動は、子宮内膜上皮・腺上皮・脱落膜が主体であり、筋層における変動は軽微であった。(考察) NPY は着床周辺期の子宮内膜上皮に劇的に発現が増加することが明らかにされた。また、その発現に性ステロイドが関与することが示唆され、その影響を受けることによって、オートクリン、パラクリン機構が働き、着床期における上皮細胞と間質細胞との cell-cell interaction の伝達物質としての作用もあると考えられた。

UP-57 ヒトとマウスの子宮内膜におけるインテグリン $\beta 3$ の発現

いしかわクリニック ○大門江津子, 石川 元春
大阪府立母子保健総合医療センター研究所 和田 芳直
大阪大学蛋白質研究所 関口 清俊

【目的】ヒト子宮内膜腺上皮での発現パターンから着床過程において重要な役割を担っていると考えられるインテグリン $\alpha v \beta 3$ の機能をより明確にするために、マウスの子宮におけるインテグリン $\beta 3$ の発現を調べ、ヒトにおけるインテグリン $\alpha v \beta 3$ の発現様式と比較した。

【方法】子宮内膜増殖症の疑いで子宮内膜搔爬術を施行した患者 46 名から同意を得て計 48 検体子宮内膜を採取し、コンパウンドで包埋後凍結切片を作成し、抗ヒトインテグリン $\alpha v \beta 3$ モノクロナル抗体で免疫組織染色した。ICR 系マウスの子宮については、非発情期、発情期、妊娠 Day 1 から Day 6 の各時期に摘出し、凍結切片を作成して抗マウスインテグリン $\beta 3$ モノクロナル抗体で免疫組織染色した。着床部位の同定には Pontamine Sky Blue を用いた。

【結果】ヒト子宮内膜腺上皮でのインテグリン $\alpha v \beta 3$ 発現は、これまでに報告されている通り分泌中期に始まり分泌後期まで持続した。着床期に調べた患者 9 名のうちインテグリン $\alpha v \beta 3$ 発現が見られなかった症例は 4 例あり、そのうち 2 例はその後の IVF-ET によって妊娠が成立した。一方、マウスの子宮内膜上皮では各時期を通じてインテグリン $\beta 3$ の発現はみられなかったが、間質では非発情期、発情期、妊娠 Day 1 から Day 4 までの各時期に強い発現がみられた。D5 (着床期) 以降は上皮直下の限定された間質にのみ発現がみられた。以上のように、着床機の子宮内膜ではヒトとマウスいずれもインテグリン $\beta 3$ が発現しているが、その発現様式に差異が認められた。したがって着床過程におけるインテグリン $\beta 3$ の機能を解析するにあたり、種差を考慮する必要があると思われる。

UP-58 ヒト子宮内膜におけるアミノペプチダーゼ A／ アンギオテンシナーゼの発現

名古屋大学医学部産婦人科 ○安藤 寿夫, 戸田 繁, 塚原慎一郎
小谷 芳明, 正橋 鉄夫, 水谷 栄彦

【目的】アミノペプチダーゼ A (AP-A)／アンギオテンシナーゼの正常月経周期ヒト子宮内膜組織における発現と局在を明らかにする。【方法】患者の同意の下に組織診および手術によって得られた正常月経周期子宮内膜検体を用いて AP-A に関する次のような検討を行った。(1) Western blotting、(2) Enzymatic assay、(3) Immunohistochemistry、(4) In situ hybridization。【成績】(1) 月経周期各期において AP-A の発現を認めた。蛋白レベルの発現量は各期において大きな違いは認められなかった。(2) 酵素活性においても同様の結果を認めた。(3) しかし、局在においてはいくつかの変化が認められた。内膜上皮においては、AP-A は増殖期優位で分泌期はほとんど局在を認めなかった。一方内膜間質においては、月経周期を通して局在を認めたが、どちらかといえば分泌期優位であった。ところが、偽脱落膜化領域においてはむしろほとんど局在を認めなかった。(4) In situ hybridization においてもほぼ同様の結果であった。【結論】ヒト子宮内膜組織における AP-A の発現と局在を初めて明らかにした。AP-A はアンギオテンシン II をアンギオテンシン III に変換する酵素であり、その局在が月経周期において変化を示すことにより、アンギオテンシン II の局所作用を調節しながら着床や月経発来の機序に何らかの役割を担っている可能性が推察された。

UP-59 ヒト子宮内膜における胎盤性ロイシンアミノペプチダーゼ／オキシトシナーゼの発現

名古屋大学医学部産婦人科 ○戸田 繁, 安藤 寿夫, 塚原慎一郎
小谷 芳明, 正橋 鉄夫, 水谷 栄彦

【目的】胎盤性ロイシンアミノペプチダーゼ (P-LAP) / オキシトシナーゼ は、オキシトシン、バゾプレッシン、アンギオテンシンIII、ソマトスタチン等のsmall peptide を分解するプロテアーゼであり、母体胎児の血圧調節などに重要な役割を担っている。先に我々は免疫組織化学的検討により、P-LAPが胎盤絨毛のみならず、血管内皮、腸管、肝胆膵、呼吸器、腎、汗腺、前立腺などの多彩な臓器に存在することを明らかにした。今回、ヒト子宮内膜におけるP-LAPの発現および局在を、タンパク、RNAレベルで検討した。【方法】患者の同意の下で組織診および手術によって得られた子宮内膜検体を用いた。抗P-LAPウサギポリクローナル抗体を用いてWestern blotting および免疫組織化学染色を行った。また、*in situ* hybridization によりP-LAP mRNA の局在を検討した。【成績】(1) 内膜組織ホモジェネートのWestern blotting により、排卵期周辺の子宮内膜にP-LAPの発現が認められた。(2) 免疫染色ではP-LAPは子宮内膜上皮および血管内皮に陽性を示し、うち内膜上皮では月経周期により特徴ある細胞内局在を示した。増殖期ではapical membraneが陽性となり、分泌期初期には核下空胞周囲、次いで核上部が陽性となり、分泌期後期にはびまん性に弱い陽性を示した。(3) *in situ* hybridizationにおいて、増殖期および排卵期周辺の内膜上皮にP-LAP mRNAが認められた。【結論】P-LAPはヒト子宮内膜上皮細胞でも産生され、月経周期を通じて特徴ある局在を示すことが明らかになった。この酵素が月経発来や着床に関与している可能性が推測された。

UP-60

マウス胚由来長期培養系の樹立と性状

石渡産婦人科病院¹⁾ ○時枝由布子¹⁾ 石渡 勇¹⁾ 井口めぐみ¹⁾
聖マリアンナ医科大学東横病院産婦人科²⁾ 石渡千恵子¹⁾ 岡根 夏美¹⁾ 木口 一成²⁾
東京慈恵会医科大学解剖³⁾ 立花 利公³⁾ 橋本 尚詞³⁾ 佐藤 嘉兵⁴⁾
日本大学生物資源科学部動物細胞学⁴⁾ 石川 博³⁾

【目的】マウス胚性幹細胞 embryonic stem cell (ES) の樹立 (方法) ddY 系雌マウスを過排卵・交配させ、約2日後に卵管を灌流し2細胞期胚を、約4日後に胚盤胞を採取した。種々のES細胞の採取と培養を試みた。①採取した胚盤胞の内部細胞塊 ICM をガラス針で吸引し細胞を採取、②2細胞期胚を培養し、2胚葉胚まで培養し、0.25%trypsin で細胞を分散、③2細胞期胚を3胚葉胚まで培養し、小型多層増殖する細胞塊を0.25%trypsin 液を浸したろ紙を用いて colonial cloning した。培養液は10%FCS 含有αMEMまたはHam's F12 に embryotrophic factors(ETFs) および 1 ng/ml leukemia inhibitory factor (LIF) を添加したものを用いた。ICM は ETF および LIF を添加した 10%FCS 含有 Ham's F12 で培養、2胚葉胚期あるいは3胚葉胚の colonial cloning で得た細胞塊は LIF 添加培養液で、5%CO₂、37°C の条件下で静置培養した。継代は 0.25% trypsin 液で 1:2 split で、培養維持は LIF 添加培養液で行った。得られた培養系は継代数、形態、染色体等について検討した。

【結果】ICM から 1 strain 3 胚葉胚の colonial cloning で得た細胞塊からは 4 strain 樹立された。いずれの細胞も小型類円形で上皮系細胞配列のコロニーを形成し、時に (LIF を除去) embryoid body を形成する。まれに神経様細胞突起を形成する。染色体は正常マウス核型で異常染色体はみられない。培養液中には tissue polypeptide antigen が産生されていた。ヌードマウスへの異種移植およびキメラマウスの作成、telomelase の活性については検討中である。 (考察) SKG-II-SF 培養上清より部分精製した ETFs および LIF を培養液に添加することにより、マウス胚由来長期培養系を得ることができた。本細胞系は未熟で多分化能? を有し、染色体も正常で、ES細胞の性状を保持している。

UP-61

マウス卵細胞質移植における卵細胞質の注入量の検討

山梨医科大学附属病院産婦人科 ○永井聖一郎, 笠井 剛, 星 和彦
 ハワイ大カピオラニ病院産婦人科 Thomas Huang

【目的】近年、高齢婦人や頻回の IVF、ICSI の不成功患者の卵細胞質に、若いドナーの卵細胞質を精子と一緒に注入すること（卵細胞質移植）で、胚の質の改善が認められ、妊娠を得たという報告がなされた。しかし、この分野の研究は、充分な動物実験モデルでの評価なしに臨床応用が進んでいる。そこで我々は、卵細胞質移植のマウス実験モデルを確立するためにマウス卵細胞質の注入量について検討した。

【方法】8-12 週令の B6D2F₁ 雌マウスを過排卵誘発し、hCG 投与約 13 時間後に得られた Metaphase II 卵を実験に供した。精子は、同系のマウスの精巣上体から採取した。顕微操作には Piezo driving unit を用い、木村らの方法に準じた。精子は頭部のみを注入したが、同時に注入したドナー卵細胞質の量に応じて、コントロール群、2pl 群、4pl 群、6pl 群に分類し、生存率、受精率、分割率、脱出胚盤胞までの発育率を検討した。なお、顕微注入後の卵は、5%CO₂ in air で CZB 培養液にて培養した。

【結果】生存率はコントロール群 84%(62/74)、2pl 群 76%(74/97)、4pl 群 71%(49/69)、6pl 群 46%(36/79) で、6pl 群で他の群に比べて有意に低値であった ($P<0.01$)。胚盤胞への発育率はコントロール群 75%(43/57)、2pl 群 62%(44/71)、4pl 群 32%(13/41)、6pl 群 29%(9/31) で、4pl 群、6pl 群でコントロール群、2pl 群に比べ有意に低値であった ($P<0.01$)。

【結論】卵細胞質の注入量の増加に伴い、胚の発育は悪化した。特に 4pl を超えると、胚盤胞までの発育は障害された。また、6pl になると生存率にも影響した。以上より、マウス卵細胞質移植の場合、物理的な卵細胞質の注入量は 2pl が妥当だと思われる。

UP-62 腹水濾過濃縮再還流法による卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) の治療

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室 ○伊藤嘉奈子, 間崎 和夫, 渋井 幸裕
 塩川 素子, 橋田 英, 中野由起子
 雀部 豊, 池永 秀幸, 安部 裕司
 久保 春海, 平川 舜

【目的】重症の卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) の治療に対しては、腹水濾過濃縮再静注法による extracorporeal ultrafiltration method (ECUM) が有用と報告されている。我々は腹水濾過濃縮液を血管ではなく、腹腔に戻す腹水濾過濃縮再還流法を施行した症例を経験したので報告する。【対象】通常の輸液療法、低用量ドーパミン持続投与法によって改善しない4症例を対象とし、治療前後の検査成績、症状を比較した。不妊治療の内容は1例が TESE-ICSI 症例、残りの3例が通常の排卵誘発を行った症例であった。【結果】年齢は26歳から33歳（平均 28.3 ± 3.2 歳）、hMG 使用量は平均 $1,575 \pm 750$ IU (600 ~ 2,400 IU)、hCG 使用量は平均 $11,250 \pm 2,500$ IU (10,000 ~ 15,000 IU) であった。最終 hCG 投与日から OHSS による症状出現までの日数は平均 8.8 ± 6.3 日 (3 ~ 16 日) であった。入院時の症状としては腹部膨満感、腹痛、胸部圧迫感による呼吸困難などで、超音波検査にて卵巣の大きさはいずれも 8 cm 以上であり、大量の腹水の貯留を認めた。当院に入院してから腹水濾過濃縮再還流法施行までの平均日数は 4.8 ± 5.2 日 (1 ~ 12 日)、腹水濾過濃縮再還流法による平均除水量は $2,900 \pm 762$ ml (2,300 ~ 4,000 ml) であった。腹水濾過濃縮再還流法前後の検査所見の変化は Hb 値は 12.5 ± 1.7 g/dl から 11.7 ± 1.1 g/dl、Hct 値は $36.9 \pm 5.2\%$ から $34.5 \pm 3.2\%$ 、WBC 値は $11,800 \pm 1,751/\mu l$ から $9,900 \pm 2,869/\mu l$ 、Alb 値は 3.0 ± 0.4 g/dl から 3.2 ± 1.4 g/dl に改善した。腹痛や胸部圧迫感などの症状はいずれも腹水濾過濃縮再還流法直後に改善したが、1例のみ体重増加のため最初の腹水濾過濃縮再還流施行後3日目に腹水濾過濃縮再還流法を再度施行した。【考察】腹水濾過濃縮再還流法は腹水を濾過濃縮し再度腹腔に戻すため、体に対しより自然な方法と思われる。いずれも1~2度の施行で症状の改善を認め、重症の OHSS 症例に対し有用であると考えられた。

UP-63

ARTに伴うOHSS入院の統計と低用量
ドーパミン-フロセミド併用療法川鉄千葉病院産婦人科 ○赤間 晴雄, 遠藤 詩織, 嘉藤 貴子
布山 隆史, 内藤 正文

当科では1991年10月よりARTによる不妊治療を開始したが、それ以前にはほとんどなかったOHSSによる入院例がみられるようになった。治療には原則として低用量アスピリン療法（以下LDA）、低用量ドーパミン療法（以下LDD）を用いたが、必要によりフロセミド療法（以下FMD）を併用した。今回我々はこれまでの入院例についてretrospectiveに検討し若干の知見を得たので報告する。【対象及び方法】1991年10月～2000年3月に実施したc-IVF783周期、ICSI270周期、計1053周期の採卵後にOHSSの診断で入院となった43例を対象とした。LDAは小児用バファリン1錠内服。LDDは3 μ g/kg/min持続点滴。FMDは心電図、血圧モニター下に1回5mg/生食100mlを1時間かけて点滴した。水分摂取はラクテック20ml/hrに制限したが、食事で摂る分は自由とした。【結果】8年6カ月間に1,053周期の採卵後に43例（4.1%）の入院があった。内訳は妊娠29例（67.4%）非妊娠10例（23.3%）予防的全胚凍結4例（9.3%）であり、妊娠例が最も多かった。それぞれ、全妊娠例の11.7%、全非妊娠例の1.4%および全全胚凍結例の5.8%にあたり、やはり妊娠例が多かった。採卵後入院迄の平均日数は妊娠例11.8日、非妊娠例7.2日、全胚凍結例2.8日で総平均9.9日であった。平均入院期間は妊娠例20.1日、非妊娠例7.1日、全胚凍結例7.0日で総平均15.8日であった。LDDは妊娠例19例、非妊娠例8例、全胚凍結例3例に実施し、FMDは各7例、2例、1例の計10例に実施した。入院時のWBCは各18,800、21,500、16,400で平均19,200/mm³。Htは各43.7、45.2、44.7で平均44.1%であった。LDD1日後WBCは各16,600、19,400、15,700で平均17,200/mm³。3日後には13,200、7,200、9,200で平均12,500/mm³と低下した。Htは1日後各41.9、42.1、43.2で平均42.0%。3日後39.8、35.2、33.7で平均38.0%と著明に改善した。FMDはHt<40となった例に1～11回用いたが、血圧、心電図に異常は認められず、尿量は著明に増加することが示された。【考察】OHSSに対するLDD-FMD併用療法は有効かつ安全であり、より積極的に用いてよいものと思われた。

UP-64

高純度FSH製剤単独によるART卵胞刺激

倉敷成人病センター不妊治療部 ○本山 洋明, 藤井 好孝

【目的】フェルティノームP（セローノ・ジャパン株式会社）（以下pFSH）は閉経婦人尿由来の高純度なFSH製剤であり、LHや夾雑タンパク等をほとんど含まず、従来のhMG製剤よりも優れている。しかし、LHRHaを併用する卵胞刺激環境下において内因性LH低下の補充目的で従来のhMG製剤を必要とする見解もある。今回、pFSHをARTの卵胞刺激に単独で用い、その臨床成績を従来のhMG製剤を用いた例と比較し、LH成分投与の必要性を検討した。

【方法】対象は1999年1年間にLHRHaとgonadotropinの併用で卵胞刺激した40才未満の147名、175採卵周期で、ICSI125周期、通常のIVF49周期である。卵胞刺激法はLHRHaのshort法136周期、long法39周期で78%がshort法であり、月経周期3～5の3日間は全ての症例にpFSH225IUを使用した。6日目からもpFSHを続行した群（pFSH群）98周期と、6日目からhMG（FSH:LH=1:1）に変更した群（hMG群）77周期とに分けた。

【結果】HCG切り替え日、主席卵胞径、および11mm以上の卵胞が5個以上発育した周期は、各々pFSH群で月経周期10.7日目、18.9mm、92周期（93.8%）、hMG群で10.9日目、19.3mm、66周期（85.7%）であり、両群に差を認めなかった。刺激月経周期3日目の血清LHと採卵数の関係は、LH<5.0IU/lの階級でpFSH群9.1個（n=15）、hMG群7.3個（n=13）であり、低LH環境において有意差を認めなかった（P=0.29）さらに、ICSI全例においてMII卵率と2PN受精率は、pFSH群で87%（605個/695個）と78%（474/605）、hMG群で85%（328/388）と81%（264/328）で有意差を認めなかった。ETは3～5日目に2個以下とした。GSを認めたETあたりの総妊娠率と生産妊娠率はpFSH群で54%（52/97）と44%（43/97）、hMG群で54%（40/74）と49%（36/74）であり、これらにも有意差は認めなかった。

【結論】pFSHの単独使用はLHRHa併用下において従来のhMGと同等の有効性を示した。従ってART卵胞刺激において従来のhMGによるLHの付加は不必要と考えられる。

UP-65 GnRHaを使用しないホルモン補充周期胚移植 (nonGnRHa HRC-ET) におけるホルモン動態の解析

加藤レディースクリニック ○寺元 章吉, 小林 保, 奥野 隆
山下 直樹, 貝嶋 弘恒, 加藤 修

(目的) nonGnRHa HRC-ETにおける妊娠例のE2、P4値を解析し、効果的なホルモン補充法を検討した。(方法) '96年1月より'99年12月の期間に実施したnonGnRHa HRC-ETにおいて胎児心拍を確認した208周期を対象に後方視野的解析を行った。estrogen support : Day2(D2)よりConjugated Estrogens(CE)1.875mg/dで開始、D6より3.75mg/dに増量、ET0~10は1.875mg/dに減量、'97年以降はET10に β HCGを測定し陽性例は経皮吸収Estradiol(経皮E2)2mg/dに変換しCEは中止した。経皮E2はE2の上昇傾向を確認した時点で中止した。luteal support : D11に経口Dydrogesterone(経口D)30mg/dを開始・継続、P4の推移により減量・中止した。移植 : D11に2前核凍結胚を融解し、D12(=ET0)にETした。E2、P4はEIA法(TOSO, AIA600)により5日毎に測定した。(結果) E2 : ET前値はCE3.75mg/d投与で 564 ± 211 pg/mlに維持された。ET10では 285 ± 96 pg/mlであったがその後低下し、ET20の 191 ± 51 pg/mlを底値に上昇に転じ、ET30には 381 ± 149 pg/mlに回復、最終計測日のET50には 1420 ± 656 ng/mlに達した。P4 : ET前値は全例0.2ng/ml以下であった。その後0.3ng/ml以下で推移するが、ET25より上昇開始し 0.7 ± 0.4 ng/ml、ET40に 6.7 ± 2.3 ng/ml、ET50には 18.6 ± 8.7 ng/mlに達した。対周期妊娠率 : GS/FHB=47.4/39.7%であった。(考察) HRC-ETは排卵が期待できない症例の凍結胚移植を可能とするが、妊娠の維持にはestrogen & luteal supportが不可欠であり、従来はGnRHaの前投与、Progesterone剤・E2剤の長期大量投与が行われてきた。今回の結果より明らかとなった卵巢・胎児胎盤系ホルモン動態は、経皮E2は遅くともET30に中止可能、経口DはET40に減量・中止可能であることを示し、GnRHa前投与の必要性を否定した。胎児への影響を考えれば薬剤使用は必要最小限にすべきであり、詳細・正確なE2・P4評価がそれを可能とする。この点我々の短期少量ホルモン補充法はホルモン動態への薬剤修飾が少なく簡便であり有用性が高いと思われる。

UP-66 Influence of Endometrial Thickness and Pattern on Pregnancy Rates in IVF-ET

自治医科大学産科婦人科学 ○Tawati. A, 柴原 浩章, 小原ひろみ
平野 由紀, 鈴木 達也, 高見澤 聡
出居 貞義, 佐藤 郁夫

Introduction: The roles of endometrial thickness (EmT) and endometrial pattern (EmP) in IVF-ET cycle were already described in many reports, although it remains controversial. It was no doubt that thin EmT is associated with implantation failure, but few reports also showed that increased EmT also has a detrimental effect on pregnancy rates (PRs). In addition, abnormalities in the normal triple line (TL) EmP have been found in association with low PRs. Lower PRs in women who exhibit a homogeneous EmP has been reported previously, although those reports also showed controversial result. **Objective:** Our objects are to investigate EmT and EmP in IVF-ET cycle and to find out whether there is correlation between these parameters and PRs. **Material and Method:** Records of patients who underwent IVF-ET at Jichi Medical School Hospital during May 1995 – December 1999 were evaluated retrospectively. Only cycles in which EmT and EmP on the day of HCG administration were recorded were analyzed. EmT was divided into 3 categories (A=<10mm, B=10–14mm, C=>14mm) and EmP was divided into TL(triple line EmP) and NTL (non triple line EmP). Totally 156 IVF-ET cycles from 120 patients were evaluated. **Result:** The percentage of TL (TL%) were 50.6%, 84.0% and 70.0% in group A, group B and group C. There was a significant difference between group A and group B ($p<0.001$). EmP also correlated with age, where TL appeared in younger women (33 ± 5.4) than in NTL (36 ± 5.2) ($p<0.05$). But EmT and EmP were not correlated with PRs ($p>0.05$). Although there was no significant difference, TL and group B endometrium have better PRs (29.8%) than other groups ($p>0.05$). The minimum EmT where pregnancy occurred is 6.5 mm (2 pregnancies) **Conclusion:** EmP and EmT have no correlation with PRs, but endometrium with TL and group B may have a better influence on successful IVF-ET treatment cycle.

UP-67

凍結胚移植のHRCに用いるエストラダームM,
estradiol 17 β valerate の筋注の効果

斗南病院産婦人科 ○東口 篤司, 金沢 朋扇, 枋尾 和美
高階 俊光, 野田 雅也, 竹内 瑞絵

〔目的〕凍結胚移植でホルモン補充周期(HRC)を用いる場合エストラダームTTSが一般的だが、皮膚の発赤と掻痒を伴うことがある。そのような副作用を避けるためにエストラダームMが発売されたが、エストラダームTTSとはestradiol 17 β valerateの含有量と放出率が異なるためHRCとしてどの程度の量を塗布すべきかを検討した。また皮膚の副作用を完全に避け、投与量を自由に加減することによって子宮内膜の厚さを増加させることが可能かどうかestradiol 17 β valerateの筋注の効果も検討した。

〔方法〕99年11月から00年4月までのHRCを用いた凍結胚移植141例を対象とした。141例はエストラダームTTSを塗布した97例(TTS群)、エストラダームMを塗布した27例(M群)、estradiol 17 β valerateを筋注した17例(IM群)に分け妊娠率、ET時のE1、E2を比較した。M群はさらに通常のTTSの枚数に比して75%、100%、150%の枚数を塗布したM-75%群、M-100%群、M-150%群に分けて検討した。estradiol 17 β valerateの筋注は1mgから始め、4日に1度の頻度で漸増、漸減した。

〔結果〕TTS群、M群、IM群のETあたりの妊娠率は20.6%、22.2%、23.5%であり、M-75%群、M-100%群、M-150%群の妊娠率は25.0%、20.0%、22.2%でそれぞれの群に差はなかった。ET時のE2およびE2/E1はTTS群で102.1pg/ml、0.50、M群で619.6pg/ml、2.54 (M-75%群17.9pg/ml、0.23、M-100%群263pg/ml、1.71、M-150%群939pg/ml、2.85) IM群で489pg/ml、1.12であった。全体として妊娠例のET時E2は10.0未満から2480pg/mlまでの大きな幅がみられた。内膜の薄い症例にIM群で血中E2を増量しても厚くなることはなかった。

〔結論〕凍結胚移植のHRCとしてエストラダームMおよびestradiol 17 β valerateの筋注はエストラダームTTSと同様に有効である。また着床に必要なE2には大きな幅があること、血中E2を増量しても内膜を厚くすることはできないことなどが考えられた。

UP-68

凍結融解精巣内精子を用いた反復ICSIの有効性

レディースクリニック京野 ○福永 憲隆, 松尾 優子, 千葉せつよ
佐藤 智子, 拝郷 浩佑, 針生 光夫
京野 廣一

〔目的〕無精子症患者の TESE-ICSI が広く治療に応用されるようになってきている。そこで反復外科的手術を避ける為、凍結精巣精子を用いた場合でも、新鮮精巣精子と同様な臨床成績が得られるか否かを検討した。その際、凍結精子を用いた反復 TESE-ICSI の累積妊娠率も検討した。

〔対象・方法〕無精子症と診断された 41 例の精巣生検を行い、精巣組織より精細胞を抽出し、一部の組織を病理組織検査に用いた。病理組織標本は最低 10 個の精細管内の精細胞成熟度を Johansen's score(J.S.)によって評価した。精子が存在した抽出液は凍結保存し反復 ICSI の治療に供した。全症例ともインフォームドコンセントを得た上で治療を行った。

〔結果・考察〕新鮮材料より 68.3%(28/41)に精子が確認出来た。精子が確認された症例の平均 J.S.は 6.0 であり、確認出来なかった症例は 2.5 であった。J.S. ≤ 7 であっても精子が確認された症例は、43.5%(10/23)あり、ICSI の妊娠率は 28.5%(2/7)であった。新鮮精巣精子と凍結精巣精子における ICSI の妊娠率は各々 32.1%(9/28)、29.2%(7/24)であった。凍結 TESE-ICSI の累積妊娠率は 57.1%(16/28)であった。一般に J.S. ≤ 7 では精子が存在していないとされているが J.S. ≤ 7 の 23 症例中 10 症例の新鮮材料中に精子が確認されていること、また J.S. 1 あるいは 2 と判定された症例でも精子が確認されたことより診断には細心の注意が必要と思われる。

〔結論〕新鮮精巣精子と凍結精巣精子 ICSI の妊娠率の成績は変わらず(32.1% vs 29.2%)、凍結することで反復 ICSI が可能であり累積妊娠率は 57.1%であった。このことより反復 ICSI 希望者にとって精巣組織抽出の外科的手術の侵襲性を軽減することになり、凍結 TESE-ICSI は有効な治療の一つと考えられた。

UP-69

凍結分割胚蘇生率向上の為の凍結融解条件の検討

セントマザー産婦人科医院 ○鎌田 恵里, 田中 温, 永吉 基
粟田松一郎, 馬渡 善文, 田中威づみ
竹本 洋一, 高崎 博幸, 井手 紀子
岩本 智子

【目的】現在我々の日常行っている分割胚の凍結保存法は、エチレングリコールをbaseとした凍結用媒液を用いている。(シュクロース、抗生剤、不活化血清を含む)この凍結用媒液内に分割卵を入れ洗浄し、凍結媒液と共に分割卵を0.25mlのストローに吸引し密封する。このストローを、-7℃に設定したプログラムフリーザーのメタノール槽に入れ、-7℃で植氷し、毎分0.3℃の速度で、30℃まで冷却する。その後、液体窒素(-196℃)に投入して保存している。今回我々は、分割胚の凍結方法での蘇生率を向上させる為に各種条件下での凍結方法を検討し有用な結果を得たので報告する。【方法】①凍結時、1本のストロー内に3~4個の胚を封入したものと、1個の胚のみを封入したものとを比較した。②凍結保護物質の直接の影響を低下させる為に、凍結操作中の温度を12.5℃の低温にした場合と、室温(28℃前後)にした場合とを比較した。③ストロー封入后、直ちにプログラムフリーザーへセットした場合、封入后氷上にストローを置いて平衡時間をとった後にセットした場合、および平衡時間を約1時間後にセットした場合とを比較した。④技量の異なる複数の人間が同様の手技で行いその結果を比較した。【結果】蘇生とは、全ての割球が正常に戻った状態とした。①1本のストローに3~4個の胚を凍結した場合の蘇生率は、72.3%(193/267)で1個の場合は、50.0%(3/6)であった。②凍結操作中の温度を12.5℃で凍結した場合の蘇生率は40.0%(2/5)で、室温(28℃前後)の場合は、100%(5/5)であった。③凍結后直ちにプログラムフリーザーへセットした場合の蘇生率は、40.0%(4/10)で、氷上に置いて平衡時間をとった場合では90.0%(27/30)で、1時間平衡時間をとった場合では、50.0%(10/20)であった。④個人の技量検体数、どれだけ集中して操作に望めるかにより大きな差を認めた。【結論】胚の凍結は、1本のストロー内に3~4個の胚を室温にて封入し、氷上に静置、最低でも5分間は平衡時間をとって、30分以内にプログラムフリーザーにセットするという条件が最良であった。胚の凍結は、技量の優れた人間が神経を集中して操作できる環境の下に行われることが重要であることがわかった。

UP-70

選択的2個胚移植の有用性について

聖隷浜松病院不妊内分泌センター ○西垣 新, 岡田 久, 渋谷 伸一
佐藤 和文, 大塚 仁世

【目的】妊娠率を維持するため複数胚を移植する IVF-ET においては多胎妊娠は避けることのできない問題である。日本産科婦人科学会でも移植胚数を3個以下にするよう会告が出されているが、品胎発生の危険性は残る。そこで選択的2個胚移植と3個胚移植との妊娠率・多胎率を比較検討し、選択的2個胚移植の有用性を検討した。

【方法】1998.1月~2000.4月までの2年4か月間に当科でIVF-ETを施行した症例のうち、選択的2個胚移植例(A群;3個以上の胚より2個選択し、少なくとも1個は形態学的に良好胚を胚移植した118例)と3個胚移植例(B群;選択の余地なく3個を胚移植した191例)を分け、妊娠率・多胎率を比較検討した。良好胚型はVeeckの分類のG1、G2とした。さらにA群、B群のなかで34歳以下、かつ初回施行例をA'群、B'群とし、比較検討した。

【結果】平均年齢、平均施行回数はA群<B群で 32.2 ± 3.7 歳< 34.7 ± 4.1 歳、 1.5 ± 1.4 回< 2.6 ± 1.9 回で有意差を認めた。A群の妊娠率は31.4%(37/118)、多胎率は18.9%(7/37)であり、多胎はすべて双胎であった。B群の妊娠率は23.6%(45/191)、多胎率は17.8%(8/45)であり、多胎は双胎;5例、品胎;3例であった。A'群は妊娠率32.4%(24/74)、多胎率25.0%(6/24)で多胎はすべて双胎であった。B'群は妊娠率31.4%(11/35)、多胎率27.3%(3/11)でA'群との有意差はなかったが、多胎はすべて品胎であった。

【考察】選択的2個胚移植は3個胚移植に比較し、妊娠率・多胎率は変わらないが、品胎発生を認めず、とくに34歳以下、初回施行例においては品胎防止の意味でも有用であると思われた。

UP-71

胚移植時の培養液量と妊娠率に関する検討

荒川・大桃エンゼルマザークリニック ○大橋 浩栄, 大桃 幸夫, 荒川 修

【目的】 体外受精・胚移植において胚移植時の培養液量を当院での従来法の約半量にすることにより妊娠率に差が生じるか比較検討を行った。【対象及び方法】 富士システムズ製(197001)のETチューブを使用した新鮮胚によるIVF・ET患者とした。対象期間は平成12年1月から4月まで施行したICSI30周期、C-IVF18周期とし培養液少量群とした。対照群は、平成11年1月から12月まで施行したICSI107周期、C-IVF65周期とした。受精後P-1mediumで約48時間培養し、ET mediumは、75%患者血清添加HTFとした。ETチューブに1mlシリンジを付けエアー150 μ lを入れてから培養液を吸引し、子宮底から約1cm離して培養液及び胚を注入した。対照群では培養液を約1cmずつ約6.6 μ lを吸引し、培養液少量群では培養液0.5cmずつ、約3.3 μ lを吸引し胚移植に供した。良好胚獲得率の評価方法は、Veeckの分類のG2以上の胚が2ヶ以上認める割合とした。【結果】 対照群のICSI、C-IVFと培養液少量群のICSI、C-IVFの平均年齢は、それぞれ35.1歳、33.6歳、34.5歳、33.3歳。平均施行回数は、3.5回、2.6回、3.0回、2.1回。平均採卵数は、12.8個、12.6個、15.7個、15.3個。受精率は、75.2%(788/1047)、48.5%(398/819)、72.2%(250/346)、50.6%(139/276)。良好胚獲得率は、55.1%(59/107)、58.4%(38/65)、66.6%(20/30)、61.1%(11/18)。平均胚移植数は、4.6個、3.4個、3.1個、2.5個であった。以上の結果より、妊娠率は、それぞれ44.8%(48/107)、38.4%(25/65)、46.6%(14/30)、61.1%(11/18)。着床率は、12.8%(63/492)、13.3%(30/225)、20.0%(19/93)、39.1%(18/46)であった。【結論】 妊娠率に有意差を認めなかったが、着床率においてC-IVFと対照群において有意差を認め、その有用性が示唆された。また、着床率が高いことなどにより培養液少量群では、胚移植数を2個以内に制限することとも考慮された。

UP-72

体外受精・胚移植時の腹水中サイトカイン濃度測定の意義

済生会下関総合病院産婦人科 ○石松 正也, 田村 博史, 高崎 彰久
森岡 均

【目的】 IVF-ETを施行した患者の採卵時腹水中サイトカイン値を測定し、過排卵刺激に対する卵巣の反応性との関連について検討を行った。【方法】 同意の得られたIVF-ET目的の患者53例53周期を対象とした。全例同様のLong protocol法にて過排卵刺激を行い、HCG投与日の血中Estradiol(E2)値、採卵直前に採取した腹水中のTumor necrosis factor- α (TNF- α)、Interleukin-1 β (IL-1 β)、Interleukin-6(IL-6)を測定した。さらに黄体期中期にOHSSの有無を確認、また全例で血中クラミジア抗体価(IgA, IgG, EIA法)を測定、子宮内膜症の有無を検討した。【成績】 OHSS発症(OHSS群)は11例、未発症(非OHSS群)は42例で、腹水中各サイトカイン値はE2値との間に相関は認めなかったが、OHSS群、非OHSS群各々TNF- α : 222 $\pm$ 352 vs 94 $\pm$ 307, IL-1 β : 62 $\pm$ 58 vs 42 $\pm$ 51, IL-6: 565 $\pm$ 901 vs 302 $\pm$ 674 (Mean $\pm$ SD pg/ml)でいずれもOHSS群で高い傾向にあった。非OHSS群中、クラミジア抗体陽性者7例(CL(+))群と陰性者35例(CL(-))群で比較すると、各々TNF- α : 402 $\pm$ 697 vs 32 $\pm$ 66, IL-1 β : 73 $\pm$ 89 vs 36 $\pm$ 39, IL-6: 837 $\pm$ 1247 vs 195 $\pm$ 451 (Mean $\pm$ SD pg/ml)で、また同じく非OHSS群中、子宮内膜症あり5例(En(+))群、なし37例(En(-))群での比較はTNF- α : 536 $\pm$ 786 vs 34 $\pm$ 89, IL-1 β : 92 $\pm$ 99 vs 36 $\pm$ 39, IL-6: 631 $\pm$ 682 vs 258 $\pm$ 670 (Mean $\pm$ SD pg/ml)であった。いずれのサイトカイン値もCL(+))群、En(+))群で高い傾向にあり、またこれらの群のサイトカイン値はOHSS群とほぼ同等の値であった。E2値はCL(-))群、En(-))群の方が高かった。【結論】 腹水中サイトカイン濃度に影響を及ぼす要因は多様であると思われる、また個体差も大きい、各種サイトカイン値の組み合わせのみでの卵巣の反応性の予測は困難と考えられたが、その関連性はうかがわれた。

UP-73

胚移植時、移植後の ritodrine hydrochloride と
NSAID 併用の有効性

諏訪リプロダクションセンター ○吉川 文彦, 滝沢 洋美, 宮坂 美穂
諏訪マタニティークリニック 朝日 佑香, 矢島 深雪, 船木 圭美
龍田真由美, 根津 八紘

【目的】胚移植時及び移植後に子宮収縮抑制剤であるritodrine hydrochlorideとNSAID(non-steroidal anti-inflammatory drug)を併用することにより、妊娠率向上に効果が認められるか否かを検討した。

【方法】当院において97年1月より99年12月までに治療を行い、新鮮胚移植可能だったすべての患者455症例951周期を対象として、ritodrine hydrochlorideおよびNSAIDをともに使用していない97年1月より10月の138症例170周期(第1群)とritodrine hydrochlorideのみ使用した97年11月より98年12月の237症例358周期(第2群)、両者を併用した99年1月より99年12月の261症例423周期(第3群)の3群に分けてその妊娠率を比較検討した(なお今回の検討では凍結胚移植は対象としていない)。

【結果】全体としての妊娠率は、第1群45/170(26.5%)、第2群122/358(34.1%)、第3群154/423(36.4%)とritodrine hydrochlorideおよびNSAIDを使用することにより有意に上昇していた。さらに40歳未満の症例に限って検討すると、第1群43/154(27.9%)、第2群106/283(37.5%)、第3群132/288(45.8%)とさらなる有意差が認められた。

【結論】過去に移植時の子宮収縮が妊娠率に影響を及ぼすことが報告されている(Fanchin, R. et al. (1998) Hum. Reprod., 13, 1968-74)。今回の検討で、胚移植時及び移植後に子宮収縮抑制剤およびNSAIDを使用することにより妊娠率は有意に上昇した。最近盛んに新しいARTの技術開発がおこなわれ、さらに稀少症例の妊娠例報告がなされ、皆の関心もその方向ばかりに向いているが、今回の我々の報告のように基本的なポイントを見直し改善することにより、より多くの子供を希望している患者さんの期待に応えられるようになるのではないかと考える。

UP-74

良好胚を得られなかった IVF-ET 不成功例に対する
次回 IVF 前の Danazol 投与の有効性

トヨタ記念病院不妊センター ○森脇 崇之, 日比 博子, 早川 美奈
岸上 靖幸, 鈴木 正樹, 小口 秀紀
三輪 忠人

【目的】IVF-ETにおいて良好胚が得られなかった事が不成功の原因と考えられる症例では、良好胚を得る良い方法が知られていないため次回IVFの計画に苦慮する事が多い。一方Danazolを使用することでIVF-ETの成績が改善することが知られているが、胚の質が改善するという報告はない。今回、良好胚が得られなかったIVF不成功例にDanazol pre-treatment protocol (DPP)を施行し良い成績を得たので報告する。【方法】対象はIVFで良好胚が得られず妊娠しなかった症例で、次のIVF前にDanazolを8-12週間使用するDPPを施行した10症例。平均年齢31.4才、平均不妊期間6.3年、DPP前平均IVF回数1.9回、重複した不妊原因は男性因子5例、卵管因子7例、子宮内膜症6例、子宮筋腫2例、PCO2例、自己抗体陽性2例。胚のgradeの評価はday2の時点で行い、Veeckの分類を元に良好なgrade1からgrade4まで4段階に分類し、さらに全ての割球に1個ずつの核が見えるA、核の見えない割球があるB、multinucleated blastomereの認められるCに分類した。【結果】DPPの前後のIVF周期で、GnRHa使用方法、受精方法、hMG使用量、採卵数、受精率、卵割率、移植胚数に差を認めなかったが、10例中8例に妊娠が成立した。DPP前のgrade1,2,3,4はそれぞれ全胚の12%,12%,45%,31%,gradeA,B,Cは10%,48%,41%,DPP後はgrade1,2,3,4が22%,33%,19%,25%,gradeA,B,Cは49%,16%,35%で、胚のgradeに統計学的に有意な改善が認められた。【結論】良好胚が得られなかったIVF-ET不成功例では、次のIVFにDPPを施行することで胚のgradeが改善され、良い結果を得られる可能性があると考えられた。

UP-75 マウス前核置換卵子の前核の同期化が体外発生に及ぼす影響の検討

加藤レディースクリニク ○水野 仁二, 桑山 正成, 山下 直樹
奥野 隆, 小林 保, 加藤 修

【目的】ヒトにおいて若いドナー卵子の細胞質を高齢患者の卵子に注入することにより品質と発生能が改善される可能性が示唆されている。前核置換(PNE)技術を用いて患者卵子の細胞質全てを若いドナー卵子のものと交換することにより最大限に卵子の品質を改善できるかもしれない。我々は最近マウス PNE 卵子の発生能と産子の正常性について報告した。本研究では PNE 時におけるドナー及びレセプント卵子の前核(PN)の同期化のずれがその後の発生に及ぼす影響を調べた。

【材料及び方法】F1 雌マウスより前核期卵子を採取し試験に使用した。排卵(受精)時間を hCG 投与時間により調節し、投与から PNE までの時間を 3 時間間隔で 3 区 (1 区: hCG 後 19h(-3)、2 区: hCG 後 22 時間(0)、3 区: hCG 後 25 時間(+3)) 設定し、それぞれ相互に PNE を行った。雌性 PN のみ、あるいは雌雄両 PN を既報に従い交換した。再構築卵子は常法に従い発生用培地 (M16) にて 4 日間培養し胚盤胞への発生率を記録した。

【結果】雌性 PNE: 同期化させた試験区 1~3 全ての区において 59%が胚盤胞へ、同期化のずれが 3 時間の場合(試験区 1 と 2、2 と 1 及び試験区 2 と 3、3 と 2)56~62%とほぼ同率で胚盤胞へと発生した。同期化のずれが 6 時間の場合(試験区 1 と 3、3 と 1)胚盤胞への発生が 28、30%と有意に低下した($P<0.05$)。

雌雄両性 PNE: 同期化させた区では 58~64%、同期化のずれが 3 時間の場合も 55~62%とほぼ同率で胚盤胞へと発生した。同期化のずれが 6 時間の場合 28、32%と有意に低下した($P<0.05$)。

【結論】雌性 PNE、雌雄両性 PNE ともに PN が 3 時間のずれであれば同期化区と同様、胚盤胞への発生成績に差は認められず、同期化のずれが 6 時間の場合は胚盤胞への発生率が有意に低下した。以上の結果より、PN 同士の同期化よりも、むしろ PN と細胞質の同期化が PNE 後の発生に影響する可能性が強く示唆された。

UP-76 マウス卵子における極体-MII plate の位置関係

加藤レディースクリニク ○大久保 毅, 水野 仁二, 青野 文仁
桑山 正成, 加藤 修

【目的】

ICSI 後の正常受精率低下の一因として、注入したマイクロピペットによる MII plate の物理的損傷が指摘されており、これを回避するため第一極体を指標にして最も離れた位置に精子を注入する手法が一般化している。この手法の成功には、ICSI 時、第一極体と MII plate が近接していることが最低条件となるが、本研究では卵子のピッピング等による物理的処理および採卵後の培養による Over Maturation が極体と MII plate の位置関係に及ぼす影響を検討した。

【材料と方法】

B6C3 F1 系マウスを PMSG にて過排卵誘起処理後 48 時間に hCG を投与し、16 時間後に卵子を回収して実験に用いた。

第 1 極体放出が確認された正常な成熟卵子を M16 で培養 (5% CO₂ in Air, 37°C) し、(1) 採卵直後、(2) 採卵直後+Vortex 処理 5 分間、(3) 3 時間培養後、(4) 6 時間培養後および (5) 12 時間培養後、のそれぞれ区の卵子を Hoechst 33258 にて染色した。蛍光染色された極体および MII plate を観察し、それぞれの中心点間の最長距離をマイクロメーターにて計測、比較した。

【結果】

採卵直後の卵子の極体-MII plate 間距離は $14.2 \pm 4.8 \mu\text{m}$ であったが、Vortex 処理後区は $45.9 \pm 2.4 \mu\text{m}$ と変化が認められた。また極体-MII plate 間距離は体外成熟培養時間の経過とともに増加し、12 時間培養区では $51.8 \pm 1.7 \mu\text{m}$ であった。

【結論】

採卵後の体外培養および物理的処理が卵子の極体と MII plate の位置関係を変化させることが明らかになったことから、従来の ICSI 法のように第一極体の位置を指標にするのではなく、直接 MII plate の位置により精子注入部位を決定する手法を確立する必要性があることが示唆された。

UP-77

FISH法による極体診断の試み

セントマザー産婦人科医院 ○馬渡 善文, 田中 温, 永吉 基
粟田松一郎, 田中威づみ, 竹本 洋一
高崎 博幸, 井手 紀子, 岩本 智子

【目的】染色体構造異常の着床前診断は、女性キャリアの場合、極体を用いて受精前に行うことが可能である。今回我々は、FISH法による極体診断の可能性について検討を行ったので報告する。なお、この実験に使用した検体はすべて患者の同意の元に得られたものを使用した。【対象・方法】患者の同意を得て、採卵時GV期またはMI期の未成熟卵、未受精卵およびMII期卵を対象とした。未受精卵やMII期卵より第1極体をプライムテック社製ピエゾマイクロナニピュレータにて採取した。また、GV期またはMI期卵を体外培養しMII期となった卵に電気刺激(AC2V 8sec、DC1200V/cm 99μsec)をおこない放出した第2極体と第1極体を採取した。(i)採取した極体を10%HTFで洗浄し37℃20分間インキュベート後、Ca(-)、Mg(-)のPBSで洗浄し、スライドガラス上の第1固定液(メタノール:酢酸:水=3:1:4)内に注入、乾燥後カルノア液(メタノール:酢酸=3:1)で固定、標本作製した。(ii)電気刺激(同上)にて活性化したMII期卵に採取した極体を注入、24時間後に2PN(+)を確認、vinblastine(0.1μg/ml)で一晩培養、翌日2PN消失を確認した後0.25%プロナーゼ内で透明帯を溶解除去し卵を固定、極体の染色体標本作製した。(i)、(ii)の方法で作製した標本にVysis社製DNAプローブ(CEP、WCP、TelVysion)を使用し、HYBriteを用いてFISH法を行った。【結果・結論】1. 極体生検にはピエゾマイクロナニピュレータによる方法が卵子に対する侵襲が少なく、成功率[77%(10/13)]の高い方法である。2. 固定後全ての極体でFISHシグナルを認めた。3. 極体のままでは染色体同士の重なりが大きく、小さなFISHシグナルの場合診断が困難な場合がある。4. 上記(ii)の方法で作成した極体の染色体標本では、染色体同士の重なりも少なくより正確な診断が可能である。

UP-78

ICSI自体が児の異常を引き起こしうるか？

ICSIでの異常なヒト精子頭部脱凝縮と first cell cycle of fertilization.

東北大学医学部産科学婦人科学 ○寺田 幸弘, 佐藤 由実, 森田 順子
村上 節, 岡村 州博

【目的】ICSIとIVFの最も大きな細胞生物学的相違点は、前者において精子が卵丘細胞より卵細胞膜を通過する間に両配偶子を受ける修飾が欠如していることである。これらの修飾の欠如は正常な個体発生の first cell cycle にどのような影響を及ぼしているのか未だ検討されていない。今回我々はICSI後のヒト精子頭部の脱凝縮とそれを包む細胞骨格構造の変化、性染色体の局在、さらにICSI卵のG1-S transitionを観察しIVF卵と比較検討した。(方法)成熟ハムスター卵に妊孕性が確認されているヒトドナー精子を通常の方法でICSIした、IVF群として透明体を除去したハムスター卵にヒト精子を媒精した。卵は培養後固定し、両前核の形態及び精子核周囲の細胞骨格構造であるperinuclear thecaの発現を観察した。一部の卵はBrdUとともに培養しその発現を観察し雌雄前核のS phase entryを検討した。さらにICSI卵中の精子核内の性染色体の局在をFISH法で観察した。(結果)IVF卵の精子核は全体が均一に脱凝縮したのに対してICSI卵では精子核先端部の脱凝縮は基部のそれに比して明らかに遅延していた。perinuclear thecaは脱凝縮が遅延した先端部周囲に観察され、IVF卵の精子頭部には認められなかった。BrdUの取込みは、媒精6時間でIVF卵の雌雄前核に認められたが、ICSI卵の約半数では雌性前核のみであった。性染色体がICSIされた精子の脱凝縮が遅延している先端部に認められる卵が存在した。(結論)ICSIされた精子頭部の脱凝縮は均一ではなく、その周囲はIVFでは精子侵入時に除去されてしまうperinuclear thecaに囲まれていた、さらにその部分に性染色体が局在する雄性前核が存在した。ICSI卵の雌雄前核のS phase entryはシンクロナイズしていない可能性がある。以上の結果はICSIの手技自体が細胞生物学的異常を引き起こしうる可能性を秘めていることを示し、さらなる検討が必要であることを示唆する。

UP-79

ヒト胚の染色体核型分析におけるSKY法の有用性の検討

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○佐藤 剛, 青山 和史, 鈴木 由佳
松原 寛和, 生田 克夫, 鈴森 薫

〔目的〕現在着床前診断の方法の1つとしてFISH法が行われており、極体や割球の分析により、胚の移植の可否が決定されている。しかし、FISH法では特定の染色体の数的異常の検索が目的とされており、検索対象とした染色体の情報のみしか得られないという短所を持ち合わせている。最近核型分析の方法としてFISH法を利用したヒトの全染色体の分析が行えるspectral karyotyping (SKY)法が考案されたので、着床前診断法として今後臨床応用が可能か否かについて検討を行った。〔方法〕診断対象としてIVF-ET治療によりえられた2-8細胞期の余剰胚を患者の同意を得て検討に用いた。胚あるいは胚より生検した割球を、ピンブラスチン等の微小管形成阻害剤を含んだ培養液で培養しスライドガラス上に固定した後、分裂中期の核であることを確認できた標本に対し、ヒト染色体全24種に対する多色標識された染色体ペインティングプローブを使用してFISH法で染め分け、2次元画像分光システムにて核型解析を行った。〔成績〕胚のままの状態で培養後割球を生検し検索した群(A群:52胚143割球)と、生検した割球を培養し検索した群(B群:26胚61割球)において、分裂中期核獲得率はA群:39.2%、B群:34.4%、またそのうち染色が可能であった率は、A群:66.1%、B群:57.1%、SKY法での解析率は、A群:32.4%、B群:25.0%であった。〔結論〕SKY法は染色体の数的異常だけでなく構造異常も含めた全染色体の情報を得ることができるという大きな利点を有することから、染色体異常の診断方法として非常に優れていると考えられ、今後着床前診断の方法の一つとして臨床応用される有用な方法であると思われるが、分裂中期核獲得方法、割球の固定方法、FISHのための検体の前処理などに若干の問題が残っていると考えられた。

UP-80

Conventional IVF と GIFTの治療成績の比較

松戸市立病院産婦人科 ○橋本 和美, 平川 正喜, 大森万里子
金子 透子, 小竹 和美, 田巻 勇次

Conventional IVFに比べGIFTはより生理的に近い状態であり、妊娠率も10%程度高いとされているが最近GIFTの実施施設が減少してきている。その理由としてGIFTは患者にとり身体的侵襲があり、施行側にとっても麻酔上の問題や腹腔鏡が必要など施行上の制約があるためと考えられる。当院では卵管に異常を認めない例ではGIFTを第一選択としており、GIFTとIVFの実施数は同程度となっている。今回Conventional IVFとGIFTの治療成績を比較しGIFTの有用性について検討した。方法:1997年10月から2000年3月までに実施し移植に至ったIVF26症例38周期、GIFT24症例29周期を対象とした。結果:IVFの移植症例および移植周期当たり妊娠率はそれぞれ26症例中12例46.2%、38週期中13例34.2%で、GIFTではそれぞれ24症例中13例54.2%、29週期中13例44.8%であった。着床率はIVF18.8%、GIFT16.8%であった。流産率はIVFで8.3%、GIFTで7.7%であった。35才未満と35才以上でIVFとGIFTの周期当たり妊娠率を比較するとそれぞれIVFで22例中9例40.9%、16例中4例25%、GIFTで15例中7例46.7%、14例中6例42.9%であり、35才以上では有意にGIFTで妊娠率が高かった。特に40才以上ではIVFで6周期施行したが妊娠例無かったが、GIFTで9周期中4周期、5症例中4症例で妊娠が成立した。

結論:35才以上、特に40才以上の症例においてGIFTの有用性が認められた。

UP-81

原因不明受精障害に対するICSIの臨床成績

高邦会高木病院不妊センター ○渡邊 英明、隈本 巧、河野由佳子
田内 悦子、西山和加子、野崎あすか
野見山真理、松本 ゆみ、小島加代子

【目的】临床上正常な精液所見にもかかわらず conventional IVFで受精卵を得難い原因不明受精障害は少なくない。我々はこのような症例に対してICSIを試みており、その成績及び有用性について検討したので報告する。

【方法】1999年1月から2000年2月までの期間に正常な精液所見にもかかわらず conventional IVFで原因不明受精障害によりICSIの適応となった29症例52周期（A群）と精液所見不良のためICSIの適応となった69症例124周期（B群）について比較検討した。

【結果】A群、B群の平均年齢は 35.3 ± 3.5 歳、 34.5 ± 6.1 歳、平均採卵数5.2個、7.9個、MII卵率86.9%、83.2%、と両群間に統計学的有意差は認められなかった。受精率は各々66.5%（155/233）、73.3%（595/811）、異常受精率4.3%（10/233）、0.4%（6/811）、良好胚率28.6%、33.3%、平均移植胚数2.1個、2.4個、妊娠率は凍結胚移植を含め周期あたり10.9%（5/46）、19.2%（24/125）、症例あたり16.7%（5/30）、30.7%（23/75）で両群間に統計学的有意差は認められなかった。

【結論】今回の検討より、原因不明受精障害に対するICSIは、受精卵を得ることができるという意味では積極的に試みるべき方法であると思われた。しかし、両群間において有意差はないものの受精率・良好胚率・妊娠率はA群が低い傾向にあり、異常受精率もA群で高い傾向にあった。このことより、受精障害は精子の先体反応が誘起されないなどの精子だけの問題ではなく、卵子にも起因していることが示唆された。今後は、このような症例に対しては、卵子の質の向上などを含め更なる検討が必要だと思われる。

UP-82

当院における無精子症患者の治療成績

蔵本ウイメンズクリニック ○梅林 ツナ、元石 睦郎、江頭 昭義
杉岡美智代、福田貴美子、東島 利紀
蔵本 武志
小野田市立病院泌尿器科 瀧原 博史
原三信病院泌尿器科 小松 潔

【目的】無精子症の重度男性不妊でも、精巣内精子を使用した卵細胞質内精子注入法（ICSI）の臨床応用が一般的となり、妊娠の可能性が十分期待できるようになった。今回は当院での無精子症患者の臨床成績について報告する。【方法】平成10年1月から平成12年5月の期間にTESEあるいはMESAにより回収された新鮮精子または凍結・融解精子を使用してICSIを行った無精子症患者を対象とした。非閉塞性無精子症13症例で精子の回収できた7症例（精子回収率54%）12周期と閉塞性無精子症32症例42周期について、正常受精率、分割率および胚移植あたりの妊娠率を比較した。また、新鮮精子と凍結・融解精子を使用した場合の受精率、分割率および胚移植あたりの妊娠率も比較した。【結果】非閉塞性無精子症と閉塞性無精子症で受精率を比較した結果、非閉塞性無精子症（32%）が閉塞性無精子症（66%）に比べ有意に低くなった。また、非閉塞性無精子症では分割率（79%）および妊娠率（25%）も閉塞性無精子症の分割率（92%）および妊娠率（48%）に比べ低い傾向にあった。さらに、新鮮精子と凍結・融解精子での受精率、分割率および妊娠率を比較した結果、閉塞性無精子症では精子凍結の有無に関わらず、良好な受精率（新鮮精子68%、凍結・融解精子65%）、分割率（新鮮精子97%、凍結・融解精子91%）および妊娠率（新鮮精子50%、凍結・融解精子48%）が得られたが、非閉塞性無精子症では分割率（新鮮精子75%、凍結・融解精子82%）に差はないものの、受精率（新鮮精子44%、凍結・融解精子28%）および妊娠率（新鮮精子33%、凍結・融解精子20%）で凍結・融解精子を用いた場合に低くなる傾向が見られた。【考察】非閉塞性無精子症では、回収できる正常精子が極めて少なく、このことが低受精率の一因である可能性がある。また凍結・融解処理を行うことで、さらに正常精子の回収が困難となるため、凍結・融解精子を使用した場合の受精率が低い傾向にあったと考えられた。

UP-83

当科における TESE-ICSI の臨床成績

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室 ○渋井 幸裕, 安部 裕司, 間崎 和夫
 伊藤嘉奈子, 塩川 素子, 橋田 英
 中野由起子, 雀部 豊, 池永 秀幸
 久保 春海, 平川 舜
 東邦大学医学部泌尿器科学第一講座 三浦 一陽

【目的】男性因子性不妊は、ICSIの登場により画期的な発展をとげ、現在では無精子症や重症乏精子症においても精巣上体あるいは精巣内精子を用いた治療 (MESA-ICSI、TESE-ICSI) が可能となっている。今回、当科において施行された TESE-ICSI の臨床成績を従来の射出精子を用いた ICSI と比較検討した。

【対象】1997年1月より1999年12月までに施行された TESE-ICSI 61 症例 86 周期 (T 群) を対象とし、同時期に施行された通常の ICSI 156 症例 256 周期 (I 群) とその臨床成績について比較検討した。

【結果】年齢は T 群 33.2 ± 4.5 、I 群 34.2 ± 4.5 で有意な差は認めなかった。M II 卵あたり受精率は T 群 72.1% (505/700)、I 群 81.7% (1367/1673) で T 群が有為に低かった。胚移植数は T 群 2.2 ± 0.8 、I 群 2.2 ± 0.8 で有意な差は認めなかった。胚移植あたり妊娠率は T 群 39.5% (34/86)、I 群 34.9% (82/235)、症例あたり妊娠率は T 群 55.7% (34/61)、I 群 52.6% (82/156)、着床率は T 群 19.8% (38/192)、I 群 17.0% (92/542) でそれぞれ有意な差は認めなかった。流産率は T 群 29.4% (10/34)、I 群 31.7% (26/82) で有意な差は認めなかった。

【考察】TESE-ICSI は通常の ICSI と比較して受精率において有為に低下していたものの、着床率、妊娠率、流産率は、臨床成績に差を認めず、その有用性が確認できた。今後、単一精子に対するクオリティー等に対する検討が必要と思われる。

UP-84

MESA, TESE を用いた ICSI の臨床成績と病理検査

広島大学医学部産科婦人科学教室 ○香月 孝史, 原 鐵晃, 大濱 紘三

【目的】我々は無精子症の症例に対して MESA あるいは TESE で精子を回収し ICSI を施行してきたのでその臨床成績と精巣生検の結果を報告する。

【方法】平成7年2月より平成11年12月までに治療を行った13症例22周期を対象とした。MESA 9 症例 18 周期、TESE 4 症例 4 周期であった。精子の採取は脊麻下に精巣、精巣上体を露出し、まず精巣上体から精子回収を試み、運動精子が存在しない場合は精巣を切開し組織を採取し、一部は病理組織検査に提出し、残りは細切、圧座後、運動精子の存在を確認した。採取された精子は GnRH a (long protocol)-hMG-hCG で採取した卵子と ICSI を行った。残った精子は凍結保存した。

【成績】睾丸停留の1症例を除き運動精子回収可能であり、この症例を除く21周期で計131個 (平均6.2個) 成熟卵を採取することができた。3症例3周期以外で計70個 (平均3.3個) の受精卵が得られ、受精率は53.4%であった。そのうち分割卵は64個 (平均3.0個) 得られ、分割率91.4%であった。少なくとも形態良好胚 (Veeck 分類 Grade 2 以上) を1個以上得られ、移植は計47個 (平均2.6個) 行った。6症例 (対患者あたり46%、対移植あたり33.3%、対周期あたり27.3%) に妊娠が成立した。妊娠症例のうち3例は継続中、3例は健康児を娩出、うち1例は双胎分娩であった。流産、子宮外妊娠は1例もなかった。凍結精子を用いた4例のうち4年間保存した1例が妊娠した。

【結論】精巣生検を実施した12症例の病理組織診断は Hypospermatogenesis 8 例、Maturation arrest 3 例、no significant change 1 例であり、Hypospermatogenesis 2 例、Maturation arrest で3例妊娠が成立した。精巣生検の結果にかかわらず精巣上体あるいは精巣内精子には ICSI で良好な妊娠成績を得ることができた。術前の病理診断で精子の有無を正確に確認することは難しく、AID を行う前に MESA, TESE ICSI を試みる必要があると考えられた。

UP-85

TESE-ICSI の治療成績

本場公園クリニック ○吉田 淳, 神山 洋, 吉田 マキ
高橋 暁子, 鈴木 寛規

東邦大学医学部泌尿器科学第一講座 三浦 一陽

【目的】1992年に卵細胞質内精子注入法(ICSI)による妊娠が報告されて以来、高度乏精子症の夫婦でも妊娠が可能となった。また、非閉塞性無精子症でも精巣内にごく少量の精子があれば妊娠が可能である。今回我々は無精子症または射精障害のある夫婦に実施した精巣内精子を用いた顕微授精(TESE-ICSI)の成績を解析したので報告する。

【対象と方法】2000年1月から2000年6月までに、TESE-ICSIを行った21例21周期を対象とした。男性不妊因子は、非閉塞性無精子症が12例(内3例がクラインフェルター症候群)、閉塞性無精子症が6例、脊髄損傷による射精障害が3例である。採卵を実施した後、同日に精巣内精子回収法を行った。精巣内精子回収法は、非閉塞性無精子症には局所麻酔下に陰嚢部を切開し精巣を脱転させた後、手術用顕微鏡を用いて太い精細管を選択的に採取する方法を行った。非閉塞性無精子症には事前に精巣生検は行っていない。閉塞性無精子症または射精障害には、従来通りの精巣生検法を行った。

【結果】非閉塞性無精子症12例中、6例(50%)で精子が見つかった。クラインフェルター症候群に限定すると3例中1例(33.3%)で精子が見つかった。精子が存在した6例は全例ET可能で、ET当たりの妊娠率は50.0%、流産率は33.3%であった。閉塞性無精子症または射精障害の9例では、1例がpoor responderのため1個のみしか採卵できず受精せずETが実施できなかった。ET当たりの妊娠率は50.0%、流産率は0%であった。

【結論】非閉塞性無精子症でも手術用顕微鏡を用いてTESE-ICSIを実施すれば、50.0%の症例で精巣内精子が存在し、十分妊娠の可能性が得られることが明らかになった。

UP-86

顕微鏡下精巣組織採取術

愛知医科大学泌尿器科教室 ○日比 初紀, 瀧 知弘, 山田 芳彰
本多 靖明, 深津 英捷

富士小山病院 山本 雅憲
ナカジマクリニック不妊センター 浅田 義正

【目的】顕微鏡下精巣内精子採取術は非閉塞性無精子症において採取する精巣の組織量を少なくすることが可能な方法である。顕微鏡下精巣組織採取術を7例に試みたので報告する。

【対象及び方法】非閉塞性無精子症患者7例(Kleinfelter症候群1例を含む)を対象とした。右側精巣に対しmicrodissection TESEを、左側精巣は3カ所の組織採取を行った。

【結果】切除重量は平均右側26.7mg、左側57.9mgであった。しかし精子はmicrodissectionを施行した右側、及び3カ所生検した左側、いずれにおいても存在しなかった。

【結語】Microdissection TESEは非閉塞性無精子症例において太い精細管を選択すれば効率よく採取し、その結果採取組織量を少なくできる方法であると言われているが、今回の7例の検討ではいずれも精子が存在しなかった。本当に太い精細管に精子が存在するのか否か、或いは精子が存在しなかった場合、いつまで採取し続けるかが今後の検討課題である。

UP-87 反復AIH施行症例における妊娠成立寄与因子に関する検討

弘前大学医学部産科婦人科 ○葛西剛一郎, 木村 秀崇, 福井 淳史
樋口 毅, 藤井 俊策, 齊藤 良治

〔目的〕配偶者間人工授精(AIH)を複数回施行し妊娠が成立した症例において, 妊娠成立, 非成立周期それぞれにおける内分泌因子, 精子性状などを比較検討した。

〔方法〕平成9年4月から平成11年3月までの間に弘前大学医学部附属病院産婦人科で配偶者間人工授精(AIH)を複数回施行し, 妊娠が成立した18症例, 61周期を対象とした。精子調整は密度勾配法で行い, AIHは子宮腔内精子注入法で行った。AIHの施行日は経腔超音波断層法による卵胞径, 子宮内膜厚の計測, 頸管粘液性状検査および尿中LH定性検査および血清プロゲステロン値(P_4)などの結果を考慮して決定した。これらAIH治療周期における内分泌学的検査値, 媒精に用いた調整精子の性状などにつき妊娠成立周期と非成立周期とで比較検討した。なお, P_4 はイムライズ(NDPC)で, 調整精子の形態はPapanicolaou染色後の塗抹標本の鏡検で, 精子機能はSQA-IIB(Jaffco)でそれぞれ測定した。

〔成績〕卵胞径, 子宮内膜厚, hCG投与量, 総運動精子濃度, 精子形態などに関しては妊娠成立, 非成立周期間で有意差は認められなかった。施行前日での P_4 値(ng/ml , 平均値 $\pm$ 標準偏差)は妊娠成立周期, 非成立周期でそれぞれ 0.72 ± 0.30 , 0.75 ± 0.48 であり, 妊娠成立周期で低値を示す傾向が認められた。また, 施行当日での P_4 値はそれぞれ 2.34 ± 2.04 , 1.31 ± 1.15 であり, 妊娠成立周期で有意に高値であった。

〔結論〕AIH施行に際しては, 施行前日, ならびに当日の P_4 値を充分参考にすることが妊娠成立を予測する上で最も有意義なことが示された。

UP-88 精巣内精子採取術における精巣組織テストステロン値の意義

鳥取大学医学部泌尿器科 ○山本 泰久, ニコラオス ソフィキティス
宮川 征男

目的: 精巣組織テストステロン値はTESE 施行時に精巣内精子が採取できるかどうかのマーカーとなりうるか, およびTESE で得られた精巣細胞と精巣組織テストステロン値の関係を評価した。

対象および方法: 対象は鳥取大学泌尿器科を受診し精巣生検を施行し, 本検査に同意した27人(非閉塞性無精子症: 22, 閉塞性無精子症: 5)である。診断的精巣生検と同時に残余組織のテストステロン濃度を測定した。

結果: 精巣生検の結果はarrest of round spermatid stage 2例, arrest of primary spermatocyte stage 1例, Sertoli cell only tubule 10例であった。TESE に際し精子が回収できた群($n=10$)は回収できなかった群($n=12$)と精巣内テストステロン値は有意差はなかった。精子は回収できないものの円形精子細胞が得られた2例の組織内テストステロン値は閉塞性無精子症症例平均値の10%以下であった。非閉塞性, 閉塞性無精子症患者間で組織内テストステロン濃度に有意差はなかった。

結論: 精巣組織テストステロン値によってTESE 施行時に精巣内精子が得られるかどうか予測できない。精巣内テストステロンが非常に低値の場合, 円形精子細胞から精子が形成される過程が障害されるのかもしれない(complete spermiogenesis failure)。

UP-89

機能性不妊症に対する clomifene+FSH 療法の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○桜井 明弘, 島貫 洋人, 佐藤 雄一
武内 裕之, 三橋 直樹

【目的】不妊症の治療における過排卵刺激には、clomifene(CC)や hMG 製剤が用いられるが、前者の抗エストロゲン作用による妊娠率の低さや後者の卵巢過剰刺激症候群(OHSS)・多胎妊娠などが知られている。CC や hMG の欠点を補う方法として、LH 活性の低い FSH 製剤を用いた CC+FSH 療法に注目し、その有用性を検討した。【対象と方法】対象は針状腹腔鏡で機能性不妊症と診断された男性因子のない 18 例(平均 35.1 歳)で、CC による排卵誘発(A)で人工授精(AIH)を 3 回以上行っても妊娠に至らず、CC+FSH による排卵誘発(B)後 AIH を全例に施行した。B では月経開始後 3 日目より CC 100mg を 5 日間投与し、同 7 日目より FSH 製剤(ヒュメゴン® 100)を連日 200 単位投与した。B で妊娠しなかった 16 例中 9 例は short protocol(C)により体外受精(IVF)を行った。A は 18 例 105 周期、B 18 例 27 周期、C 9 例 9 周期に行い、排卵期と黄体中期の血清ホルモン値、発育卵胞数、子宮内膜厚、妊娠率、OHSS の発症率、B と C における FSH 製剤の総投与量について検討した。【結果】B による排卵期の血清 estradiol 値(E_2)、発育卵胞数は 959pg/ml、6.1 個と、A に比べて有意に高かった($p<0.01$)が、排卵期子宮内膜厚、黄体中期の血清 E_2 ・progesterone 値、子宮内膜厚には差がなかった。一方 C との比較ではいずれも有意差が認められなかったが、FSH 製剤の総投与量は B で 1080 単位、C で 1575 単位で B が有意に少なかった($p<0.01$)。OHSS は B で 2 例(7%)、C で 1 例(11%)にみられたが、いずれも卵巢の腫大のみの軽症例で治療を要さなかった。妊娠は B で 2 例(11%)、C で 1 例(11%)に成立した。【考察】B では A に比べ発育卵胞数が多く、A で妊娠に至らなかった 11%の症例が IVF を行うことなく妊娠した。また C に比べ OHSS の発症率が低率で、妊娠率は同率であった。機能性不妊症で clomifene+AIH で妊娠に至らない症例に対し、clomifene+FSH 療法は IVF を実施する前に試みるべき排卵誘発法であると思われる。

UP-90

Kartagener 症候群と cystic fibrosis との鑑別が必要とされる CBAVD の一例

セントマザー産婦人科医院 ○粟田松一郎, 田中 温, 永吉 基
馬渡 善文, 田中威づみ
九州大学生体防御医学研究所附属病院遺伝外来 松田 貴雄, 小川 昌宣, 吉河 康二

Kartagener 症候群は、全内臓逆位、慢性副鼻腔炎、気管支拡張症を三主徴とし、常染色体劣性遺伝といわれている。また別名「immotile cilia syndrome」とも呼ばれ、繊毛における構造異常が病因の本態とされ、しばしば精子不動症を合併している。本症例の 32 歳の男性は、両親ともに日本人であり、大学病院の放射線科、耳鼻咽喉科、呼吸器内科各科における精査のうえで、Kartagener 症候群の三主徴が確認された。さらに泌尿器科においては「無精子症」の診断であり、LH・FSH・テストステロン値は正常、精巢生検は Jonsen's score 7 点と、標本の精細管内に精子を認めなかった。その後当院を受診し、精巢容量は正常大であり、触診にて精巢上体が軽度には腫大していたため精巢上体からの精子回収を試みたところ頭部の精巢上体管のみに軽度の拡張を認めた。採取した液中に 20~40%の運動精子が確認されたため、従来の「Kartagener 症候群」とは異なる病因が関与している可能性が考えられた。精子鞭毛の横断面の透過電子顕微鏡像では、Kartagener 症候群にしばしば認められる微小管の配列の乱れはなく、整然と『9+2』構造を保っていたため、呼吸器系に類似の症状を発症し、しばしば先天性両側精管欠損症(CBAVD)を合併する「嚢胞性線維症(cystic fibrosis)」が疑われた。インフォームドコンセントを得た後、本症例の血液より DNA を抽出して解析した。ASPCR (アリル特異的 PCR) 法によって $\Delta F508$ をヘテロに有することが推定された。しかし、イントロン 8 の反復配列多型の部分は(TG)11T7/(TG)12T7 のヘテロであった。 $\Delta F508$ はイントロン 8 の反復配列多型の部分が(TG)10T9 のアリルに連鎖するため、現在、直接塩基配列をシーケンスしているところである。また、さらにエクソン 7 に関しては、頻度が比較的高いとされる R347P、1078delT などの変異は認められなかった。エクソン 10 では 1540 番目の cDNA が A/G のヘテロでアミノ酸コドン は Met/Val となる変異があったが、やや機能の低い多型と考えられている。R117H などの変異を含むエクソン 4 や、その他のエクソンに関しては現在解析中である。

UP-91

IVF-ET 後の子宮内外同時妊娠 (頸管妊娠) の一例

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○小野田 親, 末永 義人, 本田 律生
大場 隆, 松浦 講平, 岡村 均

体外受精・胚移植をはじめとする生殖補助技術(ART)の普及によって、子宮外妊娠が増加してきている。それとともに、子宮内外同時妊娠の頻度も増加しており、IVF-ET や GIFT における子宮内外同時妊娠の発生率は 0.75~2.9%と報告されている。その多くは卵管妊娠であり、頸管妊娠は、その発生頻度が 2,500~12,500 妊娠に 1 例と比較的稀である。今回我々は子宮頸管妊娠との子宮内外同時妊娠に対して保存的療法が有効であった 1 例を経験したので報告する。症例は 40 歳の男性因子不妊患者で、他医にて顕微授精を行い、5 月 5 日に 3 個の子宮内胚移植(ET)を受けている。尿中 hCG 陽性確認後、少量の性器出血が持続していたが、近医産婦人科にて経過観察されていた。6 月 3 日より性器出血が増加するため、6 月 4 日(ET 後 30 日)前医を受診し、頸管妊娠が疑われ当科に緊急搬送された。搬送時、バイタルサインは比較的安定していたが、外出血が著明で、腔鏡診では頸管内から外子宮口にかけて暗赤色の凝血塊と組織塊の突出を認めた。超音波断層法では子宮体部および子宮頸管内に各々胎児心拍を伴う胎嚢(長径 19mm)を 1 個ずつ認め、子宮内外同時妊娠と診断した。輸血用血液を確保し、頸管筋層内にピトレスシン 8U を局注後、胎盤鉗子および鈍匙にて頸管内の妊娠産物を除去した。頸管内からの出血はほとんど認めず、頸管筋層内にメソトレキセート 10mg の局注を追加して手術を終了した。術後 12 日目にカラードップラーを含め経腔超音波断層法で観察したが、子宮頸部に異常血流像や同部の腫大は観察されなかった。子宮内胎児の発育、尿中 hCG の増加も順調である。今回、子宮と正所性胎児を温存し得た貴重な症例を経験したが、近年、ART の普及以前には経験されなかったような極めて稀な子宮外妊娠が発症しており、このことを認識した妊娠の初期管理が重要になりつつあると考えられる。

UP-92

IVF-ET における卵巣妊娠の 2 症例

石渡産婦人科病院 ○石渡 勇, 横田 治重*, 廣井 久彦*
日立製作所日立総合病院産婦人科* 樽本 祥子*, 岡根 夏美, 石渡千恵子
時枝由布子, 井口めぐみ

(目的) 卵巣妊娠は非常に稀な疾患で、妊娠例の 1/7000 ~ 1/60000 の頻度と言われている。また、体外受精・胚移植(IVF・ET)による妊娠例では子宮外妊娠が 1/50、さらに卵巣妊娠の頻度は子宮外妊娠の 1/50 との報告もある。我々は IVF・ET 施行不妊患者の卵巣妊娠を経験したので報告する。

(臨床経過) 症例 1 は 36 歳 1 経妊 (流産) 0 経産で、子宮筋腫核出術および剥離手術後、AIH を施行するも妊娠に至らず、IVF・ET を目的に紹介された。1 回目の IVF は採卵数 5、受精なし、2 回目は採卵数 5、ICSI 施行 5、受精 3、4 日目に胚盤胞 2、桑実胚 1 を ET した。ET 後 14 日目に妊娠反応陰性のため経過を見るも BBT は高温期が持続、ET 後 17 日目には月経様出血あり、依然 BBT は高温持続、ET 後 22 日目に急性腹痛にて受診、尿中 HCG 11700 IU/ml、腹腔出血を認め、緊急手術となる。右卵巣妊娠であった。症例 2 は 39 歳 1 経妊 (流産) 0 経産で、子宮筋腫核出術の既往あり。第 3 回目の IVF は採卵数 7、受精卵 6、ET 4 (胚盤胞 1、桑実胚 1、8-16 細胞期胚 2) 施行。子宮内に GS を確認、YS の出現なく、流産の診断の下に、ET 後 32 日目に子宮内容除去術施行 (病理所見は脱落膜のみ)。HCG は陰性化せず、子宮後方に腫瘍をみとめ、腹痛増強のため、ET 後 3 ヶ月目に腫瘍摘出術施行。右卵巣腫瘍・血腫で腫瘍を摘出、病理では絨毛確認できず、チョコレートのお胞であった。腫瘍摘出後 HCG は陰性化した。

(考察) 卵巣妊娠と臨床経過から卵巣妊娠が疑わしい症例であった。一般的に卵巣妊娠の診断は他の子宮外妊娠に比較して困難である。文献的考察を加え報告する

UP-93 hCG 投与後の卵巣血行動態解析による排卵予知法における最適指標に関する検討

金沢医科大学産科婦人科学教室 ○早稲田智夫, 渡辺 之夫, 藤井 亮太
金子 利朗, 牧野田 知

〔目的〕排卵誘発の際、hCG 投与直後に卵巣動脈の血流量が急激に増大することが知られており、本現象を利用して排卵予知を試みる報告が行なわれている。しかしながら、卵巣動脈のような狭小な血管の場合、カラードップラー法を用いても適切な血流測定が困難な場合も少なくない。今回我々は、血流測定の指標のなかで、どの指標が臨床的に最も有用であるかを明らかにすることを目的とした。〔方法〕同意を得た排卵障害患者37名を対象とした。Clomiphene citrate-hCG療法、hMG-hCG療法による排卵誘発の際、主席卵胞が直径18 mm以上に達したときにhCG 10,000単位を筋注し、主席卵胞側の卵巣動脈のPI、RI、最大流速、最小流速、平均流速、卵巣動脈断面積、時間平均流速、血流量をhCG投与前と投与後15、30、60、120、180分後に3人の測定者で各3回測定した。〔成績〕37症例中hCG投与による排卵症例は33症例、非排卵症例は4症例であった。排卵症例においてはPI、RIを除く全ての指標で有意な上昇を認めた。中でも最大流速、血流量では、hCG投与15分後ですでに有意な増加を認め、その傾向は180分後まで認められた。非排卵症例においては、いずれの指標も有意な変化は認められなかった。又、我々の設定したcut off値によると、hCG投与後1時間以上で敏感度80%以上、特異度にいたっては100%で排卵を推測することが可能であった。〔結果〕カラードップラー法による卵巣動脈血流最大速度(Vmax)、血流量(QT)のhCG投与後1～3時間の値が、排卵誘発時の排卵予知の最適な指標であることをはじめて明らかにした。

UP-94 腹腔鏡下手術におけるラリンジアルマスクの安全性

東京大学医学部附属病院分院産科婦人科 ○石山 巧, 西井 修, 高井 泰
五十嵐敏雄, 木戸 道子, 竹内 亨
小島 俊行, 加藤 賢朗, 堤 治

〔目的〕婦人科不妊症の診断治療に腹腔鏡下手術は、有用性の高い事が認識されている。低侵襲を図るためには麻酔法の改良も重要である。ラリンジアルマスクは、気管内挿管に比べ低侵襲であるが、誤嚥等の副作用が問題であった。特に腹腔鏡下手術は、気腹、トレンデンブルグ体位などで誤嚥の可能性が高くラリンジアルマスクを使用する場合に30分以内の安全性に関しての報告はあるが、長時間での安全に関しては明らかな報告はない。そこで今回、比較的長時間の腹腔鏡下手術にラリンジアルマスクを用いその安全性を検討した。

〔対象〕東京大学医学部附属病院分院を受診し、1999年10月から2000年3月までに腹腔鏡下手術をうけインフォームドコンセントを得た例を対象とした。疾患は、不妊症、子宮筋腫、子宮内膜症、皮様嚢胞腫であった。

〔方法〕麻酔導入30分前に少量の水でメチレンブルーのカプセルを経口投与しラリンジアルマスク挿管した。挿管直後、30分、60分、90分、120分にラリンジアルマスク内を気管支鏡にて観察し、PHを測定した。ラリンジアルマスクのサイズは3号又は4号を使用した。麻酔はGOS又はGOプロポフォルで維持した。

〔結果〕術式は、筋腫核出術、子宮内膜症焼灼術、嚢腫核出術等であった。平均手術時間は95分。平均麻酔時間は156分。平均年齢は34歳。手術終了時ラリンジアルマスク内にメチレンブルーの逆流を認めた例はなかった。また、術中術後でPHに変化はなかった。術後の咽頭痛は軽度であった。

〔結語〕今回我々は、メチレンブルーの逆流を観察することによりラリンジアルマスクの安全性を検討した。逆流や重要な副作用は認められず、術後の咽頭痛も少なく、30分以上の比較的長時間の腹腔鏡下手術においてもラリンジアルマスクは安全であると考えられた。従ってデイスージャーリーを含めた婦人科腹腔鏡下手術に気管内挿管に変わるものとして考えられる。

UP-95

腹腔鏡前後の心理状態と精神的ストレス

セント・ルカ産婦人科 ○實崎 美奈, 柴田 令子, 広瀬美代子
倉橋千鶴美, 指山実千代, 宇津宮隆史

[目的]不妊診療において、腹腔鏡検査は不可欠なものであり、当院においても多数の患者に施行している。しかし全身麻酔下に行われる検査のため、患者にとっては肉体的・精神的苦痛も大きいと思われる。そこで患者のストレスの軽減を図るために腹腔鏡検査前後の苦痛や不安を把握することを目的として、この研究を行った。[対象・方法]当院通院中の不妊症患者のうち、1995年4月1日より2000年5月31日までの間に腹腔鏡検査を受けた患者1011名のうち159名に対し質問紙調査を行った。[結果]腹腔鏡検査を勧められた時点で、すぐに受容できた者は77.9%、一方すぐには受容できなかった者は22.1%であった。すぐに受容できた理由は「治療に絶対必要」「不妊の原因が知りたい」で8割以上を占めており、すぐには受容できなかった理由は「検査そのものに対する恐怖感」が最も多く80%で、「治療に必要ない」と考える者は全く無かった。入院後から検査までの間に何が一番不安であったか、の問いには「検査結果が心配」が最も多く、「手術後の痛みや麻酔に対する不安」は少なかった。[考察]腹腔鏡検査を受けようとする不妊症患者は、検査や治療に対して積極的ではあるが、検査を受容するまでの間は手術や麻酔に対して不安を抱えている様子が伺われた。しかし検査を受容した後となる入院から検査までの間では、手術後の痛みや麻酔に対する不安よりもむしろ検査結果に対して最も不安を感じていた。このことは検査や麻酔を受けることに対するストレスに比べ、不妊症であるということによる精神的なストレスがより大きいということを意味していると考えられる。

UP-96

腹腔鏡下での卵管鏡下卵管形成 (FT) システムの有用性の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○中野 義宏, 桜井 明弘, 佐藤 雄一
地主 真理, 武内 裕之, 三橋 直樹

近年、卵管鏡下卵管形成システム(以下 FT システム)が開発され、卵管性不妊に対して良好な治療成績が報告されている。これらの症例では、主に体外受精が選択されてきたが、最近では受精における卵管の重要性が見直されてきており、FT システムにより卵管近位部閉塞に対する治療法の選択の幅が広がりつつある。FT システムの使用法は腹腔鏡観察下に行う方法と外来等において単独で施行する方法とがあるが、当教室では腹腔鏡下に施行している。今回、腹腔鏡観察下に得られた卵管周囲の癒着状況と FT システムによる卵管疎通成績について検討し、FT システムに腹腔鏡を併用する有用性について検討した。

＜対象と方法＞子宮卵管造影で卵管閉塞と診断された 27 症例(25~44 才)を対象とした。全例、全身麻酔下に腹腔鏡を併用し FT システムによる卵管形成術を行った。*Chlamydia trachomatis* 抗体陽性例は 16 例で、violin string lesion を示す肝周囲癒着症例は 7 例であった。術前に行った子宮卵管造影では卵管水腫を認めた 3 例以外の 43 卵管(81.1%)で筋層内に閉塞を認め、7 卵管(13.2%)で卵管峡部に閉塞を認めた。＜結果＞卵管開口術や癒着剥離術などの腹腔鏡下手術は 8 例(29.6%)に行った。術中の卵管再疎通率は 56%(28/50)であった。広間膜への穿孔は 44%(21/50)に認めた。1~3 カ月後の子宮卵管造影では FT 施行時疎通例のうち 7 例に、穿孔例では 9 例に再閉塞を認め、すべての症例での再疎通率は 60%(30/50)であった。術後 2 年の経過観察期間で 7 症例(25.9%)、8 回の妊娠を認め、1 例の子宮外妊娠以外、妊娠経過は順調であった。＜結論＞ FT システムに腹腔鏡を併用するメリットとして腹腔鏡下に卵管を把持し、卵管の屈曲を矯正し卵管鏡を誘導することにより、スムーズに卵管形成術を行うことがあげられる。また、妊娠成立のための卵管の機能は、精子や受精卵の輸送という卵管内腔の機能のみならず、卵のピックアップのための卵管采や卵管周囲の可動性が重要であり、腹腔鏡を併用して腹腔内の病変の診断と治療をおこなうことは必要であると思われる。

UP-97 腹腔内筋腫核出操作が有効であった靱帯内筋腫のLAVH症例

鹿児島大学医学部産婦人科 ○山崎 英樹, 沖 利通, 桑波田理樹
中江 光博, 吉永 光裕, 堂地 勉
永田 行博

近年、子宮筋腫の非侵襲的子宫摘出法として、腔式子宮全摘術（以下 VTH）ばかりでなく、腹腔鏡下子宮全摘術（以下 LAVH）が選択されるようになった。しかし従来の VTH では、筋腫の位置や大きさによっては（とくに筋腫核が靱帯内に存在する場合）経膣操作は困難を極めることがある。今回我々は、腹腔鏡下に筋腫を核出した後、経膣的子宫摘出が容易になった 2 例の靱帯内筋腫症例を経験したので、若干の考察を加え報告する。

症例 1 は 48 歳、経産婦。術前投与として GnRH agonist（リュープリン）3 クール施行後、LAVH を行った。腹腔鏡所見では右円靱帯内に鶏卵大のだるま状筋腫を認め、子宮は経膣的に摘出困難だった。ハーモニックスカルペルを使用し、腹腔鏡下で筋腫を核出後、経膣的子宫摘出が容易になった。症例 2 は 41 歳、経産婦。術前投与として GnRH agonist（リュープリン）4 クール施行後、LAVH を行った。腹腔鏡所見では左円靱帯内に鶏卵大の筋腫を認め、子宮は経膣的に摘出困難だった。ハーモニックスカルペルを使用し、腹腔鏡下で筋腫を核出した後、経膣的に子宮を摘出した。

VTH で摘出困難な靱帯内子宮筋腫症例も、腹腔鏡下に筋腫核出が行えればその後の経膣操作が容易になる。この点で、LAVH 時の腹腔内筋腫核出術は有用である。

UP-98 腹腔鏡施行患者における月経痛に関する検討

長崎大学医学部産科婦人科学教室 ○蓮尾 敦子, 藤下 晃, 宮村 泰豪
北島 道夫, カレク・ネフズ・カーン
増崎 英明, 石丸 忠之

月経痛に悩む婦人は、その痛みのために勉強、就労および日常生活などに支障をきたす。子宮内膜症が月経痛を伴うことは知られているが、内膜症がなくても強い月経痛に悩む女性もいるが、どのくらいの女性がどのような痛みの種類、程度および頻度を有するかはあまり知られていない。今回、私どもは腹腔鏡で骨盤内を観察した 102 例に対し月経痛に関する詳細な問診を行い、月経痛の程度と腹腔内所見を比較検討した。【対象および方法】1997 年 1 月より 2000 年 4 月までに当科で腹腔鏡を施行した 102 例を対象とした。問診表は ASRM (American Society for Reproductive Medicine classification) を日本語訳したものをを用いた。【結果】問診可能であった 102 例の術前診断は不妊症 62 例、臨床的子宮内膜症 14 例、卵巣腫瘍 7 例、粘膜下筋腫 6 例および子宮外妊娠 5 例であった。内膜症であった 49 例（平均年齢； 31.2 ± 6.1 歳）と非内膜症 53 例（平均年齢； 31.0 ± 4.3 歳）において月経痛の有無については差を認めなかった（内膜症群 vs 非内膜症群 = 71.4% vs 67.9%）。しかし、中等度以上月経痛を有したのは内膜症群で有意に高く（内膜症群 vs 非内膜症群 = 51.0% vs 28.3%, $p < 0.02$ ）。また鎮痛剤を毎周期服用を要するものは、内膜症群で有意に高かった（内膜症群 vs 非内膜症群 = 35.4% vs 11.3%, $p < 0.005$ ）。なお性交痛に関しても強い性交痛を有する頻度は内膜症群で高い傾向がみられた（62.2% vs 33.3%, $p = 0.06$ ）。r-AFS 進行期と疼痛の程度との間には一定の関係はみられず、また I, IV 期に比し II, III 期で中等度以上の月経痛を有する頻度が高い傾向がみられた。不妊症群と非不妊症群における内膜症の頻度はそれぞれ 64.8% および 37.5% と差がなく、月経痛の頻度および程度にも差がみられなかった。【結論】内膜症群では中等度以上の月経痛を伴い、性交痛を伴う頻度が高い傾向が示されたが、月経痛と不妊との関連は明らかではなかった。

UP-99 多嚢胞性卵巣症候群における腹腔鏡下卵巣蒸散術の有用性の検討

三重大学医学部産科婦人科学 ○竹内 茂人, 箕浦 博之, 田中 慶介
鈴鹿厚生総合病院不妊センター* 与那覇 斉, 野田 直美, 二村 典孝
磯部 哲也*, 田窪伸一郎*, 豊田 長康

〔目的〕多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)は、排卵障害をきたす疾患の1つで、排卵誘発目的でゴナドトロピンを使用した場合、副作用としての卵巣過剰刺激症候群(OHSS)を発症する可能性が高い。我々はPCOS症例で、排卵誘発無効例や、OHSSの既往のある症例に対して、腹腔鏡下卵巣蒸散術を施行してきたので、その治療成績について報告する。〔方法〕対象症例は、排卵誘発無効や、OHSSの既往のある27症例(年齢:28.5±0.8、BMI:21.16±0.67)である。腹腔鏡下手術はレーザーメスまたは超音波メスにて卵巣蒸散を行った。手術前後で、内分泌学的変化および臨床成績について比較検討した。〔成績〕①LH値(0 min)(mIU/ml):10.64±0.89, 5.36±0.55(p<0.01)。②LH値(30 min)(mIU/ml):58.07±0.67, 26.70±3.56(p<0.01)。③FSH値(0 min)(mIU/ml):6.85±0.28, 7.13±0.69(NS)。④FSH値(30 min)(mIU/ml):14.51±2.84, 12.45±1.78(NS)。⑤testosterone値(ng/ml):29.03±3.27, 21.16±0.67(p<0.05)。⑥DHEAS値(mIU/ml):1638.9±113.6, 1475.6±96.5(NS)。⑦LH/FSH比:1.54±0.11, 0.18±0.08(p<0.01)。⑧自然排卵率:96.3%(26/27)。⑨妊娠率:77.8%(21/27)。⑩継続妊娠率(%):74.1(20/27)。⑪累積妊娠率(1年以内; %):90.5(19/21)。〔結果〕PCOSに対する腹腔鏡下卵巣蒸散術は、内分泌環境を改善し、高い自然排卵率、継続妊娠率が認められ、有用な治療法と思われた。

UP-100 当院における腹式子宮筋腫核出術の妊娠予後に対する検討

東北大学医学部産科学婦人科学 ○門脇 正裕, 村上 節, 森田 順子
佐藤 由美, 中村 聡一, 寺田 幸弘
岡村 州博

〔目的〕近年、結婚年齢の上昇に伴い子宮筋腫を合併している不妊症患者に遭遇することは珍しくない。また、子宮筋腫は不妊のみならず、流早産の原因ともなるため、子宮筋腫核出術を施行する症例が増加してきている。今回我々は、腹式子宮筋腫核出術において、妊娠予後に何が重要な因子であるか検討することを目的とした。

〔方法〕当院において、平成8年から平成10年の3年間に腹式子宮筋腫核出術を行い、その後2年間追跡可能であった症例27例を対象とした。術後の妊娠の有無により2群に分け、出血量、大きさ、重量、筋腫個数、手術時間等について検討を行った。

〔成績〕妊娠率は27例中15例55.6%、平均妊娠期間は9.5ヶ月であった。妊娠予後に関する検討では2群間に、大きさ、重量、筋腫個数、手術時間等では有意差は見られなかったが、出血量において、妊娠例では平均44.9g、非妊娠例では143.9gであり、両者間で有意な差が見られた。

〔結論〕以上の結果より、妊娠性を温存するための腹式子宮筋腫核出術において、出血量のコントロールが重要であることが判明した。また、有意差は見られなかったが、筋腫個数が非妊娠例で多い傾向にあった。切開創の多さが出血量を増加させ、術後癒着の原因となり妊娠率が低下すると推定された。当院ではバゾプレッシンの局注、癒着防止剤の貼付をルーチンに行っているが、さらに、切開創を必要最少限にし、癒着防止に細心の注意を払う工夫が必要であると思われた。

UP-101 PCOに対する腹腔鏡下多孔術の予後についての検討

東邦大学医学部附属佐倉病院産科婦人科学教室 ○矢野ともね、難波安哉美、斎藤 智博
大高 究、木下 俊彦、伊藤 元博

近年、多嚢胞性卵巣(PCO)に対して腹腔鏡下多孔術が広く行われ、その有効性が報告されている。われわれは、不妊症のPCO症例にYAGレーザーによる多孔術を行い、良好な成績を得たので報告する。

【対象】不妊症にてPCOと診断され、Clomiphene療法に反応しなかった9例を対象とした。

【方法】腹腔鏡下にYAGレーザーによる多孔術を行った。蒸散用Multiform fiberを用い、出力20Wで各卵巣表面を20～30カ所照射した。原則として術後第1周期からClomipheneによる排卵誘発を行い、その予後を検討した。

【結果】術前のLH値は平均 $7.9 \pm 2.1 \text{ mIU/ml}$ であり、術後は $5.3 \pm 1.8 \text{ mIU/ml}$ に下降した。また、LH/FSH比は術前 1.6 ± 0.3 から術後 0.9 ± 0.2 に低下した。9症例18卵巣の内、術後、経腔超音波にて発育卵胞が認められたのは16卵巣(88.9%)であった。また、9症例6例(66.6%)に妊娠が成立した。妊娠までの期間は平均 6.6 ± 3.1 カ月であった。妊娠には至らないまでも、排卵効果が12カ月以上持続している症例も存在した。

【まとめ】Clomiphene療法が無効なPCO症例に対して腹腔鏡下レーザー多孔術を行ったところ、術後、高い排卵率と妊娠率を得た。また、排卵誘発効果が1年以上持続することも確認され、本法の有効性が示唆された。

UP-102 不妊症における子宮内膜ポリープにTCRをおこなうべきか？

荻窪病院産婦人科 ○北村 誠司、竹原 祐志、片山恵利子
杉山 武、飯田 悦郎

(目的) 不妊症症例においては、子宮卵管造影や超音波検査の際に子宮内膜ポリープが見つかることがよくある。ところが子宮内膜ポリープは子宮筋腫に比べTCRの効果が上がっている印象が弱く、その不妊原因としての生理学的な裏付けも乏しい。我々が、子宮内膜掻爬でなくTCRを選択する理由を述べ、さらにはTCRの不妊症の予後に与える影響を調べ、不妊症症例における子宮内膜ポリープにTCRを積極的に行うべきかどうか検討する。(症例) 30才 OG0P 不妊期間は3年、AIHを7回施行するも不成功。子宮卵管造影にて子宮内腔が大きく、濃淡が認められ、子宮内膜ポリープを疑い子宮鏡検査施行。子宮腔には径7-8mmの子宮内膜ポリープを多数認めた。まず子宮内膜掻爬を行ったが、子宮鏡再検査にて複数のポリープ残存と著しい癒着を認めた。そこでTCR施行、ポリープと癒着を除去した。

(方法) 対象は、平成9年5月から平成11年4月までの2年間に、当院での子宮鏡検査で子宮内膜ポリープを指摘された不妊21症例。ポリープの大きさが径7-8mm以上のものを該当症例とした。TCR施行の決定の際、子宮内膜ポリープの着床を阻害する可能性が子宮筋腫と比較して明確でない点を患者に説明し、方針決定した。TCR施行症例と非施行症例で、子宮鏡検査後1年間の妊娠率に差があるかどうか調べた。

(結果) TCR施行症例の平均年齢は 32.2 ± 3.3 才。不妊期間は 3.6 ± 2.3 年。非施行症例の平均年齢は 34.1 ± 3.4 才。不妊期間は 5.7 ± 3.7 年。TCR施行症例5例中4例が妊娠し、非施行症例16例中3例が妊娠した。それぞれ妊娠率は80%、18.8%と有意差を認めた。

(結論) ポリープ除去の確実性と止血の確実性から導かれるであろう癒着の抑制ゆえに、子宮内膜ポリープに対しては子宮内膜掻爬でなくTCRを選択すべきと考ええる。さらに不妊症症例における子宮内膜ポリープにはTCRを積極的に行うべきと考えられた。

UP-103

当院における日帰り手術

木場公園クリニック ○神山 洋, 吉田 淳
 東京大学医学部附属病院分院産科婦人科 西井 修, 堤 治
 上尾中央総合病院麻酔科 佐々木 健, 藤岡 丞

【目的】最近の不妊治療の進歩や麻酔法の変化に伴って、日帰りの手術を行う機会が増加してきた。今回我々は女性不妊症の患者に実施した日帰り手術（検査）についてまとめたので報告する。

【対象と方法】1999年1月から2000年6月までに、日帰り手術（検査）を行った11例。その内訳は卵巣嚢腫（チョコレート嚢腫）核出術が5例、子宮内膜症病巣除去術が3例、多嚢胞性卵巣症候群の卵巣蒸散が2例、子宮鏡下粘膜下筋腫核出術が1例である。麻酔は全身麻酔で、9例はラリゲルマスク、2例は気管内挿管を用いた。日帰り手術は朝7時より行い、産婦人科医3名、麻酔科医1名の体制で実施した。日帰りの腹腔鏡下手術を実施する時は、癒着が強く手術時間が長くなると予想される症例、両側卵巣嚢腫の症例、太っている症例、合併症のある症例は日帰り手術の適応から除外した。また、帰宅後でもすぐに患者から医師に連絡ができる体制をとった。

【結果】麻酔時間は平均1時間59分、手術時間は平均1時間12分であった。出血は全例少量で、開腹した症例はなかった。帰宅時間は10名が午後4時、1名が午後6時であった。退院後、緊急に診察をした症例はなかった。

【結論】症例を選択すれば、全身麻酔による腹腔鏡下手術や子宮鏡下手術でも日帰り手術が可能であった。

UP-104

単角子宮卵管切除後、切除側の残存卵管と対側卵管を
端々吻合した4例

虎ノ門病院産婦人科 ○塩田 恭子, 古屋 智, 山田 義治
 佐藤 孝道

単角子宮側の卵管が子宮外妊娠や卵巣嚢腫のために切除され、結果的に両側卵管閉鎖となった不妊症例に対して対側の副角子宮側の卵管との吻合術を施行した4例を経験したので報告する。〔症例1〕左卵巣嚢腫茎捻転のために左付属器切除術を施行。その後、不妊症のため他院を受診し、子宮卵管造影を行ったところ、左単角子宮、左卵管閉鎖の診断となる。その後、IVFを施行するが、妊娠しないため、切除後の左卵管の峡部に右卵管を吻合した。術後、帝王切開術にて2回分娩となった。〔症例2〕子宮外妊娠のため左卵管切除後に左単角子宮の診断となる。その後、IVF3回施行し、1回妊娠したが、自然流産となり、挙児は得られなかった。このため、左卵管切除端に右卵管を吻合した。吻合術後、帝王切開にて3回分娩となる。〔症例3〕子宮外妊娠のため左卵管切除。その後、不妊症のため子宮卵管造影、子宮鏡を施行し、左単角子宮、左卵管閉鎖の診断となる。IVFを2回施行も妊娠しないため、腹腔鏡及び左卵管峡部と右卵管の吻合術を施行した。術後1年の観察期間中、妊娠は確認されていない。〔症例4〕子宮外妊娠のため右卵管切除術施行。術後に子宮卵管造影を行い、右単角子宮の診断となる。このため、腹腔鏡及び右卵管峡部と左卵管の吻合術を施行。術後2回目の月経の後、妊娠。現在、妊娠10週である。〔考察〕4症例とも、卵管切除術時には単角子宮とは診断されていず、術後、不妊症のため子宮卵管造影を施行し、単角子宮であることが診断された。このような症例ではとりうる治療法として、今回のような手術的方法かIVFしかない。IVFの成績が向上したとはいえ、まだ30%程度である。本報告でも4例中3例はIVFを施行しているが、妊娠に至らなかった。また、卵管形成術は卵管の疎通性が回復すれば、理論的には何回でも妊娠可能である。患者の希望にもよるが、単角子宮卵管切除後であっても、IVFだけでなく、卵管形成術も治療の1つとして選択できうと考えられた。

UP-105 不妊専門クリニックにおける男性不妊に関する臨床的検討

岡山大学医学部泌尿器科学教室 ○永井 敦, 渡部 昌実, 井口 裕樹
公文 裕巳

岡山二人クリニック 林 伸旨, 名越 一介

【目的】不妊専門クリニックにおける男性不妊患者に関して臨床的検討を加えた。

【対象と方法】1996年2月から2000年2月までに岡山二人クリニックを受診した不妊カップルのうち精液検査で異常を認めた男性不妊症患者 141名を対象として、その患者背景、精液所見、精索静脈瘤触診所見、超音波カラードプラ所見、妊娠率等につき検討した。

【結果】患者の年齢は24~44(平均33.3)歳、妻の年齢は24~44(平均31.1)歳であった。不妊期間は1~304(平均48.6)ヶ月であった。40名に避妊歴があり、平均29ヶ月であった。続発性不妊は25名であり、第1子を設けているものは21名であった。右精巣容積は10~26(平均21.2)ml、左精巣は8~26(平均20.4)mlであった。触診上、左精索静脈瘤を認めたのは75名、53.2%であった。Glezermanらの分類でGroup 1 (G1)が8名、G2が16名、G3が21名、G4が30名であった。subclinical 症例は5名、3.5%に認められた。右精索静脈瘤は1名、0.7%に認められたのみであった。左精索静脈瘤に対して低位結紮術を46名に施行した。手術を施行した46名のうち妊娠成立は22名(47.8%)であり、内訳は自然妊娠が6名、AIHが9名、IVFが7名であった。術前と術後3ヶ月における精液所見の検討では、精子運動率のうちrapid progressive motility (WHO)において術前 $14.4 \pm 7.6\%$ が術後 $32.2 \pm 21.5\%$ と上昇し、有意な改善が認められた。精索静脈瘤を認めなかった66名は薬物治療を行い、24名(36.3%)に妊娠が成立した。

【結論】不妊専門クリニックにおける男性不妊患者において精索静脈瘤は53.2%に認められ、比較的高い合併頻度であった。また精索静脈瘤に対する手術療法の有用性が示唆された。

UP-106 男性不妊と心理 (意識調査の分析)

昭和大学藤が丘病院泌尿器科 ○坂本 正俊, 池内 隆夫

昭和大学藤が丘病院精神科 北村 勉

〈目的〉男性不妊症患者の不妊にまつわる心の葛藤・不安について、更に夫婦関係を含む対人関係等、環境的要因について当学会で報告して来ました。今回は不妊症外来を受診した初診例に対し、不妊に対する意識調査を行い、認識の仕方、治療知識の程度、治療への期待や希望等について得られた結果について発表する。

〈対象と方法〉最近当院男性不妊外来を受診した18名(年齢24歳~45歳、平均33.5歳)。方法はアンケート調査表を本人自身で記入、結果を分析した。心理テストとしてY・G、T・P・I、C・M・Iを施行した。

〈結果〉①受診の動機:妻や婦人科医師による勧めが多く、自ら進んで受診する例は少なかった。②不妊に関する知識・情報の取得方法:新聞・TV等から受け身的手段による例が1/3で、半数以上がそのままであった。これは不妊への対処としての夫の積極性の乏しさが見られた。③治療で望む手法:2/3が自然妊娠を望んでおり、無理をしたくない、人工的手法は望まない、が多かった。④夫婦の話し合い:半数以上が積極的に話していると答えているが、夫婦のコミュニケーションの希薄な症例もあり、円滑な治療にはこの事を把握し介入の必要性も認めた。⑤絶対不妊に際しての意識:1/3は「子供はいらない」と明確な意識を示した。半数は「分からない」と判断を留意した。この事は最悪の事態に直面する事から回避する心理抑制が反映されており、インフォームド・コンセントを行う上で配慮が必要と言える。

〈考案〉①男性不妊症の治療では夫の積極性の乏しさ、動機付けの乏しさ、非協力性が見られる。問題の回避・否認という心理抑制も無視できない特徴であり、対応上の技法や工夫を要する。②夫婦間に潜在的に存在する心理的問題を他科を含めたトータルケアにより、不要な不安・葛藤が回避され、治療効果が期待できる。

UP-107

ARTを受ける患者の年齢による心理過程の比較

蔵本ウイメンズクリニック ○伊藤 弥生, 福田貴美子, 蔵本 武志

【目的】ARTの患者の心理はARTのプロセスにつれ変化するが、これには年齢による違いが少なくないと思われる。今回、ARTを受ける患者の年齢による心理過程の違いを検討した。【方法】当院のARTの患者に平成9年10月～11月に、初診時、排卵誘発剤投与開始時、採卵・胚移植決定時、妊娠判定検査時および結果判明時の気持ち、さらに、治療に対する今一番強い思いについて、質問紙調査を実施した。【結果と考察】282名(80%)から回答を得、20代・30代前半・30代後半・40代に分け分析した。20代は、不妊の事実直面した直後で周囲からの妊娠に対するプレッシャーも強く「他者の妊娠への劣等感($p<.05$)」は強い。しかし、妊娠への期待が高く持てる年齢であり、劣等感による焦りもあろうが「早く治療を始めたい($p<.05$)」と初めからARTに積極的であり、陽性の妊娠反応も「とても嬉しかった($p<.0001$)」と喜べ、一貫して前向きである。30代前半は、今一番強い思いとして、「妊娠の可能性への不安($p<.001$)」が低い他は特に目立つ傾向はなかった。30代後半は、不妊であることに慣れる一方周りからのプレッシャーも軽減するようで、先の劣等感は少ない($p<.05$)。ART開始時に「卵の発育への不安($p<.05$)」はあるが、妊娠反応陽性をやはり「とても嬉しかった($p<.0001$)」と喜べる等安定した心理過程のようである。40代になると年齢によるタイムリミットへの危機感が高まり、「もう妊娠できないのではという不安($p<.001$)」が胸中を占める。「治療を始めるのが憂鬱($p<.01$)」であり、「採卵できてよかった($p<.05$)」と採卵を喜びとする程身体的限界を意識し、流産に対する不安のためか陽性の妊娠反応も喜べず($p<.0001$)、治療への希望($p<.10$)も薄く終始不安なようである。【結語】ARTの患者の援助には、年齢による心理過程の違いに留意が必要だが、危機的心理にある40代の患者には一層細やかなケアが望まれる。

UP-108

不妊治療を終えて養子縁組を選択した夫婦の場合

医療法人三秀会中央クリニック ○浜崎 京子, 松田 光枝, 菅原真理子
輪島 順子, 伊澤 由美, 本山 光博

高度医療技術の進歩により、今まで妊娠が不可能だった卵管性の不妊や男性不妊でも、朗報が得られるようになりました。しかし、恩恵を受けるカップルがいる一方、繰り返し治療を行っても妊娠、出産に至らない患者は存在します。

不妊治療が長引くにつれ、患者は、いつになったら妊娠できるのか、いつまで治療を続けるのか、または続けられるのかという不安を抱えざるを得ません。治療の継続は、最終的にはカップルの意志によるものです。

難治性であり、葛藤しながらも自分達の子供を持つために治療の継続を希望するカップルもあるが、年齢や治療の経過、経済的な問題等により治療の中止を選択するカップルもあります。その中には、二人だけの生活に進む場合と、子育てしたいということで、養子縁組を希望する場合があります。

今度、不妊治療は断念したが、子育てをしたいという考えから養子縁組を選択した数組のカップルと接する機会がありました。この事例を通して、治療を断念し養子を選択するまでに、どのような経過をたどったかをまとめたので報告します。

UP-109 二人目不妊症患者のメンタルヘルスケアを考える —事例を通して—

医療法人三秀会中央クリニック ○菅原真理子, 松田 光枝, 輪島 順子
伊澤 由美, 浜崎 京子, 本山 光博

近年、高度生殖医療技術が進歩する中、不妊症患者の心理的ケアが考慮されてきており、当院では、実際にメンタルヘルスケアに重点を置いて電話相談並びにカウンセリングを実施しています。

当院を受診した人、又は電話相談をする人の中には、二人目の不妊治療の希望やそれについての悩みが少なくありません。第一子については自然妊娠あるいは不妊治療での出産もあります。いずれも“一人いるからいい”ではなく、二人目の妊娠、出産を望み、当事者にとって深刻な不妊の悩みを抱えています。例えば、第一子がいる為、思うように通院できなかったり、周囲の「一人っ子はだめよ。」という考えからくるプレッシャーを強く感じています。また、治療の為に子供を連れて病院に行けば、周囲の視線を気にかけ、子供と一緒になくても、これから一人目の子供を持つために治療をしている人には、理解されないという状況があります。

不妊治療に携わる医療従事者として、この現実を受け止め、心理状況を把握する必要があると考え、事例を通し検討したので報告します。

UP-110 不妊治療中に流産となった患者の心理

セント・ルカ産婦人科 ○品矢 悦子, 原井 淳子, 指山実千代
宇津宮隆史

〔目的〕流産は、妊娠の約15%といわれているが、長いこと赤ちゃんを授けられなかった人が、初めて妊娠した場合や、流産を繰り返す人の場合の流産率は、20~30%ともいわれている。不妊治療をしてやっと妊娠したにもかかわらず流産してしまった患者は、妊娠という喜びが大きいだけに流産の悲しみは深いと考えた。そこで、流産を経験した患者の心理を把握することで、流産後の精神的ケアに役立てたいと考えた。〔対象・方法〕当院で不妊治療後、妊娠したが流産してしまった患者に対し、掻爬手術後、外来受診日に個人面接にて、流産と言われた時、手術中、手術後、退院時の各段階に分けて、心理調査を行った。〔結果〕流産と言われた時、「ショックだった」81.8%と、多く、「通院中駄目かもしれないと覚悟していた」63.6%「夫に申し訳ない」36.3%「産んであげられなくて赤ちゃんに申し訳ない」36.3%「自分を責めた」36.3%であった。手術中「痛みが怖い」36.3%「1人にしないでほしい」18.1%であり、手術中、手術後は、何も考えていない人が多かった。退院後は、「次に妊娠しても、また流産するのではないか」90.9%「ほんの少しでも母親の気持ちになり、以前より子供がほしくなった」54.5%と多く、「妊娠できるとわかりほっとした」36.3%「もう妊娠できないのでは」18.1%「次の治療はできるのか」18.1%「やめようかと迷った」18.1%であった。治療意欲、育児希望ともに、流産後のほうが強くなったという意見が72.7%と多かった。〔結論〕流産を経験した患者の心理は、個人差があるため、その患者に応じたケアが必要である。患者が、自分たちの感情をためらわないで表現できる場を提供し、流産という現実を認め、悲しみを克服し、次の治療意欲を減退させないよう、患者の気持ちを共感し、傾聴していくことが大切である。

UP-111

不妊治療経験が母性理念に与える影響

セント・ルカ産婦人科 ○柴田 令子, 原井 淳子, 齊高 美穂
二宮 睦, 宿利 佳子, 内藤 多恵
宇津宮隆史

(目的) 今日、不妊医療の現場における患者との関わりのなかで、精神的ケアやサポートは、最も不可欠な要素のひとつとなっている。そこで今回我々は、不妊治療後、妊娠分娩を経験し、現在育児にまで至ったケースの母性心理を、不妊治療を経験していない一般の母親と比較検討し理解することで、更に、治療中の患者の精神ケアに役立てたいと考えた。(対象・方法) 当院で不妊治療後妊娠、分娩に至った患者 297 名 (ART 群) に、母性理念質問紙を郵送にて配布、回収を行った。さらに市内保育所に通う児を持つ母親 160 名 (コントロール群) に、母性理念質問紙を手渡しにて配布、回収のみ郵送で行った。(結果) 「女は子供を産むことで自分が生きた証拠を残すことができる」「女は子供を持つ事で人生の価値を知ることができる」の質問では、両項目共に ART 群の肯定的意見の方がコントロール群に比べ少なかった。又、「母親が子供の成長を生き甲斐にするのは間違っている」の質問では、ART 群の否定的意見がコントロール群に比べ少なかった。更に、「子供が居なければ離婚していたかも知れないと思う事がある」「子はかすがいと言うが夫婦生活を送るうえで子供のいない生活は考えられない」の質問では、共に、ART 群の否定的意見の方がコントロール群に比べ多かった。(結論) 母性理念について調査した結果、不妊治療経験者は治療中、子供の存在だけに執着する人生や夫婦の関係ではなく、子供以外にも生き甲斐をみつけようとする前向きな姿勢であったと考えられた。又、不妊治療経験者と一般の母親の母性理念に違いがみられることにより、不妊治療を経験したことが、母性理念の形成に影響を与える程の体験であった、という事が示唆された。

UP-112 「配偶子(精子/卵子)提供による体外受精および代理母出産」に関する不妊治療中の夫婦の意識調査

越田クリニック ○齋藤 良子, 坂本美弥子, 片山 弥佳
越田 光伸

2000 年 2 月、日本産婦人科学会の倫理審議会によって「夫婦間以外の体外受精も条件付きで認める」という中間答申がまとめられた。さらに 6 月には、厚生省の生殖補助医療技術に関する専門委員会による「第三者の精子を使った体外受精を条件付きで認める」という見解案が発表され、日本においても提供された配偶子を用いた体外受精が認知される可能性が高くなってきた。こういった状況の中で、現在不妊治療を行っている患者夫婦は、配偶子提供に対してだけでなく、諸外国で行われている代理母出産も含め第三者の存在する不妊治療についてどのように考えているのかアンケート調査を実施した。

<方法> 2000 年 6 月から 8 月までの 2 ヶ月間、不妊治療を目的として当院を受診された夫婦それぞれに「配偶子提供による体外受精および代理母出産について」と題したアンケートにご協力いただき、以下の項目の是非について匿名で回答していただいた。

- (1) 日本における「精子/卵子提供による体外受精」
- (2) 自分の治療としての「精子/卵子提供による体外受精」
- (3) 自分の治療としての「第三者からの胚移植」
- (4) 自分の治療としての「代理母出産」

アンケート徴収後、得られた回答について年齢、性別、治療歴、治療の進行具合等のグループ毎に分析し、検討した。

UP-113 配偶者間人工授精の妊娠率に影響を及ぼす因子の検討

愛知医科大学産婦人科 ○佐藤 英子, 浅井 光興, 前田 佳子
鈴木 正利, 野口 昌良, 中西 正美

【目的】配偶者間人工授精法(AIH)は、男性因子や原因不明の不妊症例に広く施行されている治療法の一つであるが、妊娠率は必ずしも良好とはいえず、その治療効果を高めるために様々な試みがなされている。今回は、精子回収法の一つであるPercoll法や排卵誘発剤などの併用薬が妊娠率に及ぼす影響について検討した。

【方法】対象は、1998年1月から1999年12月までの2年間にAIHを施行した夫婦97組、397周期であり、AIHの平均施行回数は、 4.1 ± 3.2 回であった。不妊期間は 5.2 ± 2.9 年、妻および夫の年齢は、それぞれ 33.2 ± 4.0 歳、 35.7 ± 5.3 歳であった。AIHの適応は、男性因子単独によるもの16例、両者の因子によるもの12例、女性因子単独によるもの22例、フナーテストの異常によるものは11例、原因不明のもの36例であった。原精液によるAIHを行った周期は139周期であり、80%Percoll法により良好精子分離を行った周期は、258周期であった。

【成績】AIHにより35例が妊娠し、症例当たりの妊娠率は、 $35/97$ (36.1%)、周期当たりの妊娠率は、 $35/397$ (8.8%)であった。子宮外妊娠をおこした症例が2例であり、流産率は21.2% (7/33)であった。不妊原因別では、症例当たりの妊娠率が最も低かったのは、男性因子単独の症例で25.0% (4/16)、最も妊娠率が高かったのはフナーテスト異常が主原因の症例の54.5% (6/11)であった。周期当たりの併用薬別の妊娠率は、併用薬なしで8.8% (7/80)、Clomiphenの併用で8.4% (17/202)、hMGの併用で13.0% (7/54)であった。妊娠周期35周期の精子処理法の有無による周期当たりの妊娠率は、Percoll処理周期10.5% (27/258)、無処理周期5.8% (8/138)と、Percoll処理周期の方が有意差はないものの($p=0.170$, $\chi^2=1.889$)約2倍の妊娠率であった。

【結論】AIHによる妊娠率を向上させるためには、hMGを使用した排卵誘発を積極的に行うとともに、すべての症例に対してPercoll法による良好精子分離法を行うことが望ましい。

UP-114 不妊相談センターを開設して

香川県立中央病院産婦人科 ○川田 清弥

平成8年厚生省児童家庭局長通知の生涯を通じた女性の健康支援事業実施要綱をもとに香川県は平成11年新規事業として“すこやか妊娠サポート事業”を発足させ7月に当院に不妊相談センターが開設された。平成12年3月までの9ヶ月で相談件数は合計229件あった。相談者の年齢別に見てみると20才台96件42%30才台123件54%40才台8件3%であり、相談者の男女比は圧倒的に女性が多かった。情報源としては新聞86件37.5%広報など66件28.8%人に聞いて29件13%ポスター20件9%ラジオTV18件8%公共機関12件5%であった。相談項目についての調査では、医療情報についての問い合わせが161件70%を占め、治療の悩みが40件20%治療以外の悩みが16件10%であった。医療情報161件の具体的な相談項目について複数解答では病院情報についての問い合わせが65件25%、月経、基礎体温についてが50件20%、ARTについてが48件20%、検査についてが40件16%、男性不妊が20件8%内膜症、筋腫が13件5%、人工受精が11件4%、薬についてが8件3%であった。40件の相談があった治療の悩みについて詳しく見てみると治療への悩みが32件36%、病院への不満が20件22%、費用についてが12件13%、不妊への不安が12件13%であった。治療以外での悩みについては、夫とのことが11件、自分自身のことが6件、周囲との人間関係が5件、妊娠出産育児についてが4件であった。以上、平成11年度に不妊相談センターを開設し不妊と言う悩みが非常に多岐に渡るものであり、いままでの臨床の場ではなかなかそれに対処できていなかったということがいえ、ただ単に不妊の治療をするだけではなく、これらの相談者の立場を踏まえつつ今後の不妊の臨床にいかしていきたい。

UP-115

不妊外来におけるクリニカルパス導入の試み

蔵本ウイメンズクリニック ○福田貴美子, 山下 美和, 東島 利紀
蔵本 武志

【目的】クリニカルパスは、米国で医療費削減の背景に作られたフローシートである。短縮された入院期間内にケアの質を損なわず、確実な医療や看護を実施するために考案された。現在では国内の入院施設にも浸透する一方で、限られたシステムにおいてベストケアを実践するための独自のクリニカルパスの考案も進んでいる。今回、我々は多忙で検査や処置の多い、しかも十分なインフォームドコンセントを必要とする生殖医療の領域において、効率的に外来診療を実践するとともに、医療目標と患者の状態とのギャップ（バリエーション）を埋め、患者自身の治療に対する理解を深め、より良い患者結果（アウトカム）をもたらすことを目的にクリニカルパスを導入した。【方法】質の向上と業務の効率化を目的としたスタッフ用クリニカルパスと患者への情報公開とインフォームドコンセントを目的とした患者用クリニカルパスを一般不妊治療と ART を受ける患者用に当院独自のものを作成した。作成の過程においては、医師を中心としたコメディカル（体外受精コーディネーターや看護婦、エンブリオロジスト、カウンセラー等）による話し合いによってチーム内で統一した医療目標の設定を個々の患者に対して行ない、治療計画、その結果と説明、患者の理解度・満足度を治療のタイムスケジュールに沿って記録、評価できるようにした。これを当院不妊外来に導入し、その有効性を検討した。【結果・考察】クリニカルパスの作成により、患者に対するチーム内でのコンセンサスが得られた。また、外来診療内への導入により、実施されなければならない医療ケア項目が誰が見ても明確となったため、キャリア差による抜け落ちがなくなり質の均一化を図ることができた。患者に対しても、初診時や治療方針変更時など、患者用クリニカルパスを用いて説明することにより、治療に対する患者の理解度やインフォームドコンセントに対する満足度が高まった。今後さらにこのクリニカルパスの活用、改良により、より質の高いケアの提供を図れるよう検討していくつもりである。

UP-116

抗うつ剤SSRI内服が著効した、早漏を主要因とする
不妊カップルの一例

両津市民病院産婦人科 ○加藤 龍太

【緒言】抗うつ剤 Fluvoxamine は、シナプス間隙において選択的にセロトニン再取り込みを阻害する（SSRI）ことでその薬理作用をもたらすが、副作用としてしばしば射精遅延・性欲減退・勃起障害などの性機能障害を及ぼすことが報告されている。今回、その射精遅延作用に着目し、早漏が主要因と考えられた不妊カップルに適用したところ著明な効果が得られ、妊娠成立に有用だったと考えられたのでその臨床経過を報告する。

【症例】夫 34 才、妻 27 才。互いに初婚であり、妻に妊娠経験はない。結婚後 2 年経過したが、夫の早漏（膣へ挿入する直前に射精してしまう）のために性交が不成立に終わる事態が続いており、精査ならびに挙児希望を主訴として当科を受診された。早漏のきっかけ等は明らかではなく、またペニス・陰囊・前立腺の局所所見・基礎ホルモン値および精液性状は正常であり、体調不良・易疲労感・性欲減退およびストレス等は自覚していなかった。

カウンセリングではその原因を明確に出来なかったが、夫婦ともに性交に対しては積極的であり、挙児希望も強かった。薬物療法としてまず Diazepam・補中益気湯を 2 ヶ月間試みたが効果は得られなかったため、夫妻の同意を得て Fluvoxamine 25mg/日を処方したところ内服 5 日目に膣内挿入および射精が可能となった。同周期に妊娠が成立し、現在まで順調に経過している。本剤内服に伴う副作用は認められなかった。

UP-117

KAL遺伝子異常を認めたKallmann症候群の兄弟例

東京大学医学部泌尿器科学教室 ○高橋さゆり, 箕和田 滋, 北村 唯一
 国立小児病院小児医療研究センター 佐藤 直子, 勝又 規行, 田中 敏章

症例1 兄 25歳男性、46XY。生後4ヵ月で嚢胞性腎形成異常のため右腎摘除術、両側停留精巣のため3歳時左精巣固定術、右精巣摘除術を受けた。低ゴナドトロピン性精巣機能不全症、嗅覚脱失のためKallmann症候群と診断された。17歳時よりゴナドトロピン補充療法を行うも十分な効果が得られず24歳時よりテストステロン補充療法に変更された。

症例2 弟 24歳男性、46XY。6歳時両側停留精巣にて固定術を受けた。兄同様の精巣機能不全症を認めた。思春期以降うつ病を発症し加療中である。23歳時よりテストステロン補充療法を行っている。

KAL遺伝子はXp22,3に位置し14個のexonからなる。Kallmann症候群の診断されたものの多くで様々な遺伝子異常が報告されている。今年3月インフォームド・コンセントを得て遺伝子検索を行ったところ兄弟ともにKAL遺伝子のexon9 C1420がTに置換されアミノ酸発現はArginin424が終止コドンに変化していることが判明し、X連鎖性Kallmann症候群の家族内発生と考えられた。

UP-118

妊娠が成立した早発閉経の3例

北里大学医学部産婦人科 ○藤田 一博, 川内 博人, 石川 雅一
 中村 水緒, 西島 正博

早発閉経は生殖年齢にありながら、内分泌学的には閉経婦人と同様のhypergonadotropic hypogonadismの状態となるもので、その病因はいまだに解明されていない。本症は無月経患者の5~10%を占めるとされており、若年で挙児希望を有する例も少なくないが、排卵誘発治療には抵抗を示すことがほとんどである。今回われわれは、妊娠に至った早発閉経の3例を経験したので報告する。

症例1は27歳、0経妊0経産。数年前より20日周期の頻発月経となっていた。hypergonadotropic hypogonadismの状態であり、HRTを施行、その後自然排卵を認めたが、妊娠に至らず。Gn-RHa単独投与後に排卵が生ずる事が確認され、HRT施行後に再度Gn-RHaを開始すべく投与したエストロゲン服用中に排卵し、妊娠が成立した。

症例2は30歳、0経妊0経産。月経は20歳頃までは整順であったが、以後月経不順、無月経をくり返していた。hMG療法には反応せず、HRTを施行していた。Gn-RHa単独投与後にBBTは2層性となったが、その後の試みではE2の上昇はみられなかった。以後HRTを継続していたところ、エストロゲンに続いてゲスターゲンを開始したところで排卵、妊娠が成立した。

症例3は30歳、1経妊1経産。第1子の妊娠は自然排卵によるものであった。分娩後より稀発月経となり28歳頃より第2度無月経のためHRTを施行していた。Gn-RHaの単独投与を行ったところ、中止後14日頃からE2の上昇、卵胞の発育がみられ、性交のタイミング指導を行い、妊娠が成立した。

以上、早発閉経例におけるホルモン補充療法中の妊娠例2例とGn-RHa単独投与後の妊娠例を報告する。

UP-119

不妊治療により子宮内外同時妊娠・流産となり、
その手術時に偶然見つかった卵巢悪性腫瘍の1例

県西部浜松医療センター産婦人科 ○中島 彰, 前田 真

排卵誘発による不妊治療と卵巢癌発生との関係は、近年重大な問題となっている。今回我々は、長期の排卵誘発後に妊娠が成立したが、子宮内・外同時妊娠、流産となり、その手術時に偶然、上皮性卵巢悪性腫瘍を発見した症例を経験したのでここに報告する。症例は、34歳、G1 P0。[redacted] 挙児希望で当院外来を初診。HSGでは卵管通過性に問題なかったが、精液検査では粘度強く、運動率、奇形率はそれぞれ60%、20%であったが、精子数の算定ができなかった。BBTで排卵障害を認めたため、LH-RH test、TRH test 施行したところ、LHの過乗反応を認めた。クロミッド(100mg/day)-hCG療法12コース施行し、その後自然排卵によるAIH3コース施行、さらにhMG-hCG-AIH療法2コース施行したところ妊娠が成立した(最終月経;平成11年3月4日~5日間)。妊娠6週で子宮内にGSおよびFHBを確認したが、妊娠8週時に嘔気・嘔吐・性器出血を主訴として来院、ショック症状を呈したため緊急入院となった。翌日、腹腔内出血および子宮内胎児死亡を確認したため、D&Cおよび左側卵管切除術施行し、子宮内と左側卵管内の双方にvilliを証明した。その際左側卵巢の一部に漿膜が欠損し腫瘍形成した部分があり生検したところ、病理結果がserous papillary adenocarcinomaと診断された。挙児希望が強く、また画像診断(CT・MRI・PET)すべてで残存病変を証明できず、術中の腹腔内細胞診がすべて陰性であることより、左側卵巢切除術のみ施行した。術後化学療法施行し、現在経過観察中であるが、再発徴候は認められていない。今後、本症例の経験を踏まえて、長期にわたる排卵誘発の際には、悪性腫瘍の発生も十分に考慮しなければならないと考えられた。

ランチョンセミナーのご案内

下記の日程および内容により、ランチョンセミナーを開催します。多数の先生方のご参加をお待ちしています。

参加費：無料（昼食を用意しております）

11月23日（木）

1) 「ART, 胚盤法培養により何が得られるか？」

日時：11月23日（木） 12：05～12：55

場所：国際会議場 第2会場（3F 国際会議室）

座長：永田行博（鹿児島大学医学部産婦人科教授）

演者：久保春海（東邦大学医学部第一産婦人科教授）

共催：日本不妊学会／日本オルガノン株式会社

2) 「ED (Erectile Dysfunction) 治療の実際」

日時：11月23日（木） 12：05～12：55

場所：国際会議場 第3会場（4F 401・402会議室）

座長：岡村 均（熊本大学医学部産婦人科教授）

演者：永尾光一（東邦大学医学部第一泌尿器科講師）

共催：日本不妊学会／ファイザー製薬株式会社

3) 「21世紀の性感染症(STD)を見据えて」

日時：11月23日（木） 12：05～12：55

場所：国際会議場 第4会場（5F 502会議室）

座長：川名 尚（帝京大学医学部溝口病院産婦人科教授）

演者：野口昌良（愛知医科大学産婦人科教授）

熊本悦明（札幌医科大学名誉教授）

共催：日本不妊学会／第一製薬株式会社

4) 「Premature Ovarian Failure の病態と治療」

日時：11月23日（木） 12：05～12：55

場所：国際会議場 第5会場（5F 501会議室）

座長：神崎秀陽（関西医科大学産婦人科教授）

演者：宮川勇生（大分医科大学産婦人科教授）

共催：日本不妊学会／武田薬品工業株式会社

11月24日(金)

5) 「レボピストを用いた超音波卵管疎通性の評価と不妊治療への応用」

日時：11月24日(金) 12:05~12:55

場所：国際会議場 第3会場(4F 401・402会議室)

座長：大野洋介(大野産婦人科院長)

演者：本田育子(順和会山王病院産婦人科部長)

共催：日本不妊学会／日本シェーリング株式会社

6) 「ゴナドトロピンの歴史と世界の不妊治療の今後」

日時：11月24日(金) 12:05~12:55

場所：国際会議場 第4会場(5F 502会議室)

座長：丸尾 猛(神戸大学医学部産婦人科教授)

演者：Bruno Lunenfeld (Professor and Faculty of Life Science, Bar-Ilan University)

共催：日本不妊学会／セローノ・ジャパン株式会社

7) 「GnRHaの基礎と臨床」

—低用量GnRHaにおける内分泌動態と内視鏡的にみた臨床効果—

日時：11月24日(金) 12:05~12:55

場所：国際会議場 第5会場(5F 501会議室)

座長：牧野恒久(東海大学医学部産婦人科教授)

演者：竹内裕之(順天堂大学医学部産婦人科講師)

共催：日本不妊学会／アベンティスファーマ株式会社

関連学会のお知らせ

Healthy Aging Projects for Women (HAP)発足のお知らせ

近年、医療関係者や一般の方々間で「女性とエイジング（加齢）」について高い関心が寄せられるようになってまいりました。それとともに「更年期」「閉経」に対するネガティブなイメージは払拭されつつあり、この時期が女性にとって重要な通過点と認識されるようになってきております。日本人女性の平均寿命は84歳に近づき、平均的な閉経年齢が50歳前後であることから、閉経以降の30余年、いわば人生の約1/3もの日々をどのように健康で過ごせるかは大変重要な課題であることに間違いありません。エストロゲンの長期的欠乏は、骨粗鬆症はもちろん、動脈硬化、脳卒中、アルツハイマー病の発症とも深く関わっていることが判明し、医学研究的にもますます注目されてきております。

海外ではエストロゲンに関する正しい知識を深めるための運動が積極的に推進されております。日本におきましても、以前よりエイジングやエストロゲンに関する研究や情報交換をより活発化させる必要性を痛感しておりましたが、このたび、Healthy Aging Projects for Women (HAP)を創設する運びとなりました。下記のような活動内容を柱として、専門領域を越えた情報提供、意見交換の場にしたいと考えておりますので、ぜひ本会にご入会くださいますようお願い申し上げます次第です。

HAP 理事長 麻生 武志

〈本会の主な活動内容〉

- 会報・年報の発行：エイジング（加齢）やエストロゲンの欠乏によって起こるさまざまな疾患・症状と、そのケア関連の情報提供を目的としたニュースレターの発行
- セミナー開催：医療関係者を対象としたセミナーや、一般市民の方々を対象とした専門家による公開セミナー等の開催
- キャンペーン実施：年度の研究活動の総括、ならびに社会に向けての提言として、毎年、「国際メノポーズ・デー」および「母の日」にちなんだキャンペーンの展開
- 調査研究：Woman's Health Careに関するテーマを設定し、研究および調査の実施
- ホームページ開設：より多くの方々へ HAP の活動内容や内外の学術的な情報の提供

■ 理事会

理事長：麻生 武志（日本更年期医学会理事長 / 東京医科歯科大学教授）

副理事長：太田 博明（東京女子医科大学教授）

理事：久保田俊郎（東京医科歯科大学助教授）

野崎 雅裕（九州大学助教授）

水沼 英樹（群馬大学助教授）

■ 顧問（50音順）

大内 尉義（東京大学教授）

大藏 健義（獨協医科大学越谷病院教授）

川野 雅資（三重県立看護大学教授）

武谷 雄二（東京大学教授）

中村 利孝（産業医科大学教授）

本庄 英雄（京都府立医科大学教授）

三羽 良枝（「メノポーズを考える会」代表）

■ HAPの事業目的

HAPは非営利団体です

- 女性のエイジング（加齢）とヘルスケアを、医療関係者と一般市民の方々が共に学び、共に考えていく。
- エストロゲン欠乏に伴うさまざまな疾患・症状に対する正しい理解を広める。
- HRT（ホルモン補充療法）の正しい情報収集と提供を行う。
- 女性のQOL向上のための研究と情報提供を行う。
- 上記テーマについて、医療機関や行政等に対する提言を行う。

■ 入会金：無料 年会費：5,000円

（入会いただいた方には、会報、年報、スライスキッド等の提供を予定しております。）

■ HAP事務局：東京都渋谷区渋谷2-5-3 伊賀第2ビル（〒150-0002）

Tel：03-5464-3360 Fax：03-5464-3359

E-mail: info@hap-fw.net website: <http://www.hap-fw.net>

※ HAPに関するお問合せは、上記の HAP 事務局へお願いします。

日本不妊学会雑誌

——総合目次——

第45巻 第1号

原 著

- 子宮内膜症による不妊患者に対する体外受精・胚移植時の GnRHa による前治療の有用性
..... 中川浩次・山野修司・中坂尚代
小松淳子・檜尾健二・青野敏博 1
- クラミジア感染に伴う卵管機能の変化：卵管通気波形の数値化による評価
..... 羽原俊宏・中塚幹也・木村吉宏
鎌田泰彦・高田雅代・浅桐和男
野口聡一・新谷恵司・工藤尚文 7
- 受精卵および桑実胚を培養して発生させたマウス胚盤胞の収縮運動（英文）
..... 新村末雄・若狭良子 13
- 体外成熟卵子に対する ICSI による受精率と胚の質に関する検討
..... 高橋和政・林 明美・鈴木香織
荒木康久・本山光博 19
- 卵管注入圧パターン解析による卵管機能評価法の基礎的検討
..... 可世木久幸・貝原賢二・松島 隆
石原楷輔・荒木 勤 25
- 簡易炭酸ガス培養器を用いた牛体外受精胚の作出
—陰圧気相条件が胚の発生におよぼす影響—
..... 董 雅娟・野田史子・音井威重・鈴木達行 31
- ヒト桑実期／胞胚期移植の臨床的検討
..... 安部裕司・中野由起子・渋谷幸裕・塩川素子
橋田 英・伊藤嘉奈子・中野英之・雀部 豊
池永秀幸・間崎和夫・菅 睦雄・久保春海
平川 舜・高梨安弘 37
- アザチオプリンによるラット Leydig 細胞障害に関する検討
..... 岩崎雅志・池原葉子・村上康一
水野一郎・永川 修・布施秀樹 43
- 症例報告
- 非モザイク型 Klinefelter 症候群男性の精液内精子を用いた ICSI による男児出産の 1 症例
..... 本田徹郎・玉井彦明・梅岡弘一郎・中堀 隆
高橋 晃・大久保和俊・小倉啓司・荒井陽一
磯崎八重子・高橋 司 49
- 幼児期の一侧停留精巣切除と対側のヘルニア手術に起因した閉塞性無精子症の一例
..... 湯村 寧・岩崎 皓・千葉喜美男
斎藤一隆・漆原正泰・広川 信 55
- 地方部会講演抄録 59

第45巻 第2号

原 著

ラットの実験的停留精巣における組織学的構築とクラスτεリン分布の変化	北村朋之, 麻生太行, 五十嵐 敦 渡辺政信, 石崎良太郎, 吉田英機 九島巳樹, 太田秀一	87
ヒト精子の運動能力と形態異常が IVF-ET における受精率および妊娠率に与える影響について	島田知代, 野尻恵子, 原田真木子 浜井晴喜, 加藤浩志, 半田雅文 小林真一郎, 磯島晋三	95
免疫抑制剤によるラット造精機能障害 —PCNA の免疫組織染色による検討—	岩崎雅志, 池原葉子, 村上康一 太田昌一郎, 永川 修, 布施秀樹	101
月経周期内におけるヒト生殖臓器でのラクトフェリンの局在 (英文)	矢内原 敦, 藤間芳郎, 齋藤 裕, 矢内原 巧	107
父親リンパ球移植は不育症 (反復流産) の女兒を救う (英文)	假野隆司, 古殿正子, 加納万里子 石井みさ子, 前田 豊, 植木 實	113
神経終末タンパク質 Amphiphysin I のヒト精巣における発現	渡部昌実	119
体外受精における卵胞液中各種 steroid 濃度比と卵胞径および embryo quality との関係	岩崎信爾, 田原隆三, 藤間芳郎 齋藤 裕, 矢内原 巧	127
hMG 製剤投与時の Adverse Effect に関する検討 —とくに皮膚症状について—	木下俊彦, 大高 究, 伊藤元博	133
不妊症患者の「不妊による悩み」の実態調査	渡辺利香, 後藤孝子, 倉橋千鶴美 指山実千代, 宇津宮隆史	137
閉塞性無精子症に対する精路再建術の成績: 全国多施設での調査報告	松田公志, 岩本晃明, 伊藤直樹 市川智彦, 宮地系典, 友政 宏 渡辺政信, 永尾光一, 岩崎 皓 天野俊康, 並木幹夫, 日比初紀 佐々木昌一, 奥野 博, 松宮清美 岡田 弘, 永井 敦, 徳永 葉 小倉啓司, 瀧原博史, 白石晃司 小松 潔, 江口二郎	143
子宮外妊娠における腹腔鏡下卵管線状切開術の有用性	佐藤雄一, 武内裕之, 桑原慶紀	151
症例報告		
潰瘍性大腸炎の男性不妊症患者におけるサラズスルファピリジンからメサラジンへの変更による造精機能の改善	鈴木啓悦, 小宮 顕, 清水亮行, 川名庸子 鈴木孝一, 市川智彦, 伊藤晴夫	157
地方部会講演抄録		161

第45巻 第3号

依 頼 稿

初期卵胞発育を考える ―卵細胞からのシグナル?―

..... 岡村 均 179

閉塞性無精子症の診断と治療:ART時代の再吻合術の意義

..... 松田公志 185

体細胞クローンと核の初期化

..... 黒坂 哲・今井 裕 191

原 著

多嚢胞性卵巣症候群患者における血清レプチンと卵胞液レプチンの比較検討

..... 結城広光・村上 節・渡辺 正
横溝 玲・岡村州博・矢嶋 聰 197

子宮内膜症に対する低用量ダナゾール長期治療の臨床効果と骨密度への影響

..... 安達知子・塩之入亜矢・斉藤理恵・太田博明 203

各種 hMG 製剤におけるゴナドトロピン組成とその臨床的意義

..... 合阪幸三・大岡史子・渡邊剛也・定月みゆき
梁 善光・貝原 学・森 宏之 211

非配偶者間人工授精により挙児に至った男性不妊患者の意識調査

..... 久慈直昭・堀井雅子・雨宮 香・高垣栄美
田中宏明・松田紀子・福地智恵
谷垣礼子・土屋慎一・浜谷敏生
小澤伸晃・末岡 浩・吉村 典 219

不妊治療後に発症した子宮外妊娠に関連する因子の検討

..... 斉藤正博・石原 理・五十嵐健治・林 直樹
田谷順子・堀籠邦子・竹田 省・木下勝之 227

人工精液瘤より採取した凍結精子を用いた卵細胞質内精子注入法 (英文)

..... 蔵本武志・Arief Boediono・杉岡美智代
梅林ツナ・福田貴美子・元石睦郎
小松 潔・瀧原博史・斎藤英和 233

精巣上体微小穿刺法;7年間の経験 (英文)

..... 日比初紀・深津英捷・浅田義正・山本雅憲 239

PCOS 症例に対するゴナドトロピン製剤初期投与量についての検討

..... 伊東宗毅・石原 理・斉藤正博
林 直樹・木下勝之 245

ラット精巣網液および精巣上体液中の2種のガラクトシルトランスフェラーゼ活性 (英文)

..... 飯田美登里・浦島 匡・松澤時弘 251

子宮腺筋症と子宮筋腫に対する GnRH agonist (GnRH-a) の縮小効果 (英文)

..... 福原正生・稲津哲子・丸山章子
渡辺良嗣・佐野正敏・中村元一 259

胚盤胞移植:妊娠率向上のための Key Point

..... 京野廣一・福永憲隆・千葉せつよ
佐藤智子・拝郷浩佑・松尾優子 265

Controlled Ovarian Hyperstimulation における GnRH agonist 徐放製剤の有用性について

..... 斉藤正博・石原 理・林 直樹・田谷順子
堀籠邦子・竹田 省・木下勝之 273

症例報告

Non-mosaic XYY 患者の精子を用いた ICSI による正常児分娩例 (英文)

..... 荒木康久・大野道子・本山光博・荒木重雄 279

低用量ピル服用中に末梢血管拡張と浮腫で投与中止に追い込まれた症例

..... 吉田耕治・倉橋敦也・石 明寛・柏村正道 285

地方部会講演抄録

..... 291

第45巻 第4号

依 頼 稿

機能性不妊症 その病態と対策 精子機能異常と機能性不妊

- 笠井 剛, 星 和彦, 平田修司, 小川恵吾
水野薫子, 永井聖一郎, 正田朋子, 内田雄三
大田昌治, 岩本豪紀, 山中智哉 311

卵・卵胞の発育からみた機能性不妊

- 齊藤隆和, 金子智子, 戸屋真由美
吉田雅人, 清野朝史, 高橋俊文
河内谷 敏, 齊藤英和, 廣井正彦 317

配偶子免疫と機能性不妊

- 繁田 実 323

機能性不妊症一病態とその対策一 着床率からみた機能性不妊治療の解析

- 松浦講平 327

男性不妊症における精索静脈瘤手術の意義

- 奥野 博, 中村英二郎, 大西裕之
七里泰正, 筧 善行, 小川 修 333

MESA, PESA, TESE の実際と医療連携

- 近藤宣幸, 島 博基 339

男性不妊 一産婦人科と泌尿器科の役割分担一

- 辰巳賢一, 渡辺政信, 金井裕子, 濱崎祐希
小山栄三郎, 坂本英雄, 吉田英機 343

原 著

ウサギ胎盤で発現する新規の塩基性タンパク質をコードする遺伝子 (英文)

- 宮本裕史, 松本和也, 細井美彦
佐伯和弘, 松代愛三, 入谷 明 347

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一

- 田原隆三, 藤間芳郎, 岩崎信爾
矢内原 敦, 小田 力, 矢内原 巧
岡井 崇, 九島巳樹 351

男性不妊症における医療連携

- 柳田 薫, 片寄治男, 矢澤浩之, 木村康之
林 章太郎, 佐藤 章, 鈴木孝行
萩原雅彦, 柳田知彦, 山口 脩 357

症例報告

交叉性精管精管吻合術後, 非吻合側造精機能障害精巣に発生した精巣腫瘍の1例

- 野澤英雄, 永尾光一, 原 啓
石井延久, 三浦一陽 363

Japanese Journal of Fertility and Sterility

CONTENTS

(Vol. 45, No. 1, 2000)

Originals

- Effectiveness of Pre-treatment with Gonadotropin-releasing Hormone Agonist to the Patients with Endometriosis in *in vitro* Fertilization and Embryo Transfer
..... K. Nakagawa, S. Yamano, H. Nakasaka
J. Komatsu, K. Hinokio & T. Aono 1
- Evaluation of Developing Damages in Fallopian Tubes Infected with Chlamydia Trachomatis : Analysis of Waveform in Tubal Insufflation
..... T. Habara, M. Nakatsuka, Y. Kimura
Y. Kamada, M. Takata, K. Asagiri
S. Noguchi, K. Shintani & T. Kudo 7
- Contractions of Mouse Blastocysts Cultured from Fertilized Ova or Morulae
..... S. Niimura & R. Wakasa 13
- Fertilization Rate and Embryo Quality of *in vitro* Matured Oocytes Treated by ICSI
..... K. Takahashi, A. Hayashi, K. Suzuki
Y. Araki & M. Motoyama 19
- Evaluation of Oviduct Function by Pattern Analysis of Intra-oviduct Injection
..... H. Kaseki, K. Kaibara, T. Matushima, K. Ishihara & T. Araki 25
- Production of Bovine IVF Embryos using Portable Carbon Dioxid Incubator
— Effect of Negative Air Pressure on Embryonic Development —
..... Y. J. Dong, N. Noda, T. Otoi & T. Suzuki 31
- Clinical Value of Human Morula / Blastocyst Transfer
Following *In-Vitro* Fertilization or Intracytoplasmic Sperm Injection
..... Y. Abe, Y. Nakano, Y. Shibui, M. Shiokawa
E. Hashida, K. Itoh, H. Nakano, Y. Sasabe
H. Ikenaga, K. Masaki, M. Suga, H. Kubo
S. Hirakawa & Y. Takanashi 37
- Analysis of Leydig Cell Dysfunction Caused by Azathioprine in Rats
..... M. Iwasaki, Y. Ikehara, K. Murakami,
I. Mizuno, O. Nagakawa & H. Fuse 43
- ### Case report
- Birth of a Male Baby after Intracytoplasmic Injection of Spermatozoa Obtained from a Nonmosaic Klinefelter Patient
..... T. Honda, H. Tamai, K. Umeoka, T. Nakahori
A. Takahashi, K. Okubo, K. Ogura, Y. Arai
Y. Isozaki & T. Takahashi 49
- Obstruction of Vas Deferens with "Single Testis" Due to Unilateral Orchiectomy and Contralateral Inguinal Herniorrhaphy in Childhood : A Case Report.
..... Y. Yumura, A. Iwasaki, K. Chiba
K. Saito, M. Urushibara & M. Hirokawa 55

Originals

- The Histological Changes and the Distribution of Clusterin in Experimental Cryptorchid Testes of Rats
..... T. Kitamura, T. Aso, A. Igarashi, M. Watanabe
R. Ishizaki, H. Yoshida, M. Kushima & H. Ota 87
- Influence of Human Sperm Motility Ability and Sperm Morphology on Fertilization Rate and Pregnancy Rate in Conventional IVF
..... T. Shimada, K. Nojiri, M. Harada, H. Hamai,
H. Katoh, M. Handa, S. Kobayashi & S. Isojima 95
- Quantitative Analysis of Rat Spermatogenic Injury by Immunosuppressive Drugs Using the Method of Proliferating Cell Nuclear Antigen
..... M. Iwasaki, Y. Ikehara, K. Murakami
S. Ohta, O. Nagakawa & H. Fuse 101
- Localization of Lactoferrin in Human Reproductive Tract During the Menstrual Cycle
..... A. Yanaihara, Y. Toma, H. Saito & T. Yanaihara 107
- Immunostimulation with Paternal Lymphocytes Saves Female Fetuses from Recurrent Abortion
..... T. Kano, M. Furudono, M. Kano
M. Ishii, Y. Maeda & M. Ueki 113
- Expression of Amphiphysin I, a Nerve Terminal-enriched Protein, in the Human Testis
..... M. Watanabe 119
- Correlation between Steroid Environment in Follicular Fluid, Follicular Diameter and Embryo Quality in *in vitro* Fertilization
..... S. Iwasaki, R. Tahara & Y. Toma
H. Saito, T. Yanaihara 127
- Adverse Effects of Injection Site with hMG
..... T. Kinoshita, K. Ootaka & M. Itou 133
- The Emotional Stress of Patients with Infertility Problems
..... R. Watanabe, T. Goto, C. Kurahashi
M. Sashiyama, T. Utsunomiya 137
- Outcome of Seminal Tract Reanastomosis for Obstructive Azoospermia:
A Multi-Institutional Study
..... T. Matsuda, T. Iwamoto, N. Ito, T. Ichikawa
K. Miyaji, H. Tomomasa, M. Watanabe, K. Nagao
A. Iwasaki, T. Amano, M. Namiki, H. Hibi
S. Sasaki, H. Okuno, K. Matsumiya, H. Okada
A. Nagai, Y. Tokunaga, K. Ogura, H. Takihara
K. Shiraishi, K. Komatsu & J. Eguchi 143
- Efficacy of Laparoscopic Linear Salpingotomy for Ectopic Pregnancies
..... Y. Sato, H. Takeuchi & Y. Kuwabara 151
- ## Case report
- Reversal of Male Infertility on Changing Treatment from Sulphasalazine to 5-aminosalicylic Acid in Ulcerative Colitis Patients: Report of Two cases
..... H. Suzuki, A. Komiya, A. Shimizu, Y. Kawana,
K. Suzuki, T. Ichikawa & Haruo Ito 157

Request paper

Insight into the Early Folliculogenesis — Signaling from Germ Cells? —

..... *H. Okamura* 179

Diagnosis and Treatment of Obstructive Azoospermia : Reanastomosis in the Era of Assisted Reproductive Technology

..... *T. Matsuda* 185

Cloned Animal from Somatic Cells and Nuclear Reprogramming in Nuclear Transferred Embryos

..... *S. Kurosaka & H. Imai* 191

Originals

A Comparative Study between Serum Leptin and Follicular Fluid Leptin Levels in Women with Polycystic Ovary Syndrome

..... *H. Yuki, T. Murakami, T. Watanabe
R. Yokomizo, K. Okamura & A. Yajima* 197

Clinical Effect and Change in Bone Mineral Density by Long-term, Low-dose Danazol in Women with Endometriosis

..... *T. Adachi, A. Shionoiri, R. Saito & H. Ohta* 203

Composition of Various Types of Commercial hMG (FSH) Preparations and Clinical Significance

..... *K. Aisaka, F. Ooka, T. Watanabe, M. Sadatsuki,
S. G. Liang, M. Kaibara & H. Mori* 211

Emotional Reaction of Male Partners to Donor-insemination Pregnancy

..... *N. Kuji, M. Horii, K. Amemiya, E. Takagaki
H. Tanaka, N. Matsuda, T. Fukuchi
R. Tanigaki, S. Tsuchiya, T. Hamatani
N. Ozawa, K. Sueoka & Y. Yoshimura* 219

The Analysis of Infertility Therapy-Induced Ectopic Pregnancy

..... *M. Saitoh, O. Ishihara, K. Igarashi, N. Hayashi
J. Taya, K. Horigome, S. Takeda & K. Kinoshita* 227

The Use of Frozen-thawed Spermatozoa Obtained from Alloplastic Spermatocoele for Intracytoplasmic Sperm Injection

..... *T. Kuramoto, A. Boediono, M. Sugioka
T. Umebayashi, K. Fukuda M. Motoishi
K. Komatsu, H. Takihara & H. Saitoh* 233

Epididymal Micropuncture; Our Experience During the Past Seven Years

..... *H. Hibi, H. Fukatsu, Y. Asada & M. Yamamoto* 239

The Comparison of the Initial Dose of Gonadotrophin in Ovulation Induction for the Patients with Polycystic Ovary Syndrome.

..... *M. Itoh, O. Ishihara, M. Saitoh
N. Hayashi & K. Kinoshita* 245

Two Kinds of Galactosyltransferases in Fluids from Rat Rete Testis and Epididymis

..... *M. Iida, T. Urashima & T. Matsuzawa* 251

Effects of Gonadotropin Releasing Hormone Agonist on Uterine Volume in Patients with Adenomyosis, Leiomyomata or Both

..... *M. Fukuhara, T. Inazu, A. Maruyama
Y. Watanabe, M. Sano & G. Nakamura* 259

Blastocyst Transfer(BT): The Key Point for Improving Pregnancy Rate

..... *K. Kyono, N. Fukunaga, S. Chiba
T. Sato, K. Haigou & Y. Matsuo* 265

Efficacy of Controlled Ovarian Hyperstimulation Using GnRH agonist Depot

..... *M. Saitoh, O. Ishihara, N. Hayashi, J. Taya
K. Horigome, S. Takeda & K. Kinoshita* 273

Case report

Birth of a Healthy Baby Following the Intracytoplasmic Injection of Ejaculated Spermatozoa from a Non-Mosaic XYY Patient

..... *Y. Araki, M. Ohno, M. Motoyama & S. Araki* 279

Report of a Case Discontinued the Administration of Low Dose Oral Contraceptive Pills because of Generalized Vascular Teleangiectasia and Edema

..... *K. Yoshida, A. Kurahashi, M. Seki & M. Kashimura* 285

Request paper

Assesment of Sperm Function

- *T. Kasai, K. Hoshi, S. Hirata, K. Ogawa*
K. Mizuno, S. Nagai, T. Shoda, Y. Uchida
S. Ohta, H. Iwamoto & T. Yamanaka 311

Clinical Significance of Varicocelectomy for Male Infertility

- *T. Saito, T. Kaneko, M. Toya*
M. Yoshida, T. Seino, T. Takahashi
S. Kawachiya, H. Saito & M. Hiroi 317

Gamete Immunity and Unexplained Infertility

- *M. Shigeta* 323

Analysis of the Treatment for Unexplained Infertility from the Viewpoint of the Implantation Rate

- *K. Matsuura* 327

Clinical Significance of Varicocelectomy for Male Infertility

- *H. Okuno, E. Nakamura, H. Onishi*
Y. Shichiri, Y. Takehi & O. Ogawa 333

MESA, PESA and TESE in the Co-working of Medical Care

- *N. Kondoh & H. Shima* 339

The Effects of the Tie-up between Gynecologists and Urologists in the Treatment of Male Infertility

- *K. Tatsumi, M. Watanabe, Y. Kanai, Y. Hamazaki*
E. Koyama, H. Sakamoto & H. Yoshida 343

Originals

Sequence of a cDNA Encoding a Novel Basic Protein Expressed in Rabbit Placenta

- *H. Miyamoto, K. Matsumoto, Y. Hosoi*
K. Saeki, A. Matsushiro & A. Iritani 347

The Role of Steroid Hormones and it's Receptors on Pathophysiological Mechanism of

- *Endometrium in Unexplained Infertility Women.*
R. Tahara, Y. Toma, S. Iwasaki, A. Yanaihara
C. Oda, T. Yanaihara, T. Okai & M. Kushima 351

The Co-working of Medical Care in Male Infertility

- *K. Yanagida, H. Katayose, H. Yazawa, Y. Kimura*
S. Hayashi, A. Sato, T. Suzuki
M. Ogiwara, T. Yanagida & O. Yamaguchi 357

Case report

A Case of Testicular Tumor Arising from the Dysfunctional Testis, Non-anastomosed

- *Side of a Crossed Vasovasostomy*
E. Nozawa, K. Nagao, H. Hara
N. Ishii & K. Miura 363

投稿規定

(2000年4月1日改定)

1. 本誌掲載の論文は、原則として会員のものに限る。
2. 投稿論文は、本会の目的に関連のある原著、総説、論説、臨床報告、その他で、他誌に未掲載のものに限る。
3. 臨床例（もしくは臨床材料）または動物を対象とした実験的研究においては倫理面を考慮すること。なお、被験者からインフォームド・コンセントを得た場合は論文内にその旨を記載する。
4. 投稿論文は編集委員会が依頼する複数の審査委員の審査を受け、採否、掲載順位、その他の編集に関する事項は編集会議でこれを決定する。掲載は原則として受理順とする。
5. 1論文は、原則として刷り上がり6ページ以内とし、超過は4ページ（計10ページ）までを認める。なお超過ページならびに費用を要する図、表、写真、カラー印刷は実費を著者負担とする。
6. 投稿原稿はB5版横書き400字詰のものを使用し清書する。なお、ワープロ使用の場合もこれに準じ、文書フロッピー（MS-DOS、テキストファイル出力）を添付し、機種名とソフト名を明記する。原稿は原本1部に査読用コピー2部を添える。写真は原稿を含めて3部とする。
7. 原著、総説、論説、臨床報告などには、必ず600字以内の和文抄録ならびに、200words以内の各抄録（題名、著者名、所属を含む）を添付する。各抄録の下に和文ならびに英語5語以内のKey wordsを付記する。英文はあらかじめ専門家の校閲を受けておくこと。ただし編集委員会で校閲が必要と認めた場合は、その費用を著者負担とする。
8. 投稿原稿は表紙（題名、著者名、所属、住所、ランニングタイトルを和文ならびに英文で明記）、英文抄録、和文抄録、本文（緒言、対象/材料および方法、結果、考察、引用文献）の順に並べ、図表ならびに写真は稿末に一括してまとめ、符号を記入し、かつ本文中に挿入すべき位置を明示する。ランニングタイトルは和文で25字以内、英文で40letters以内とする。
9. 記述は和文または英文とし、和文は横書き、口語体、平かなを用い、現代かなづかいによる。
10. 海外の人名、地名などは原語、数字は算用数字とする。学術用語および諸単位は、それぞれの関連学会用語集に従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
11. 文献は次の形式により、引用順に末尾に一括記載する。著者、編者名は3名までとし、以下は他（et al.）とする。

a) 雑誌の場合

著者名(年次) 題名. 誌名 巻数: 頁一頁 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巣刺激前ダナゾール投与の効果. 日不妊会誌 40: 104-109

b) 単行本の場合

著者名(年次) 題名. 書名. 編者名, 発行所, 発行地, pp頁一頁 とする。(英文の場合は編者名, 書名, の順)

英文例) Collins JA(1995) Unexplained infertility. In : Keye WR Jr.Chang RJ.Rebar RW, et al (eds), 1st ed, infertility: Evaluation and Treatment. WB Saunders Co, Philadelphia, pp249-262

和文例) 三浦一陽 (1994) 男性不妊症. アンドロロジーマニュアル. 白井将文編, 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) 〒102-0083

東京都千代田区麹町5-2 K-WING 3F
(株)MAコンベンションコンサルティング内
社団法人 日本不妊学会
TEL 03-3288-7266
FAX 03-5275-1192

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きを取ってください。

連絡先: 代表者名:

連絡先住所 (郵便番号):

電話番号:

ファクシミリ番号:

編集後記

45巻4号(抄録号)を総会1カ月前に、会員の皆様のお手許にお届けすることができました。平成9年10月より12年3月まで旧学会事務局の事情により、投稿原稿の送付先が東邦大学産婦人科宛となり、会員の皆様に多大なご迷惑をお掛けしましたことをお詫び申し上げます。その間編集委員ならびに現印刷所パンメディアの横田氏の献身的なご協力を頂き、年間印刷費を極力低廉に押さえ、編集作業についてもきめこまかいサポートを下され、何とか43巻、44巻の通巻8号を発刊して参りました。本年4月よりMAコンベンションコンサルティングに事務局が依託され、編集作業も極めて順調に進行し始めました。投稿原稿数も増加傾向にありますので、小生は本抄録号の編集を最後に新編集委員長と交代致します。本誌の英文誌化への作業が、将来計画委員会矢内原巧委員長の基で積極的に進行中ですので、今後編集委員会の業務も益々繁忙を極めることとなりますが、会員の皆様におかれましても、インパクトファクターの獲得できる学会誌を目指し、多数の論文をご投稿下さいますようお願い申し上げます。ご多忙なスケジュールの中、編集作業にご協力を頂きました編集委員および本誌にご投稿を賜りました会員の皆様に篤く御礼を申し上げます。

(編集委員長 平川 舜)

編集委員

平川 舜(委員長)

味 香 勝 也
石 塚 文 平
押 尾 茂
百目鬼 郁 夫

安 部 裕 司
岩 本 晃 明
末 岡 浩
永 尾 光 一

石 川 博 通
遠 藤 克
田 原 隆 三
三 浦 一 陽

Editorial Board

Shun HIRAKAWA (Editor-in-Chief)

Katsuya AJIKA
Bunpei ISHIZUKA
Shigeru OSHIO
Ikuo DOUMEKI

Yuji ABE
Teruaki IWAMOTO
Kou SUEOKA
Koichi NAGAO

Hiromichi ISHIKAWA
Tuyoshi ENDO
Ryuzo TAHARA
Kazukiyo MIURA

日本不妊学会雑誌 第45巻第4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 5-2 K-WING 3F
(株)MAコンベンションコンサルティング内
TEL (03) 3288-7266
FAX (03) 5275-1192
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
E-mail pan@panmedia.co.jp

2000年9月25日印刷
2000年10月1日発行

45 卷 4 号に関する訂正とお詫び

45 卷 4 号（2000 年 10 月発行）7 頁論文の英文タイトルおよび英文目次につきまして誤りがございました。下記のとおり訂正ならびにお詫び申し上げます。

山形大学産婦人科学 齊藤隆和他著
「卵・卵胞の発育からみた機能性不妊」

（誤） Clinical Significance of Varicocelectomy for Male Infertility



（正）

目次 Unexplained Infertility Evaluated with the Development of Oocytes and Follicles

7 頁 Unexplained Infertility Evaluated with the
Development of Oocytes and Follicles