

ISSN 0029-0629 CODEN:NFGZAD

Japanese Journal of Fertility and Sterility

日本不妊学会雑誌



Vol.46 No.1 January 2001
第46卷 第1号 平成13年1月1日

Jpn. J. Fertil. Steril. / 日不妊会誌

第46回日本不妊学会総会および学術講演会 (第2回予告)

下記により第46回日本不妊学会総会および学術講演会を開催いたしますので多数の方々をご参加下さいますようお願い申し上げます。

- I. 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

- II. 会 場：京王プラザホテル
〒160-8330 東京都西新宿2-2-1
TEL: 03-3344-0111

III. 学術講演会予告： 招請講演

- 1) Stimulation protocols for IVF: GnRH agonists vs antagonists

演者：Suheil J. Muasher, M.D.

(Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Eastern Virginia Medical School, Norfolk, U.S.A.)

座長：青野 敏博 (徳島大学医学部産婦人科教授)

- 2) IGF and reproduction

演者：Linda C. Giudice, M.D.

(Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Center for Research on Women's Health and Reproductive Medicine, Stanford University School of Medicine, Stanford, U.S.A.)

座長：岩下 光利 (杏林大学医学部産婦人科教授)

- 3) The current status of ART in Taiwan

演者：黄 國恩 (長庚大学婦産科教授, 高雄, 中華民國(台湾))

座長：玉舎 輝彦 (岐阜大学医学部産婦人科教授)

特別講演

脳死出産におもう

演者：竹内 一夫 (杏林大学名誉教授)

座長：飯塚 理八 (慶應義塾大学名誉教授)

教育講演

1) 勃起障害

演者：石井 延久（東邦大学医学部第1泌尿器科教授）

座長：奥山 明彦（大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科教授）

2) 卵巣に発現誘導される分化関連物質とその生理的意義

演者：藤原 浩（京都大学大学院医学研究科産婦人科講師）

座長：石川 睦男（旭川医科大学産婦人科教授）

3) 精子の受精能について

演者：平田 修司（山梨医科大学産婦人科講師）

座長：永田 行博（鹿児島大学医学部産婦人科教授）

4) 卵成熟と着床におけるプロラクチンの生理学的意義

演者：神野 正雄（杏林大学医学部産婦人科助教授）

座長：星合 昊（近畿大学医学部産婦人科教授）

シンポジウム

1. 着床現象を司る役者たち

座長：神崎 秀陽（関西医科大学産婦人科教授）

演者：

1) 子宮内膜とシグナル分子

丸山 哲夫（慶應義塾大学医学部産婦人科助手）

2) 着床期子宮内膜における活性酸素とその消去系

杉野 法広（山口大学医学部生殖・発達・感染医科学講師）

3) 着床期に誘導される子宮内膜—胚の相互作用関連物質の分子生物学的解析

巽 啓司（京都大学医学部婦人科産科助手）

4) 血管作動性生理活性物質と着床

久保田俊郎（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助教授）

5) 着床におけるインテグリンの生理学的意義

塩川 滋達（杏林大学医学部産婦人科講師）

2. 卵巣機能と局所生理活性物質

座長：堤 治（東京大学医学部附属病院分院産婦人科教授）

演者：

1) 黄体機能と局所循環の調節

大須賀 穰（東京大学医学部産婦人科助手）

2) HGF と卵巣機能

原田 省（鳥取大学医学部産婦人科講師）

3) 卵巣機能と VEGF

矢本 希夫（和歌山県立医科大学産婦人科助教授）

4) ゴナドトロピンレセプターの発現調節に関する局所因子

中村 和人 (群馬大学医学部産婦人科助手)

5) IGF-IGFBP と卵胞発育

安藤 索 (杏林大学医学部産婦人科講師)

ワークショップ

1. 不妊カウンセリング —ケアの医療学—

座長：佐藤 孝道 (虎ノ門病院産婦人科部長 (4月より聖路加国際病院産婦人科部長))

演者：

1) 不妊心理とカウンセリング

赤城 恵子 (日本家族計画協会リプロ・ヘルス推進事業本部カウンセラー)

2) カウンセリングと「認知」への働きかけ

大野 裕 (慶應義塾大学医学部精神神経科講師)

3) チーム医療としての不妊治療

福田貴美子 (蔵本ウィメンズクリニック婦長)

4) エンブリオロジストの立場から

荒木 康久 (高度生殖医療技術研究所所長)

2. ICSI と精子形成の分子生物学

座長：伊藤 晴夫 (千葉大学医学部泌尿器科教授)

三浦 一陽 (東邦大学医学部第1泌尿器科教授)

演者：

1) 男性不妊における ICSI の役割

吉田 淳 (東邦大学医学部第1泌尿器科講師)

2) 造精機能にかかわる遺伝子

鈴木 啓悦 (千葉大学医学部泌尿器科助手)

3) 精細胞特異発現遺伝子と ICSI

松宮 清美 (大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科講師)

4) クラインフェルター症候群に対する TESE・ICSI

山本 泰久 (鳥取大学医学部泌尿器科助手)

5) 先天性両側精管欠損症患者に対する ICSI の問題点

岡田 弘 (神戸大学医学部泌尿器科講師)

3. 家畜繁殖分野での最近の話題

座長：入谷 明 (近畿大学生物理工学部学部長)

演者：

1) 霊長類での顕微受精

細井 美彦 (近畿大学生物理工学部遺伝子工学科助教授)

2) 卵母細胞の体外発育—体外成熟

宮野 隆 (神戸大学農学部応用動物学科助教授)

3) 卵細胞と初期胚の凍結保存

葛西孫三郎（高知大学農学部生物資源科学科教授）

4) ウシにおける体細胞クローニングのめざすもの

今井 裕（京都大学大学院農学研究科動物生殖生理学教授）

IV. 一般演題

今年度よりインターネットを利用したオンラインによる演題応募のみといたします。詳細は次号にてお知らせします。

第46回学術講演会のホームページを3月中旬より開設する予定です。

—第46回日本不妊学会総会および学術講演会ホームページ URL—

<http://funin46.umin.ac.jp/>

<http://square.umin.ac.jp/funin46>

演題申込み資格

講演者（共同発表者を含む）は本学会会員に限ります。会員以外の方は演題申込みと同時に、2001年度会費（8,000円）を納入の上会員になって下さい。

演題発表形式

口演発表のみといたします。

なお、演題の採否、分類の決定は会長に御一任下さい。

V. 参加申込方法

学会当日会場にて受け付けます。

学会参加費：10,000円

懇親会費：6,000円

総懇親会は学術講演会初日の11月8日（木）に京王プラザホテルで行います。是非御出席下さい。

連絡先：〒181-8611 東京都三鷹市新川6-20-2

杏林大学医学部産婦人科教室内

第46回日本不妊学会事務局

TEL: 0422-47-5511（内線2608）

FAX: 0422-47-3177（直通）

平成13年1月1日

第46回日本不妊学会
会長 中村 幸雄

平成 12 年度第 2 回通常総会

平成 12 年度第 2 回通常総会は、下記の通り神戸市において開催され、森理事長を議長として各議案につき慎重審議の上採決を行った。

日 時 平成 12 年 11 月 23 日 (木) 14:00~14:40

場 所 神戸市：神戸国際会議場

開会当時の会員数 4,132 名 当日の出席会員数 2,155 名 (含委任状)

議 事

第 1 号案：平成 13 年度事業計画および予算案に関する件

定款第 36 条に定める平成 13 年度事業計画および予算案は、理事会、評議員会の原案通りとすることを全会一致にて承認した。

第 2 号案：役員改選の件

評議員会で承認された候補者につき審議の上、全会一致にて別記の通り次期理事 20 名、監事 3 名を選出した。

第 3 号案：名誉会員推薦の件

理事会および評議員会より推薦された別記 7 名につき審議の結果、全会一致にて名誉会員とすることを承認した。

第 4 号案：功労評議員推薦の件

理事会および評議員会より推薦された別記 16 名につき審議の結果、全会一致にて功労評議員とすることを承認した。

第 5 号案：平成 15 年度学術講演会および総会に関する件

平成 15 年度学術講演会および総会開催地ならびに会長は、理事会および評議員会の原案通り、下記の通り開催することを全会一致にて承認した。

平成 15 年度 担当支部 関東支部

会 長 伊藤 晴夫

開 催 地 千葉県

第 6 号案：日本不妊学会学術奨励賞に関する件

理事会および評議員会より推薦された下記 3 名に平成 12 年度日本不妊学会学術奨励賞を授与することを全会一致にて承認した。

新田 慎「不死化ヒト顆粒膜細胞株の樹立ならびにその細胞性格の検討」

(第 44 巻 1 号 47 頁)

橋場 剛士「着床前遺伝子診断のための簡便な DNA 抽出法の検討」

(第 44 巻 3 号 41 頁)

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

(第 44 巻 2 号 83 頁)

新名誉会員，功勞評議員および新役員について

平成12年11月23日開催された平成12年度第2回通常総会において7名の会員が新たに名誉会員として，また16名の会員が功勞評議員として推薦，承認された。

また役員(理事および監事)の改選が行われたので，11月24日臨時理事会を開き，互選により下記の通り理事長，副理事長，常任理事を選出するとともに，新評議員および幹事を選任した

名誉会員 張 潤錫 廣井 正彦 水口 弘司 豊田 裕 白井 將文 百目鬼郁男
森 崇英

理 事 理 事 長 伊藤 晴夫 (関東支部)
副 理 事 長 岡村 均 (九州支部)
" 守殿 貞夫 (関西支部)
" 武谷 雄二 (関東支部)
理事 (常任) 永田 行博 (九州支部)
" 久保 春海 (関東支部)
" 小林 俊文 (関東支部)
" 遠藤 克 (関東支部)
" 中村 幸雄 (関東支部)
理 事 石川 睦男 (北海道支部)
" 田中 俊誠 (東北支部)
" 三浦 一陽 (関東支部)
" 森澤 正昭 (関東支部)
" 水谷 栄彦 (中部支部)
" 鈴森 薫 (中部支部)
" 井上 正樹 (北陸支部)
" 野田 洋一 (関西支部)
" 今井 裕 (関西支部)
" 寺川 直樹 (中国・四国支部)
" 田中 啓幹 (中国・四国支部)
理事 (定員外) 玉舎 輝彦
監 事 毛利 秀雄 (関東支部)
" 佐藤 和雄 (関東支部)
" 平川 舜 (関東支部)

功勞評議員 雨宮 章 飯田 悦郎 伊吹 令人 岩田 嘉行 甲斐 祥生 風戸 貞之
加藤 廣英 金川 弘司 國本 恵吉 米谷 国男 中西 正美 成田 収
根岸 壮治 秦 喜八郎 林 方也 吉田 修

定款評議員

北海道支部

塚本 泰司 藤本征一郎

東北支部

折笠 精一 佐藤 英明 佐藤 章 村上 節

関東支部

麻生 武志 岩本 晃明 木下 勝之 佐藤 嘉兵 津端 捷夫 星 和彦
穂坂 正彦 横山 峯介 吉田 英機 吉村 泰典 矢内原 巧 牧野 恒久
岩下 光利 石塚 文平 森 宏之 田原 隆三 田辺 清男 安達 知子
堤 治 可世木久幸 押尾 茂

中部支部

川村 壽一 寺尾 俊彦 澤田 富夫 辻井 弘忠 豊田 長康 野口 昌良

北陸支部

並木 幹夫 布施 秀樹

関西支部

奥山 明彦 萩田 幸雄 神崎 秀陽 香山 浩二 澤田 勉 星合 昊
松田 公志 丸尾 猛

中国・四国支部

加藤 紘 相良 祐輔 竹中 生昌 丹羽 皓二 青野 敏博 大濱 紘三

九州支部

岩坂 剛 宮川 勇生 中村 元一 石丸 忠之 立山 浩道 金澤 浩二

なお、定款評議員上記 55 名については、平成 13 年 1 月 1 日より平成 13 年 12 月 31 日まで評議員を委嘱致します。また、支部評議員については次号に掲載致します。

幹 事

浅井 光興 安部 裕司 安藤 一道 安藤 索 石川 博通 石田 肇
石塚 文平 石原 理 市川 智彦 井上 善仁 苛原 稔 岩本 晃明
遠藤 俊明 岡田 弘 押尾 茂 齊藤 英和 柴原 浩章 生水真紀夫
末岡 浩 田原 隆三 堤 治 藤間 芳郎 永尾 光一 新村 末雄
藤原 浩 正橋 鉄夫 松浦 講平 南 直治郎 横山 峯介

会 告

平成 13 年度日本不妊学会学術奨励賞について

日本不妊学会雑誌第 45 巻 1~4 号に掲載された原著論文で、その筆頭著者が掲載時に満 45 歳以下である論文を対象に、平成 13 年度日本不妊学会学術奨励賞の推薦を受付けます。

推薦資格は、本学会理事、評議員、大学教授、学会誌レフリーに限り、所定の書式による推薦は平成 13 年 4 月末日まで受付けます。

予備選考委員会および選考委員会で推薦された論文の中から 3 編の授賞論文を決定します。授賞論文の筆頭著者には賞状と副賞として日本オルガノンより奨励金 50 万円を各々に授与します。

推薦は、次頁の所定の書式をご利用下さい。ご不明な点は、学会事務局へお問い合わせください。

〔推薦書締切日〕 平成 13 年 4 月 30 日（月）

〔推薦書送付先および問い合わせ先〕

社団法人日本不妊学会事務局

〒102-0083 東京都千代田区麹町 5-2 K-WING3F

TEL:03-3288-7266 FAX:03-5275-1192

e-mail: funin-g@vinet.or.jp

日本不妊学会学術奨励賞推薦書

日本不妊学会理事長 殿

下記の論文を日本不妊学会学術奨励賞に推薦いたします。
(論文名)

日本不妊学会雑誌 第45巻__号__～__頁 (平成12年__月)

(筆頭著者名)

(筆頭著者生年月日)

_____年__月__日

(推薦理由)

平成 年 月 日

推薦者所属・現職

氏名 _____

印 _____

会 告

Y染色体微少欠失を有する不妊患者に対する顕微授精について

近年、Y染色体長腕上のAZF領域における微少欠失(Y-microdeletion)が、重症造精機能障害男性に高頻度に認められることが明らかになる一方、これら患者でもその精子を用いた顕微授精(ICSI)により挙児可能となってきた。

さらに、最近、この種の変異遺伝子が次世代男児に伝達されるとの報告も散見されるので、出生児の将来の妊孕性に対する影響が懸念される。

本学会は、さきに「染色体や数異常や構造異常による男性不妊の精子の臨床応用について」(平成12年3月27日)を通して、染色体異常保有男性の精子を用いる顕微授精(ICSI)を実施する上での遺伝医学的、倫理的問題点について会員の注意を喚起してきた。Y染色体上の遺伝子異常を保有する造精機能障害患者の精子を用いる顕微授精(ICSI)施行に際しても、同様の留意と配慮が必要であるとの考えから、倫理委員会の議を経て、理事会において次の結論に達したので、ここに報告致します。

- (1) Y染色体上の微少欠失と造精機能障害との関連について十分に説明する。
- (2) このような精子を用いた顕微授精によって成立した妊娠では、出生児が男児の場合、同様の遺伝子異常が伝達される可能性があることを十分に説明する。
- (3) 遺伝カウンセラーを交えた説明や情報提供が望ましい。
- (4) 夫婦から文書によるインフォームドコンセントを得ておく。

平成12年9月26日

社団法人日本不妊学会

理事長 森 崇英

日本不妊学会雑誌

第46巻 第1号

平成13年1月1日

—目次—

依頼稿

不妊とコンサルテーション —臨床医の立場から—

.....中澤直子..... 1

不妊とコンサルテーション —看護の立場から—

.....有森直子・森 明子..... 7

ART 診療とコンサルテーションにおける IVF コーディネーターの必要性と

役割に関する研究

.....福田貴美子・井上尚美・松本典子
加島季世子・坂田由美子・中村 静
元石睦郎・蔵本武志..... 11

「不妊ホットライン」から見た不妊の当事者の悩みと医療への提言

.....北村邦夫..... 19

卵管機能とその異常 —感染症と卵管機能—

.....野口靖之..... 25

子宮内膜症と卵管機能

.....藤下 晃・北島道夫・竹ノ下由昌
宮村泰豪・蓮尾敦子・浜崎哲史
カレク・ネワズ・カーン・増崎英明・石丸忠之..... 31

卵管鏡による卵管機能の評価

.....末岡 浩..... 37

ART の最前線 —生殖医療における配偶子・受精卵診断—

.....雀部 豊..... 43

Nuclear Transplantation 技術の生殖医療への応用

.....竹内 巧..... 47

Cre-loxP system を用いた精巣に注入した外来遺伝子の解析

.....林 克彦..... 53

核移植を用いたヒト疾患モデル動物としてのトランスジェニックタプタの開発戦略

.....三好和睦・佐藤英明..... 59

原 著

ヒト胚盤胞の急速凍結法 (Vitrification) —生存率および妊娠率の検討—

.....佐藤節子・横田美賀子・横田英巳
荒木康久・横田佳昌..... 63

精子受精能と各種血中ホルモン値との関連性	香月孝史・原 鐵晃・大濱紘三 上田克憲・岡野真一郎	69
新 FSH 製剤「ヒュメゴン 100 単位」の臨床的有用性の検討	永吉 基・田中 温・栗田松一郎 馬渡善文・田中威づみ	79
症例報告		
子宮内膜の薄い症例に対するホルモン補充周期法による凍結胚移植後の妊娠例（英文）	竹内茂人・箕浦博之・川戸浩明 二村典孝・豊田長康	87
地方部会講演抄録		91

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 46, No. 1, 2001)

Japanese Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Request papers

- Consultation for Infertile Couples
.....*N. Nakazawa* 1
- Consultation of Infertility Nursing
.....*N. Arimori & A. Mori* 7
- Study on the Need and the Role of an IVF Coordinator for Consultation and
Treatment of ART Patients
.....*K. Fukuda, N. Inoue, N. Matsumoto,*
K. Kashima, Y. Sakata, S. Nakamura,
M. Motoishi & T. Kuramoto 11
- Infertile Couple's Worries on Hotline and Proposal to the Medical Staffs
.....*K. Kitamura* 19
- Tubal Dysfunction with Sexually Transmitted Disease
.....*Y. Noguchi* 25
- Tubal Assessment or Endometriosis
.....*A. Fujishita, M. Kitajima, Y. Takenoshita,*
Y. Miyamura, A. Hasuo, T. Hamasaki,
K.N. Khan, H. Masuzaki & T. Ishimaru 31
- Falloposcopic Evaluation for Tubal Function
.....*K. Sueoka* 37
- Genetic Diagnosis of Gametes and Embryos Resulting from ART
.....*Y. Sasabe* 43
- Germinal Vesicle Transplantation of Immature Human Oocytes
.....*T. Takeuchi* 47
- The Expression of Exogenous DNA Introduced into Testis in Embryos and Newborns
.....*K. Hayashi* 53
- Development of Transgenic Pigs for Animal Models of Human Diseases by
Nuclear Transfer Techniques
.....*K. Miyoshi & E. Sato* 59
- Originals**
- Survival and Pregnancy Rates Following Vitrification of Human Blastocysts
.....*S. Sato, M. Yokota, H. Yokota,*
Y. Araki & Y. Yokota 63
- Relationship between Sperm Fertilization Ability and Serum Hormone Levels
.....*T. Katsuki, T. Hara, K. Ohama,*
K. Ueda & S. Okano 69

Clinical Evaluation of a New FSH Product of "Humegon 100 Unit"

.....*M. Nagayoshi, A. Tanaka, S. Awata,
Y. Mawatari & I. Tanaka*..... 79

Case report

Establishment of a Successful Pregnancy Following Frozen-thawed Embryo Transfer
after Exogenous Hormonal Replacement Therapy with GnRH α for a
Woman with a thin Endometrium

.....*S. Takeuchi, H. Minoura, H. Kawato,
N. Futamura & N. Toyoda*..... 87

不妊とコンサルテーション —臨床医の立場から—

Consultation for Infertile Couples

中澤直子

Naoko NAKAZAWA

東京厚生年金病院産婦人科

Department of Obstetrics and Gynecology,

Tokyo Koseinenkin Hospital, Tokyo 162-8543, Japan

1. はじめに

産婦人科における不妊治療の分野は、1978年の体外受精の成功を発端として、この20年余りの間に、急速な技術的進歩を遂げてきたが、そこに付随する、個々の患者の心理社会的問題に対する援助は、いまだ十分に行われているとは言えない。ことに我が国は、欧米諸国との比較でも、体制づくりの面で、かなり立ち遅れていると思われる。

不妊と心理的問題との関連性自体は、かなり以前から、内外において研究されていたが、今ほど不妊の原因が究明されていなかった20数年前には、心理的要因が引き起こす不妊すなわち心因性不妊が、研究の中心であった。一方、現在では、その頻度は数%程度であろうとされ、逆に、不妊であること及びその治療そのものが大きな精神的ストレスの要因となっていることが問題にされてきている。

また、近年、不妊の原因は女性因子と男性因子とがほぼ半々であることがわかってきているが、にもかかわらず、いまだに、女性のほうが男性よりも、不妊によって精神的苦痛を強く感じ、社会への不適応を起しやすい状況にある。これは、男性の感じるストレスの多くが、外から受けるものではなく、自尊心の喪失など自分の中に生じる感情によるものであるのに対し、女性の場合は、『母親となることこそが女性の役割であり価値である』といった伝統的な考え方がいまだに根強くあること、また、『不妊は女性側の問題である』という神話が作られてしまっていること、などにより、自己の内面から生じる感情に加えて、親族や社会から、非常に大きな圧力を受けるためと考えられる。さらに、実際の検査や治療において、女性側の負担の方がはる

かに大きいことも事実である。

そこで今回は、産婦人科医という立場から、主に女性側の心理社会的問題とコンサルテーションの必要性について、東京大学医学部付属病院の産婦人科不妊専門外来にて平成6年度以降に行ったいくつかのアンケートおよび聞き取り調査をもとに、その現状を考察してみたいと思う。

2. 女性側の心理社会的ストレスと背景因子

不妊外来に通う女性の心理社会的ストレスは、大別すると、『自己の意識の中から生じるストレス』『家族・社会との関わり合いで生じるストレス』『検査・治療に関するストレス』という3つの側面が重なり合った状態と考えられる。また、その背景には、『結婚したら、子供を産み、家を存続させるのが、女性として当然の役割である』といった日本的な価値観が、いまだかなりの直接あるいは間接的圧力を及ぼしている様子が、調査結果からも推測された。さらに、近年のIVF-ETをはじめとしたAssisted Reproductive Technology (以下ART)の進歩は、治療の多様化、長期化をもたらすことによって、検査・治療自体によるストレスを増幅させるのみならず、心理的ストレス全体を複雑化させていると思われた(図1)。

3. 不妊外来に通う女性の心理的特徴

1) 孤立感

家族・社会との関わりや自己意識という観点から見ると、不妊外来に通う女性は、非常に孤立感が強い。夫の両親や親戚からの有言、無言の圧力を感じている例は多く、「自分の方から離婚を考えたことがある」とする女性が、聞き取り調査でも数例みられた。多くの

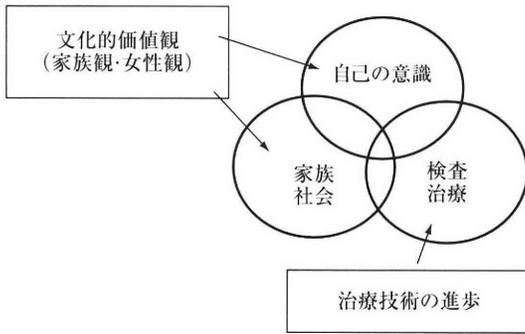


図1 女性側の心理社会的ストレスと背景因子

場合、夫の態度は、不妊治療が長くなるにつれて妻に対し協力的となる傾向がみられるが、中には、「子供が出来なければ離婚だ」と夫から直接言われている女性や、実際に離婚に至ったケースもみられた。また、家族が協力的であっても、女性自らがひげめを感じてしまったり、母親からの支援も、「そっとしておこう」といった消極的なものである場合が多い。また、子供のいる近所の家庭や友人とは、「会いたくない」「仲間に入れない」「話してもわかってもらえない」などの気持ちから、疎遠になりがちであり、一方、他人からは、「子供はまだなの？」というような無神経な問いかけをされたり、「あの女性は子供がいなくてヒステリックなのだ」とか「考え方が片寄っているのだ」といったような、いわれのない中傷を受けている例がかなり多くみられる。

さらに治療現場でも、待合室で妊婦や子供のいる女性に混ざって孤立した状況におかれ、妊婦における保健指導のような場さえ確立されていない。医師も看護婦も、治療や処置自体に追われて、患者の話をじっくり聞いている暇は無い、というのが現実である。外来で、医師に十分話ができているという女性は、約2割しかおらず、話ができない理由としては、「あわただし」「自分自身にためらいがある」「周囲に聞こえてしまいそう」というものが多く、また、「こんなつまらないことを聞いてよいものか」と思うと聞きづらい」「担当医がそのつど入れ替わるので打ち解けることが出来ないし、自分の治療内容や事情が把握されていないように感じる」というものもあった。また、「医師の思いやりの無い言動に傷ついた」として心を閉ざしてしまっているものもみられた。おそらく医師の側からすれば、何気なく無意識に発した一言であっても、不妊で追い詰められた心理状況の中では、そのひとつひとつが大

きな影響力をもつのだということ、私たちはもう少し認識すべきではないかと思う。

2) 心理的葛藤

こうした状況の中で、不妊外来に通う女性は、常に心理的葛藤状態に置かれていることが、調査からもうかがわれる。すなわち、治療結果に対し、不安に駆られながらも一方で期待感を募らせていたり、どうやっても子供が欲しいと思う一方で、検査・治療から逃げ出したいと感じたり、あるいは、本当に妊娠したり子供ができたりしたらさぞかし大変だろうと悩んでしまう、また、子供のいない人生が、とても寂しく不幸に思える時とそれなりに自由で楽しいかもしれないと思える時がある、といった状態である。

4. 治療技術の進歩がもたらした弊害

不妊外来での無作為なアンケートおよび聞き取り調査(一般不妊治療とARTが約半数ずつ)によれば、検査・治療に関するストレスの具体的な内容として、「検査・治療の肉体的苦痛や、婦人科的処置への抵抗感を強く感じる」、また「時間的、経済的負担が大きい、特に、仕事との両立ができなくなった」とする女性は多く、体外受精などのARTを受けている場合には、保険適用の枠を広げて欲しいという具体的な要望が大変多くみられた。また、「治療のことが常に頭を離れない」「自分の体を管理されているような感じがする」「治療のたびごとに、結果への期待・不安と、妊娠不成立とわかった時の失望感とを繰り返す」「治療期間の見通しが立たず毎日不安である」といった、治療によって常に気持ちが縛られている状態がみられる。さらに、「治療の副作用や児への影響を心配」する気持ちや、治療上の指示が守れなかったり、治療が失敗に終わったりした場合に、「医師に対して」申し訳なさを感じてしまうという、主体の逆転した現象もみられる。また、夜の夫婦生活については、治療前に比べて、回数が有意に減少すると同時に、明らかに義務感が増し充足感が低下している傾向がみられる。

一方で、望んでいる治療段階については、大学の不妊外来に通う女性に関して言えば、大半が体外受精あるいは顕微授精以上であり、それ以上の、代理母や卵子・精子の提供といった段階まで望む回答もみられて、新しい治療が開発あるいは認可されればされるだけ、患者側の欲求や期待感さらには大きく膨らんでいくであろうことが予想される。逆に、養子という選択については、90%以上が考えていない状況である(図

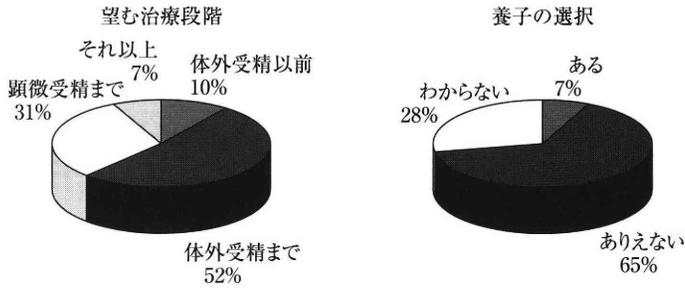


図 2 不妊外来通院中の女性が望む治療(n=29)

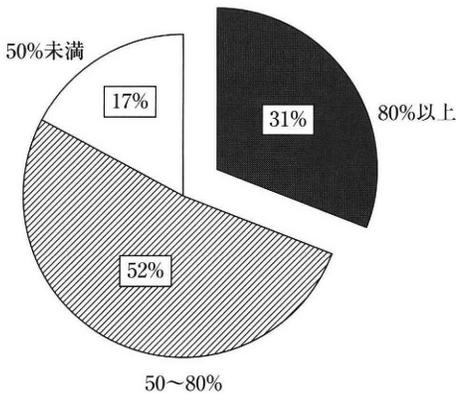


図 3 “子供が出来ないこと”が心の中を占めている割合 (n=42)

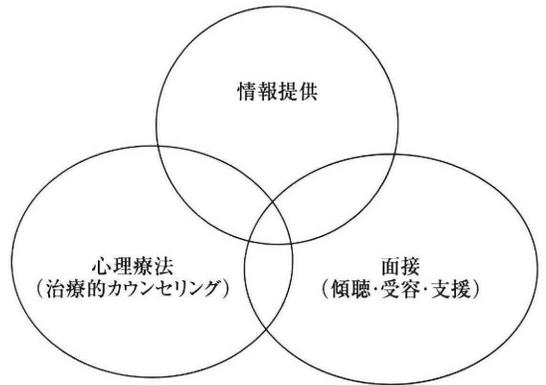


図 4 不妊のカウンセリング (コンサルテーション)

2).

また、‘子供ができないこと’は、現在心の中で何%を占めているか、との問いには、大半が50%以上、3割の女性が、80%以上を占めていると答えており、中には90%、100%という回答もみられて、本来の、「子供が好きだ」とか「子供を育ててみたい」といった素直な欲求以上の、「気持ちのとらわれ」があらわれているように思う(図3)。今は治療をやめているある女性が、治療中の自分を振り返って、「あのころは非常に追い詰められていて、‘子供、子供…’とまるで呪われているような状態で、本来の自分を見失っていたと思う」と述懐している。

以上のように、治療技術の進歩は、妊娠率の向上によって不妊の夫婦に大きな光明をもたらしていることも事実だが、その一方で、検査・治療によるストレスを増大させ、さらに、治療のレールに乗ってしまった患者が、不妊という問題についてのとらわれから抜け出せなくなるという、皮肉な状況を作り出しているこ

とになる。

5. 不妊のカウンセリング (コンサルテーション)

1) カウンセリングの必要性

従来の診療以外に、カウンセリングの場が必要だと思ふかとの間には、約7割の女性が‘必要’と答えている。具体的な内容としては、「検査や治療の説明を、もう少し早い時期から、詳細にして欲しい」、「周囲に話せない、あるいは理解してもらえない今の気持ちを、とにかく聞いて欲しい」という要望が多くみられた。また、たまたま不妊の仲間同士で気持ちや体験を話し合う機会があって、それによってとても安心できた、とする女性も多く、グループ交流や情報提供の場としての不妊教室などが提案された。

2) 不妊のカウンセリングの3要素

不妊のカウンセリングには、大きく分けると、図に示すような3つの要素が必要と思われる(図4)。まず、医学的な情報を中心に、経済的あるいは社会的なことをも含めて、正確な情報を提供すること、そのうえで、

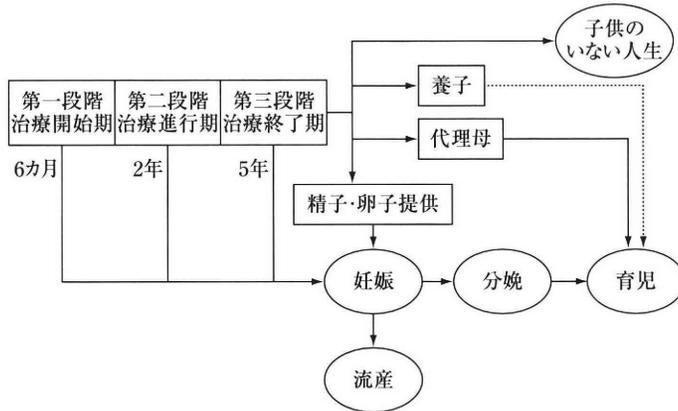


図5 不妊症の治療経過

クライアントの気持ちを、ありのままにじっくりと受け止めること、そして、症例によっては心理の専門家による治療的なカウンセリングも考慮していくことである。しかし、実際には、カウンセリングの必要性や問題点は個々の症例によって異なり、体系化することはかなり難しいと思われる。

3) 不妊期間別のカウンセリングモデル

イギリスの医師、Sue Craig は、不妊の期間によってカウンセリング内容が変化していくという観点から、段階別のカウンセリングモデルを提唱している。

第一段階は、不妊症ではないかと気づき始め、精査を受け、治療計画を立てていく時期で、子供をつくろうと思ってからおよそ6か月～2年ぐらいの間である。第二段階は、2年～5年ぐらいまでの間で、治療内容を選択・決定していく時期であり、様々な心理社会的問題に苦悩する時期でもある。第三段階は、5年以上を経て、すでにあらゆる治療を試み、妊娠の可能性が極めて少なくなった時期であり、子供がいない状況への適応や、妊娠問題との決別を迫られることになる。そして、それぞれの段階に応じた情報提供、面接内容、及び目標設定が必要であるとしている。

4) 治療終了段階のカウンセリングの重要性

不妊症の治療経過をまとめるとすれば、図5のようになり、現段階では、不妊症夫婦の約半数は「子供のいない人生」への選択を迫られるわけだが、この治療終了段階のカウンセリングが不十分となりやすいことは、諸家により指摘されている(図5)。

ARTを受けている女性(平均38歳、治療期間2年以上平均5年6か月、16人)だけに対象者を絞ったアンケートによれば、「子供という問題が心の中で占める

割合」は、当初、ほとんどが80%以上と非常に高い数字を示している。その割合は、治療を続ける中で徐々に低下する傾向がみられたが、一方で、「今、治療をやめたらどうなると思うか」との問いには、「気持ちの切り替えが出来るか心配、生きがいが見つかるか不安、負い目のようなものは残る、後悔しそうでやめられない、‘子供のいない生活’を受け入れられないのに治療をやめるなんて考えられない」など、半数の女性がネガティブな気持ちを抱いていた。望む治療段階も、ARTまでと割り切っていたが、もし可能ならば配偶子提供や代理母も考えたいとする希望が4分の1にみられた。中には、「代理母さえ認められていれば、今ごろ自分達も子供を授かっていたのに」と、悔しさを書き綴った回答もみられ、不妊女性の切実な感情を感じる反面、代理母や配偶子提供者側が抱えるであろう問題や社会への影響については何ら配慮している様子が見られないことに、いくばくかの不安を覚えた。

養子という選択が有り得るかどうかを、ARTを受けている女性(前述)と不妊外来への通院を既にやめた女性(通院終了時平均38歳、治療期間平均4年8か月、11人)に聞いたところ、治療中の女性は、「ありえない」に加えて「わからない」という回答が多く、養子のことまで考える気持ちのゆとりはない、あるいは、考えたくないといった様子がうかがえる。また、通院をやめた女性の中には、実際に養子を育てている方や、養子をもらおうとしたがなかなかもらえず諦めたという方もみられたが、やはり「ありえない」とする割合のほうが多く、養子を躊躇する理由としては、「自分達の遺伝子をもつ子供でなければ意味がない」「育児の大変さを考えると養子を自分の子と同じ愛情で育てる自信

がない]「親族との間で折り合いがつかない」という3つに分かれた。これには、日本人の民族的特色が強く影響していると思われる。しかし、見方を変えるならば、「親になる」ということの意味には、子供を「育てる」という過程も含まれているにもかかわらず、不妊女性の目的意識は「子供をつくる」こと自体に集中してしまっている傾向がうかがわれ、これは、不妊後の妊娠・育児の過程で目的を見失ってしまう女性がいることとも通じるところがあるように思われる。

さらに、ART 中の女性及び通院をやめた女性に、治療の見通しについて説明を受けているか、あるいは受けていたかについて聞いたところ、30% があまり受けていないと感じていた。通院をやめた経緯についても、医師と相談せずにやめたとする例が半数を上回っており、相談してやめた中で、終了時に精神的サポートを受けたと感じていたのは1例だけであった。また、相談せずにやめた中には、現在も他院で治療を続けているものが2例あった。

通院をやめたあとにカウンセリングを受けたかった、と答えたのは11名中2名だけだったが、通院をやめたあとの状況を見ると、「離婚した、義父母との関係がうまくいっていない、夫婦生活は全く無くなった、子供をもつ友人とは疎遠のままである、いまだに他人から誹ぼう中傷を受ける、本当に子供のいない一生でいいのか迷い続けている、将来への不安や恐怖にさいなまれている、流産したことが精神的痛手になっている」など、多くの問題点を残したままとなっている。

6. 心理社会的援助の体制づくり

1) 不妊の臨床の特殊性

以上のような状況の中で、臨床現場における心理社会的援助を難しくしている要因に、『不妊の臨床の特殊性』という問題があると思われる。すなわち、一つは、治療の進歩が逆にストレスやこだわりを強めてしまう傾向があるということである。そしてもう一つは、例えば悪性腫瘍の治療であれば、インフォームド・コンセントが重要なことになりはしないにしても、多くの場合、まずは根治に向けて医師も患者も共に全力を尽くし、根治が望めないとわかった時点で、延命治療や緩和ケアに方向転換しつつ患者が受容できるように援助していくことになるわけだが、不妊治療においては、どこまでがんばるか、いつまで続けるかは、最初からすべてその時々患者(クライアント)の「気持ち」を中心に決められまた変更されていかねばならな

表 1 不妊に対する心理社会的援助の体制づくり

[1] 医療従事者の認識を高めるための研修
[2] チーム医療によるカウンセリング 医師、看護婦、臨床心理士、ケースワーカー
[3] 治療終了期までを考慮に入れた段階的・長期的なカウンセリング計画
[4] グループ交流と情報提供の場 不妊教室 支援グループ(Support Group) 自助グループ(Self-Help Group)
[5] 医療環境への配慮 医療機関の選択 プライバシーの保護(診察室、採精室) 緊張が和らぐカウンセリング環境 ストレスからの隔離(妊婦、子供)

い。たとえ妊娠の確率がわずかであっても、‘それに賭けたい’という患者に対しては、なかなか治療の終了を説得しにくいのが現実と思われる。さらに、悪性腫瘍であれば、病院や家族が最後まで看取るか、もしくは長期間外来で定期観察をしていくことになるが、不妊は、治療をやめた時点で、あるいは妊娠して育児という段階になった時点で、突如として医師の手を離れてしまう。よって、不妊に対しては、社会全体が独自の援助体制を作っていく必要があると思われる。

2) 欧米における不妊カウンセリング

欧米諸国では、すでに様々な不妊カウンセリングの体制づくりが行われているが、カウンセリングの必要性が明確に指摘され始めたのは、いずれの国も、1970年代後半に体外受精の倫理問題が話し合われるようになってからである。イギリスやオーストラリアでは、生殖に関する法律の中でカウンセリングも法制化され、不妊カウンセリングの専門機関として、1980年代後半に BICA および ANZICA がつくられた。イギリスの大学には不妊カウンセリングの免許取得過程も設けられている。アメリカでは法制化の動きはなかったが、1970年代から心理的援助と教育の国家機関として RESOLVE がつくられ、また、不妊学会(すなわち現在の生殖医療学会)からガイドラインが出されるようになって、1985年には MHPG (Mental Health Professional Group) が設立された。また各国で、グループカウンセリングの場として、民間の Support Group や Self-Help Group が数多くつくられている。

3) 日本における体制づくり

我が国も、その状況に合った何らかの体制づくりを、

公に行っていくべきと考える。そのためには、まずは医療従事者が不妊患者の複雑な状況を認識する努力が必要であると思われるが、その上で、主治医を中心に、看護婦、臨床心理士、ケースワーカーなどが、分担し相補うかたちでチーム医療を行えるような環境が欲しいと思う。また、より具体的・段階的なカウンセリング指針、孤立感を和らげるための患者交流や情報交換の場、さらに医療環境への配慮が必要であろう(表1)。実際には、日本の医療の現状の中で、具体的な体制づくりを進めていくことは決して容易なことではないが、医療制度や保険制度自体の見直しも含め、早急に

考えていくべき課題の一つであろうと思う。

文 献

- 1) Burns LH, Covington SN, eds. (1999) Infertility Counselling. The Parthenon Publishing Group, New York, pp 1-630
- 2) Craig S (1990) A medical model for infertility counselling. Australian Family Physician 19 : 491-501
- 3) 森 恵美(1997) 不妊治療を受けている女性の精神的問題とケア. 心身医療 9:27-31

不妊とコンサルテーション —看護の立場から—

Consultation of Intertility Nursing

有森 直子

森 明子

Naoko ARIMORI

Akiko MORI

聖路加看護大学母性看護・助産学研究室

St. Luke's College of Nursing Women's Health & Midwifery, Tokyo 104-0044, Japan

1 はじめに

先端生殖補助技術はますます進歩しその適用が拡大されている。このような治療の進歩は患者とその家族に福音をもたらした一方で、診療の過程で患者とその家族に生じてくる身体的心理的社会的ストレスが今日問題となっている。このような問題を抱えている対象に対して、不妊治療の場で働く看護職者は十分に対応しているとは言いがたい。看護者が有効な手だてをもつに至らないでいる理由の一つとして、不妊の患者やその家族への看護の実態や看護職者自身が感じている臨床での問題が明らかにされていないことがあげられる。今回のワークショップでは、不妊治療を行っている全国150施設の看護婦・助産婦を対象に行った調査をもとに、①不妊の患者とその家族に提供されている看護の役割機能、②不妊看護を行う上でのストレスやジレンマ、③不妊看護の提供システムの現状を報告し、不妊患者やその家族へのコンサルテーションについて、また不妊医療チームの中における他専門職とのコンサルテーションについて考察を行いたい。

2 研究方法

さきほど述べた3つのことを明らかにするために2つの方法を用いた。まず、①不妊の患者とその家族に提供されている看護の役割機能（この質問紙は、海外の文献を参考にして研究者が一部修正を加えた。）と、②看護を行う上でのストレスやジレンマについては、不妊治療実施施設において不妊患者の看護に関わっている看護者を対象とした。調査を依頼する施設は、生殖医学登録参加実施施設一覧（日産婦誌48巻12号、1996年、pp1195-1196）および出産情報誌に掲載された不妊治療施設のリストを参照し、全国都道府県を網羅

するように若干の施設を加え病院および診療所264カ所を選択した。配布した質問紙は1,898部に及んだ。調査用紙は、責任者用調査票とスタッフ用調査票の2種類の自記式質問紙を用いた。③看護提供システムについては、質問紙調査の協力施設で承諾の得られた、主に看護部門の責任者に聞き取り調査を行った。分析方法としては、質問紙法の結果については基本統計と因子分析を行い、聞き取り調査の結果については内容分析を行った。

3 結果

1) 回収率と調査施設・看護職者の概要

264施設に配布した質問紙は150施設（有効回収率56.8%）から回答があった。対象となった施設は、病院がもっとも多く診療所がもっとも少なかった。不妊外来を設けている施設は67.8%と、設けていない施設よりも多かった。また不妊外来として開設していない施設でも、不妊患者に対して特別な日時や場所を設けて対応している施設もあった。治療方法は、配偶者間人工授精と排卵誘発剤の使用が90%以上の施設で行われていた（表1参照）。不妊患者への相談を行っている施設は68.7%あり、不妊患者のための入院設備をもつ施設も同じ割合であった。

次に、1,898部配布した看護スタッフへの質問紙は963部（回収率50.7%）であった。看護スタッフの背景については、平均年齢は、35.2歳（22～77, SD=9.1）。現在働いている職種は助産婦がもっとも多く、勤務場所は病棟の者が60%を越えていた。これまで受けた教育で不妊に関する内容が含まれていたと答えた人は約40%であった。卒業後の学習については、仲間内や自己学習という機会を30%の人が得ていた。

2) 不妊治療をうける患者・家族への看護の役割機能

表1 対象施設で行っている治療方法(複数回答可)

項目	n = 150	
	数	%
通気・通水法	132	88.0
排卵誘発剤	146	97.3
卵管形成術	74	49.3
人工授精(AIH)	147	98.0
人工授精(AID)	27	18.0
体外受精(IVF-ET)	110	73.3
顕微授精	66	44.0
GIFT法	47	31.3
男性不妊	88	58.7
その他	23	15.3

表2 看護の役割得点(11項目)

項目	平均得点	標準偏差
患者のリラックスをはかるための声かけ	3.1	0.7
パートナーの診察・検査における配慮	2.9	0.8
患者の人間関係についての相談	2.3	0.8
パートナーの生活についての相談	2.0	0.8
今後の行動選択についての相談	2.2	0.8
検査・治療による生活の制約について伝える	2.9	0.9
患者に代わって医師に話す	3.0	0.8
他の職種に看護の立場で意見を述べる	2.4	0.8
コメディカルと共に話し合いをもっている	2.1	0.8
自助グループや相談機関の紹介	1.7	0.8
看護に関する仲間との意見交換	2.4	0.8

この質問紙は11項目からなりその総合得点の平均点(得点範囲は11~44点)は27.2(SD5.9)ほぼ中央の値であった。4段階リッカートスケールで、もっとも得点が高かったものは、「患者のリラックスをはかるための声かけ」で、もっとも低かったのは、「自助グループや相談機関への紹介」であった(表2参照)。

看護の役割機能の総合得点は、入院設備のない方が、また、相談活動を行っている方が施設別、勤務部所いづれにおいても高かった。また看護者個人の特性との関連においては、「不妊に関する卒後教育の機会」のみに関連がみとめられた。

看護の役割機能は、因子分析の結果4つの因子に分かれた(表3参照)。第1因子「不妊患者の相談にのる因子」第2因子「不妊治療および医師と患者の間をつなぐ因子」第3因子「不妊患者に診療時の配慮をする因子」第4因子「不妊(治療)と関連する職種・機関と共同する因子」であった。因子別得点では、「不妊患者に診療時の配慮をする因子」がもっとも高く、「不妊(治療)と関連する職種・機関と共同する因子」がもっとも低い結果であった。

3) 看護者のストレス・ジレンマ

看護者が不妊患者の看護をする上で自覚するストレス・ジレンマについて、自由記述されたものを分析した結果、①「不妊治療の提供システムから派生すること」、②「チーム関係やメンバー役割から派生すること」、③「不妊看護に関すること」、④「看護者個人に関すること」、⑤「患者・家族との対人関係に関すること」の5つのカテゴリーに分類された。

4) 看護提供のシステム

不妊治療の場で提供されている看護やその環境について、7カ所の施設に聞き取り調査を行った。その結果、不妊治療が提供されている環境は、入院施設をもって体外受精・胚移植のようなART(Assisted Reproductive Technology)を行う施設もあればそうでない施設もあり、採卵後の胚を移植をする場所の状況等もさまざまであった。また患者からの相談への対応の仕方は3つのタイプがあった。すなわち医師に差し向ける「中継ぎ型」、気持ちや状況を受けとめる「ケア型」、検査・治療などに関する「説明型」であった。

4 考 察

1) 看護職による対象者へのコンサルテーション

今回の調査において、「不妊患者に診療時の配慮をする因子」がもっとも高い因子得点であった。リラックスできるように声をかけたり、カップルをケアの対象としてパートナーに配慮する姿勢は、「この人になら相談できそう」あるいは「相談したい」というコンサルテーションの前提ともいえる信頼関係の形成に大きく影響するだろう。その一方で、「患者の相談にのる」という因子得点は、「不妊患者に診療時の配慮をする因子」「不妊治療および医師と患者をつなぐ因子」よりも低い結果であった。看護者は、不妊患者とその家族に対して、診療時に配慮するというケアはできているが、相談にのるという役割には至っていない現状が明らかとなっ

表 3 看護の役割機能についての因子分析(バリマックス法回転後の因子負荷量)

因子名	変 数	因子 1	因子 2	因子 3	因子 4	共通性
第 1 因子：						
不妊患者の相談にのる						
	4 生活について相談にのる	0.818	0.196	0.240	0.096	0.775
	3 人間関係について相談にのる	0.742	0.262	0.268	0.114	0.704
	5 行動選択について相談にのる	0.713	0.350	0.254	0.123	0.710
第 2 因子：						
不妊治療および医師と患者の間をつなぐ						
	7 患者に代わって話す	0.138	0.732	0.289	0.176	0.670
	6 生活の制約について伝える	0.238	0.712	0.288	0.042	0.648
	8 看護の立場で意見を述べる	0.328	0.641	- 0.040	0.347	0.641
第 3 因子：						
不妊患者に診療時の配慮をする						
	1 リラックスできるように声かける	0.183	0.238	0.781	0.155	0.725
	2 パートナーに対して配慮している	0.364	0.123	0.703	0.105	0.653
第 4 因子：						
不妊(治療)と関連する職種・機関と共同する						
	11 看護の仲間と意見交換をする	0.025	0.201	0.326	0.793	0.777
	10 相談機関等を紹介する	0.575	0.067	0.026	0.611	0.709
	9 コメディカルと話し合いをもっている	0.322	0.506	- 0.012	0.576	0.692
因子寄与		2.512	2.057	1.574	1.561	
因子の寄与率(%)		22.833	18.701	14.309	14.188	
累積寄与率(%)		22.833	41.534	55.844	70.031	

た。また、不妊看護の提供システムはその診療形態など多様であった。「相談」のあり方も、「医師に差し向ける中継ぎ型」「気持ちを受けとめるケア型」「検査・治療についての説明型」と、その施設により異なっていた。

我が国の文化的背景や医療システムを考慮し、チーム医療の中での看護職の担う役割機能の一つであるコンサルテーションのあり方を探求することと合わせて、各々の施設の状況に合わせた看護職の役割機能のあり方を柔軟にアレンジすることがまさに重要であると思われる。

2) 看護職が必要とするコンサルテーション

Caplan によれば、コンサルテーションとは、「専門職である 2 人(コンサルタントとコンサルティアー)の間における交流である」と定義されている¹⁾。コンサルタントとは、卓越した能力を備えコンサルテーションを提供するものであり、コンサルティアーとは仕事に関

連する困難な問題をどのように扱うべきかについてコンサルタントを受けたいと自ら希望してコンサルテーションをうける者である。コンサルタントが行う援助には、その目的が何であるかによって、①コンサルティアーのもってきた事例の問題の解決を中心とするが、将来同じような事例に出会ったときより効果的なケアを行うことができるようになることまでをめざすコンサルテーション、②特定の事例のためのケアを行う際のコンサルティアーの欠点(知識や技術の不足、自信の喪失、専門職としての客観性の不足など)をコンサルタントが発見し、コンサルティアーがその欠点を克服し自身の力で問題を解決できるように援助するコンサルテーション、③プログラムを中心とした管理上のコンサルテーション、④コンサルティアーを中心に考えた管理上のコンサルテーションがある。

今回の調査では、看護職のもつストレス・ジレンマ

表4 不妊治療施設の看護者が自覚するストレス・ジレンマの内容

不妊治療の提供システムから派生する看護者の ストレス・ジレンマ
<ul style="list-style-type: none"> ・不妊治療の特性を踏まえない診療設備 ・妊産婦と不妊患者を同エリアで看護すること ・不妊患者プライバシー保護が守れない ・診療体制・治療方針に関する疑問 ・不妊患者の看護のために他業務への支障 ・接触そのものの短さ、場所がないために関わりがもてない ・多忙、マンパワー不足のために関わりがもてない
チーム関係やメンバー役割から派生する看護者のス トレス・ジレンマ
<ul style="list-style-type: none"> ・職種間の関係・連携の不足 ・不妊治療・医師と患者の間をつなぐ役割の不足 ・医師との関係の強さのために関わりにくい
不妊看護に関するストレス・ジレンマ
<ul style="list-style-type: none"> ・不妊患者の看護の重要度が下がる ・継続性のある看護の提供が困難であること ・関わりかた・関わる範囲がわからないために関わりにくい ・長期に渡り妊娠しない患者、妊娠することが不確かな患者、妊娠に失敗した患者、患者の治療継続(中断・中止)の意思決定、に対する看護の難しさ ・不妊患者の内面(心理面・精神面)の看護の難しさ ・不妊患者のケアの不確立感
看護者個人におけるストレス・ジレンマ
<ul style="list-style-type: none"> ・看護者の結婚・妊娠などの同性としての経験の相違 ・患者と看護者自身の価値観の違い ・看護者の学習・力量の不足感 ・患者の悩み・苦痛・負担に晒されていること ・不妊患者に対するネガティブな認知
患者・家族との対人関係におけるストレス・ジレンマ
<ul style="list-style-type: none"> ・患者の心理的特質のために関わりにくい ・夫と関わりをもつこと・家族関係への対応の難しさ ・不妊患者に対するネガティブな認知によるネガティブな対応

の内容が明らかとなった。そこで明らかとなった5つのカテゴリーは、上記のすべてのコンサルテーションを必要としているといえよう。まず不妊看護に関するストレス・ジレンマについては、事例についてのコンサルテーションを必要としていると思われる。また、不妊治療は、チーム医療であるという前提に立つと、不妊治療のプログラムやチームメンバーとの調整についても、コンサルテーションを必要としているといえよう。私たちが設立した不妊看護ネットワークは事例検討をおこなったり、ニュースレターを発行して互いの課題の解決に役立っている。

現在、EBN(Evidence based Nursing)に基づいて、コンサルテーション機能も含まれた不妊患者とその家族へのトータルな不妊看護のガイドラインの作成に着手している。

本研究は、平成9～11年度にわたる厚生科学研究費の補助を受けて行った研究の一部である。

文 献

- 1) 佐藤直子(1999)専門看護制度。理論と実践。医学書院、東京、p95

ART 診療とコンサルテーションにおける IVF コーディネーターの必要性和役割に関する研究

Study on the Need and the Role of an IVF Coordinator for
Consultation and Treatment of ART Patients

福 田 貴美子	井 上 尚 美	松 本 典 子
Kimiko FUKUDA	Naomi INOUE	Noriko MATSUMOTO
加 島 季世子	坂 田 由美子	中 村 静
Kiyoko KASHIMA	Yumiko SAKATA	Shizuka NAKAMURA
元 石 睦 郎	蔵 本 武 志	
Mutsuro MOTOISHI	Takeshi KURAMOTO	

蔵本ウイメンズクリニック

Kuramoto Women's Clinic,

Fukuoka 812-0012, Japan

ART を受ける患者のコンサルテーションの在り方を検討する目的で、本邦の ART 登録施設と当院で ART を受ける患者に対しアンケート調査を行なった。ART 登録施設に対する調査では、施設の規模や、年間採卵件数が増加するに従い患者への診療および説明時間は短縮され、コンサルテーションを医師 1 人が行なうことは困難となり、それをカバーする看護職の患者サポート体制も立ち遅れていることが示された。また、ART を受ける患者に対する調査では、最も多くの患者が妊娠について絶望的な思いを抱いており、通常の女性には見られない心理として劣等感や焦り、周囲からのプレッシャーが見られた。さらに、治療中に患者が抱く不安の多くは、妊娠の可能性と治療内容に関するものであることがわかった。

アンケート調査から得られた現在の診療体制と患者の心理状態の結果から示唆されたことは、患者が安心して治療を受けるには十分なコンサルテーションが必要とされ、著しく進歩する ART では患者への十分な説明とそれに対する納得がなければ多くの不安を抱えたまま治療が行なわれることになるということである。当院では 1995 年より患者サポートのために専門的な知識を持つ看護者を IVF コーディネーターとしてコンサルテーションの部門に配置し、治療中の患者の不安や悩みに対応する試みを行なった。その結果、88% の患者が IVF コーディネーターの存在により安心して不妊治療を受けることができたことと評価した。少子化の進む現在、患者が安心して不妊治療を受けるためには、今後 IVF コーディネーターが ART を実施する各施設において必要となってくると考える。

キーワード：IVF コーディネーター，ART，患者サポート，コンサルテーション，インフォームドコンセント

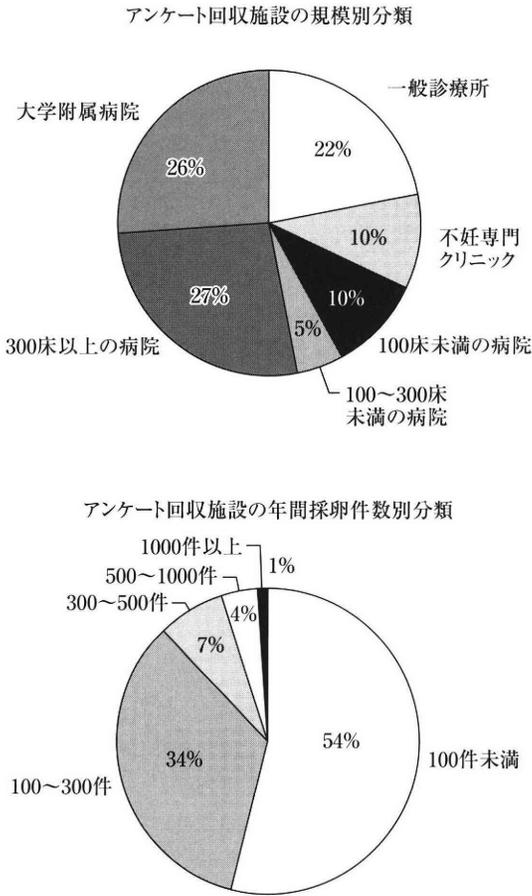


図1 アンケート回収施設の種類

緒言

不妊治療は夫婦間の生殖というプライベートな要素を含むため、そこに医療として生殖補助技術（以下ART）を用いるとすれば、より十分な説明と同意（以下インフォームドコンセント）が必要とされる¹⁾。患者自身も、技術だけに頼り満足していた受け身型の医療から、自分の体に応じた、納得の行く医療を積極的に選択するようになってきた。

1997年の当院の調査では不妊治療に関する不安や悩みの相談相手は夫、医師、不妊仲間の順で看護婦への相談は少なかった。この結果は、近年に見られる著しいARTの進歩の一方で、看護職の患者に対するサポートが立ち遅れていることを示すものであった。現在、看護は専門職として様々な医療の分野で患者のサポートを行ない、疾病を持つ患者が自立した、より良いライフサイクルを送れるように援助しているが、生

殖医療においても同様に、不妊に悩む患者が安心して治療を受けられるようサポートして行く必要がある。

IVFコーディネーターはARTに関して専門的な知識を持つ看護スペシャリストであるが、今回の研究では、ARTを行なっている登録施設を対象にコンサルテーションの現状と治療中の患者の心理状態について調査した結果を踏まえ、生殖医療の中でのIVFコーディネーターの必要性和その役割について考察した。

対象および方法

1. ART登録施設に対する調査

1999年9月13日より10月21日までに日本産科婦人科学会に登録された体外受精・胚移植およびGIFTの臨床実施448施設²⁾に郵送による無記名回答のアンケート調査を行なった。内容は、各施設のARTを受ける患者を対象とした診療状況とコンサルテーションの現状について調査した。

2. ARTを受ける患者に対する調査

1997年10月より11月までに当院でARTを受けている患者350名に郵送による無記名回答のアンケート調査を行なった。内容は、ARTを受ける患者の各治療段階の心理状態について調査した。

結果

1. ART登録施設に対する調査

448施設中179施設より回答があり、回収率は40%であった。回収が得られた施設を規模と年間採卵件数別に集計した結果、300床以上の病院、大学附属病院、一般診療所からの協力が多かった(図1)。また、調査協力の得られた施設の中で年間300件以上採卵を行なっている施設は12%、100から300件未満が34%、100件未満が最も多く54%であった(図1)。

1) 患者受診状況

外来患者数を施設の規模別に集計したところ、不妊専門クリニックが最も多く1日平均70件であった(図2)。待ち時間は最高3時間という施設もあったが、平均待ち時間は大学附属病院が最も長く62分で、病院の規模が大きくなるほど待ち時間は長くなる傾向が見られた(図2)。待ち時間の長さ比べ、平均診療時間はどの施設も10分前後であった(図2)。ARTの場合は、卵胞計測などのモニタリングを慎重に行なうため実際に患者が医師と話す時間は更に短いことが考えられる。

このような状況でも179件中118件、66%の医師がインフォームドコンセントは得られていると答えてい

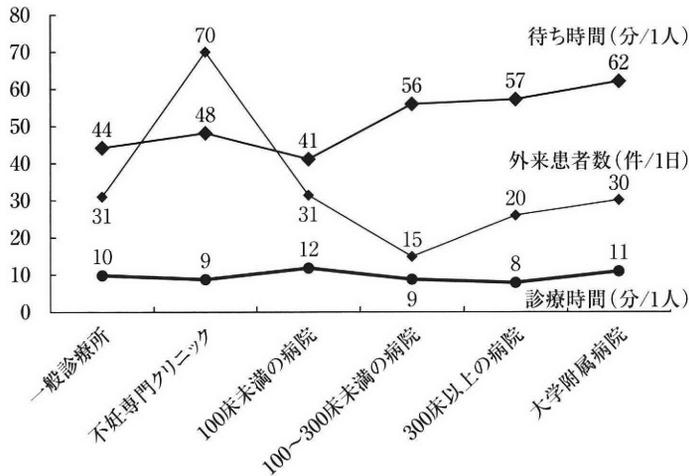


図2 1日あたりの患者受診状況 (施設規模別)

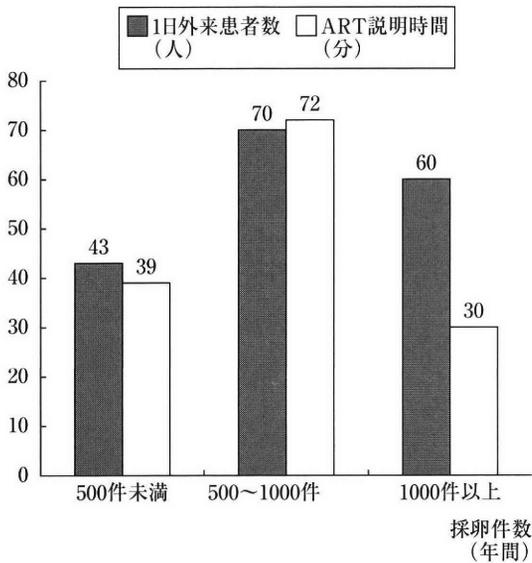


図3 1日外来患者数とART説明時間 (年間採卵件数別)

た。

2) ART 患者に対する説明時間

ART を初めて受ける患者への説明時間は、年間採卵件数 500 件未満の施設と 1,000 件以上の施設はそれぞれ 39 分、30 分であったのに対し、年間採卵件数 500 から 1,000 件未満の施設では 72 分と長かった(図 3)。多くの多忙な医師は診療時間内では十分に説明できないところを、自分の時間を割いて診療時間外に説明を行なうことで時間的な埋め合わせをしていると報告し

ていた。

インフォームドコンセントが得られていないと答えた 32% の医師は、その理由として「時間がない」、「スタッフ不足」、「精神面でのケアが不足している」などを理由に挙げていた。患者に対し十分なコンサルテーションを行なえない場合でも、179 件中 109 件の医師 61% が看護スタッフが対応しているものと答えていた。

2. ART を受ける患者に対する調査

当院で ART を受けた患者 350 名のうち 24 歳から 47 歳までの 282 名から回答が得られ、回収率は 80% であった。年齢別患者背景は表 1 に示した。

1) 不妊治療に対する不安

患者の不安に対する調査では治療内容に関する不安が最も高く 526 件、続いて妊娠の可能性に関する不安が 411 件、社会的・経済的不安が 152 件、倫理的不安が 33 件であった(図 4)。それぞれの不安項目にはさらに具体的な質問を行ない、複数選択できるようにした。

治療内容に関する不安で最も多かったものは、卵子の状態に関するもので 245 件、次いで受精に関する不安が 113 件、副作用 67 件、採卵時の痛み 59 件、検査や治療内容に関するものが 42 件であった。社会的・経済的不安では、治療費に関する不安が 71 件と最も多く、次いで仕事との両立に関する不安が 44 件、遠方の患者で通院に関する不安が 37 件であった。倫理的な不安としては、人工的な操作に関するものが 33 件見られた。

2) 当院を受診する以前の相談者

表 1 患者の背景

	29 歳以下	30 ~ 34 歳	35 ~ 39 歳	40 歳以上
患者数	36 名	106 名	94 名	46 名
平均年齢	27 歳	32 歳	37 歳	42 歳
不妊期間	1 ~ 8 年	1.5 ~ 10 年	1.8 ~ 15 年	2 ~ 22 年
平均不妊期間	3.4 年	5.1 年	8.3 年	11.6 年
適応(重複回答)				
男性	33 件	54 件	34 件	10 件
卵管	4 件	24 件	13 件	7 件
子宮内膜症	1 件	15 件	15 件	11 件
抗精子抗体	1 件	0 件	2 件	0 件
受精障害	0 件	18 件	13 件	7 件
原因不明	5 件	41 件	63 件	36 件
平均施行回数(他院での治療も含む)				
AIH	1.3 回	3.9 回	5.9 回	7.5 回
IVF	0.2 回	1.3 回	2.6 回	2.7 回
ICSI	1.9 回	1.6 回	2.0 回	2.8 回
最高施行回数(他院での治療も含む)				
AIH	8 回	20 回	30 回	68 回
IVF	3 回	10 回	15 回	28 回
ICSI	6 回	7 回	10 回	8 回

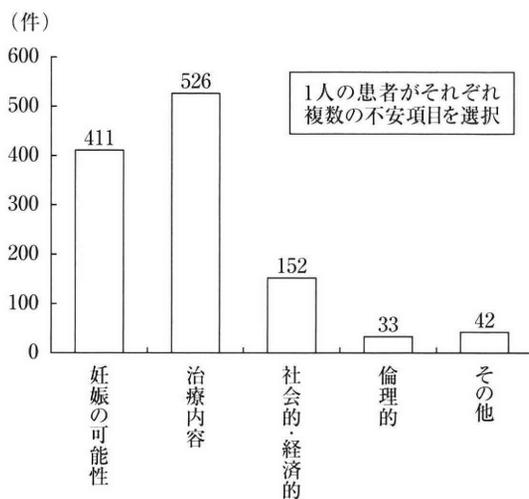


図 4 ART 患者の不妊治療に対する不安

当院を受診する以前は、治療中に不安や悩みがあった場合、誰に相談していたかを図 5 に示した。その結果、相談者として 109 件の患者が夫を挙げていた。続く相談者としては医師 81 件、不妊仲間 58 件であった。看護婦への相談は 28 件と低かった。

医師への相談に対しても、「常に忙しそうで検査や治

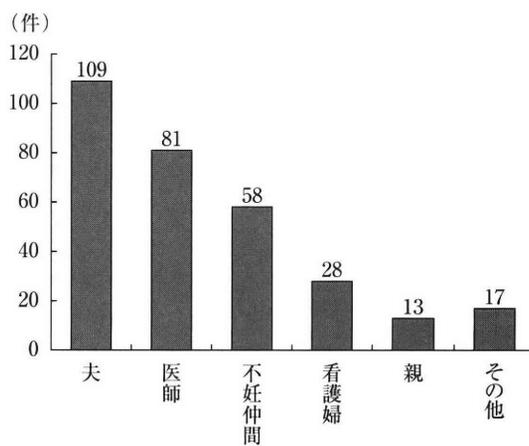


図 5 ART 患者の不妊治療中の相談者(当院を受診する以前)

療についてきちんと説明してくれなかった」、「専門用語が多く意味がよく分からなかった」、「聞きたくても忙しそうで聞けなかった」などの不満を抱えていたケースが多かった。

3) ART を受ける患者の心理

患者の心理状態における調査(図 6)で明らかになったことは、最も多くの患者が自分の妊娠について絶望

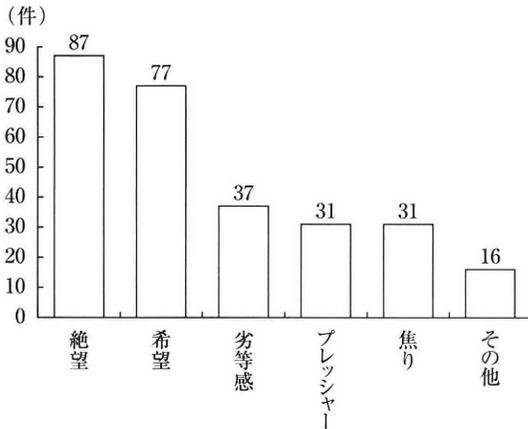


図6 ARTを受ける患者の心理

的な思いを抱いているということであった。難治性になるほど、今までの治療でなぜ妊娠できなかったのか、自分は妊娠不可能な体ではないかといった不安が強くなっていた。反対に治療を受けていればいつかは妊娠できるかもしれないといった希望が次いで多く 77 件であった。

それ以外に見られる特殊な心理としては、子供を産み育てるという通常の生涯発達課題を果した女性³⁾には見られない劣等感や周囲から受けるプレッシャー、焦りからくるストレスなどがあった。

4) 治療中にストレスを感じる時期

治療中に患者が最もストレスを感じる時期(図7)は胚移植後から妊娠判定までであった。次が治療後に妊娠していないことが判明した時であった。治療中や妊娠しなかった時よりも、患者にとっては結果を待つ時期の方がストレスであることが分かった。

考 察

ARTは配偶子を体外に取り出し、受精・分割の過程で人為的な補助を受けるため、採卵や胚移植といった特別な処置を伴う。また大量の排卵誘発剤を使用するため卵巣過剰刺激症候群発症の危険性もあることなど、一般不妊治療とは異なり、患者にとっては多くの不安を抱えた治療となる。患者からの調査の結果、不安の多くが妊娠の可能性と治療内容についてであることがわかった。これは他の医療のように、生殖医療が期待した結果を確実に保証できるものではなく、また高度になるほど人為的操作が介入し、異質な印象を受けてしまう⁴⁾という点が理由として挙げられる。様々

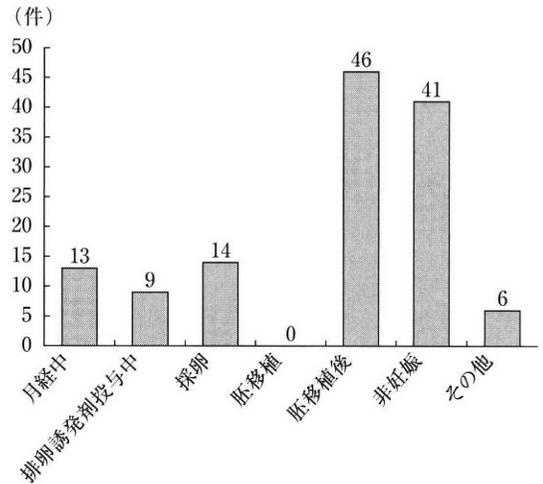


図7 ART治療中にストレスを感じる時期

な不安を孕む治療の中で、一つ一つの新たに出てくる治療上の不安に対し、説明や相談を求めたくなるのは患者の心理として当然とも言える。患者の多くは、身近で何でも相談できる夫を不安や悩みの相談相手として選んでいるが、夫では医学的な不安に対する解決にはならないため医療従事者への相談が必要となる。アンケート結果ではインフォームドコンセントに対する医師の満足度は高かったが、一方、患者の評価では十分な説明はなく、説明が不十分な場合でも、医師は看護スタッフが対応していると考えていた割には、意外にも看護婦への相談は少なかった。多忙な医師には聞きたくても遠慮して聞けない雰囲気があり、また看護婦には聞いても適切な答えが返ってこないという状況があった。これらの結果よりARTを受ける患者のサポートには専門的な知識を持ち、不安や悩みがあった場合に気軽に相談できる専門スタッフが必要であることがわかる。

欧米ではARTを行なう専門の施設には医師を中心とした患者のサポート体制がある。診療部門には医師、培養部門には生殖生物学を専攻したサイエンティフィックディレクターやエンブリオロジスト、患者サポートの部門ではIVFコーディネーターや看護婦、心理カウンセラーが従事している。特にコンサルテーションの部門はIVFコーディネーターが担当する。当院では不妊治療を円滑に行ない、かつ患者への説明やサポートを十分に行なう目的で、この欧米のシステムを取入れ平成7年よりIVFコーディネーターを配置し、チーム医療の中で不妊患者をサポートしている(図

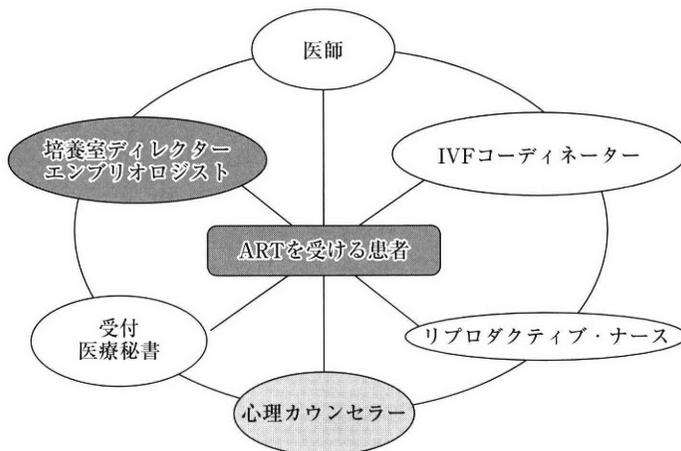


図8 チーム医療の中での患者サポート (当院のシステム)

表2 ART 治療中の患者の心理状態とサポートの実際

時期	心理状態	サポート
初診時	ART に対する漠然とした不安	具体的な説明 ART のプロセス, 治療成績 治療のスケジュール 排卵誘発法 日常生活の注意点 不妊教室(教育的グループ活動)
排卵誘発剤投与開始 ～胚移植	現実的な不安	個別的な情報提供 治療の進行状態 採卵・麻酔の方法 受精の報告, 移植胚数の確認 余剰胚凍結希望の確認
胚移植～妊娠判定	女性としての存在価値に対する不安	精神的サポート リラクゼーション 患者の会 (心理的グループ活動) 個人カウンセリング

8)⁵⁾.

1) IVF コーディネーターの役割

IVF コーディネーターは ART の治療における説明(情報提供も含む)と相談, 患者教育, 精神的なサポートを行ない, 医師と患者間の調整を行なっている. これらを円滑に行なうには IVF コーディネーターは常に医師や培養室スタッフ, 他の部門とコミュニケーションを取り, チーム間で意志の統一を図ることが大切である.

アンケート結果を検討したところ, 治療中の患者の不安内容は大きく3つに分類できる. 漠然とした不安, 現実的な不安, 自分の体に対する不安である. この3

つの不安が発生する時期は, 患者の治療周期のどの段階にあるかで変化する. 患者が治療を始めるために病院に訪れる初診時は漠然とした不安を抱えている. 実際に排卵誘発剤の投与が開始し胚移植が終わるまでの, 治療が本格的に行なわれる時期は, 今まで漠然としていた不安が現実化してくる. また胚移植が終わり妊娠判定日までの結果を待つ時期は女性としての存在価値を問う自分の体に対する不安が現れる. 患者が治療中のどの段階にあるかによって必要とされるサポートは変化し, IVF コーディネーターはそれを適切に行なっていく必要がある⁶⁾.

具体的なサポートについては以下に示す(表2).

(1) 漠然とした不安を持つ時期

初診時は妊娠の可能性や治療に対する情報不足から、患者は漠然とした不安を持っている。この時期には具体的な説明を行なう必要がある。妊娠の可能性に対しては妊娠率や多胎率、流産率などの治療成績を開示し、治療の不安に関しては培養室での配偶子の取り扱いや排卵誘発法、治療スケジュール、治療費のことなどについて詳しく説明する。

(2) 不安の内容が現実化する時期

排卵誘発剤を投与し始め、胚移植が無事に終わるまでの本格的な治療の時期になると不安の内容が現実化する。良い卵子が育っているか、受精はするか、採卵は痛くないかなどといった不安である。治療の進行状態に合わせて現実化してくる不安に対し、安心して治療が受けられるように個別的な情報提供を行なっていく必要がある。

(3) 女性としての存在価値に対する不安を持つ時期

胚移植後から妊娠判定までの時期は患者が最もストレスを感じる。この時期は特に精神的サポートが必要とされる。また、リラクゼーションに対する働きかけ⁷⁾や臨床心理士による心理カウンセリング、患者の会などへの参加を促すなど、出来る限りのサポートを行なっていく必要がある。当院ではグループ活動にも力を入れている。患者の自助グループ「ひまわり」という会は、治療に対するさまざまな不安を話すことでカタルシスを得、自己や他人を受容し、支えあう会である。この会の中で患者は、自己理解を深めるとともに悩んでいたことに対する情報の共有ができる。さらに不妊に悩む患者を孤独感から開放している^{8,9)}。また、特に 40 代の患者を対象とした「桜」という会では治療中止の時期を考えなければならない年齢層の会であるため、患者が自分の気持ちを見つめる助けになっている^{8,9)}。

以上が IVF コーディネーターが行なうサポートの実際であるが、これらの試みを通して、患者に当院でのコンサルテーションの現状について尋ねたところ、ART を受ける患者の 88% が、IVF コーディネーターの存在により不安や悩みの相談ができ、安心して不妊治療を受けることができた⁵⁾と評価した。

生殖医療においては患者に対し十分なインフォームドコンセントを行なうことは言うまでもないが、その上で患者が必要とする時期に信頼できるスタッフと十分に話し合い、治療に対する不安を一つ一つ解決して行くことが不妊のコンサルテーションにおいて大切で

あると考える。

また、カウンセリングの姿勢としては、治療を受ける患者が夫婦にとってここまでの治療を本当に必要としているのか、不安の原因が何によって起こっているのかなど自分自身を冷静に見つめ、ストレスの中でも患者自身が自己の精神状態を立て直して行けるような関わりが大切である。これにはロジャースの受容と傾聴、共感のカウンセリングが有効であると考えられる^{10,11)}。患者が自己を見つめる助けとなるカウンセリングは難治性になるほど必要とされる。妊娠できない自分の状況を哀れむのではなく、患者自身が自らの状態を理解し、自らが決定して行けるような患者になることへのサポートが IVF コーディネーターの担う役割であると考えられる。そして、今後の課題としては、著しい進歩を遂げた生殖医療を駆使しても救うことのない患者をどのようにサポートして行くかという問題が残されている。女性のライフサイクルの中で子供を産み育てるという生涯発達課題を達成できなかった場合でも、生殖医療を受けたことを通して、患者が一人の人間として成長して行く過程の助け¹²⁾となるようなサポートの提供ができればと考えている。

文 献

- 1) 矢内原巧(1999) わが国における生殖医療の実態とそのあり方. 平成 11 年度厚生科学研究報告書 2: 575-576
- 2) 日本産科婦人科学会(1999) 体外受精・胚移植, および GIFT の臨床実施に関する登録施設. 日産婦会誌 51: 368-380
- 3) やまだようこ(1995) 生涯発達をとらえるモデル. 講座 生涯発達心理学 第 1 巻, 金子書房, 東京, pp57-92
- 4) 柘植あづみ(1999) 「自然である/ない」という観念と医師としての態度. 文化としての生殖技術. 初版, 松籟社, 京都, pp241-270
- 5) 福田貴美子, 蔵本武志(1997) ART における体外受精コーディネーターの必要性. 日不妊会誌 42: 221
- 6) 福田貴美子(2000) 生殖医療を受ける患者に対するカウンセリング/サポート. ペリネイタルケア 19: 25-29
- 7) Fukuda K, Inoue N, Kuramoto T, et al. (1999) A Study of Using a Healing-Room for the Relaxation of Patients after Embryo Transfer. 11th World Congress on *In Vitro* Fertilization & Human Reproductive Genetics: 121-124
- 8) 伊藤弥生, 福田貴美子, 蔵本武志(1999) 不妊治療

- におけるオーブングループの有効性と限界, 継続的サポートグループの事例分析を通して. 日不妊会誌 44:229
- 9) 伊藤弥生(1999) 不妊に悩む女性のためのグループ・アプローチ. 現代のエスプリ. 野島一彦編, 第385号, 至文堂, 東京, pp126-135
- 10) ロジャース C.R.(1980) 人間の潜在力 個人尊厳のアプローチ. 島瀬稔, 島瀬直子訳, 創元社, 東京
- 11) アルフレッド・ベンジャミン(1997) カウンセリング入門, 春秋社, 東京
- 12) 河合隼雄(1996) 心理療法の終結. 心理療法序説. 第10版, 岩波書店, 東京, pp241-260

Study on the Need and the Role of an IVF Coordinator for Consultation and Treatment of ART Patients

Kimiko Fukuda, Naomi Inoue, Noriko Matsumoto,
Kiyoko Kashima, Yumiko Sakata, Shizuka Nakamura,
Mutsuro Motoishi and Takeshi Kuramoto

Kuramoto Women's Clinic, Fukuoka 812-0012, Japan

In order to study what consultation services should be given to ART patients, we conducted a survey of 448 ART institutions registered with the Japan Society of Obstetrics and Gynecology, as well as 350 patients who underwent ART treatment in our clinic.

As a result of our investigation, we found that as the size of the ART institution increased, so too did the number of oocyte retrievals per year increase. Hence, the patient treatment time and consultation time with the doctor decreased whilst the waiting time increased significantly to the level that it was not possible for one doctor alone to handle the workload. We realized that there is a lack of qualified nurses who can both assist the doctors and give the patients mental support.

On the patient's side, we found that patients began to lose hope of becoming pregnant. Compared to other women who had given birth, they felt inferior, impatient and pressured. We also found that the things that most worried ART patients are

1. Whether or not they would successfully become pregnant and
2. Lack of information about the treatment procedure itself such as costs, amount of pain, side effects, quality of the egg, impact on their ability to work etc.

In conclusion we found that there is a real need for the role of an IVF coordinator. To fill this need, starting from 1995 our clinic started using a nurse qualified in infertility, as an IVF coordinator. When surveyed, 88% of the patients at our clinic replied that they were very satisfied with the fact that we provide this IVF coordinator service.

Given the current state of decreasing birth rate in Japan, we recommend that each ART institution use the services of an IVF coordinator to improve the level of treatment and service to patients.

Key words : IVF coordinator, ART, support of ART patient, consultation, informed consent

(Jpn J Fertil Steril 46 : 11-18 2001)

「不妊ホットライン」から見た不妊の当事者の悩みと医療への提言

Infertile Couple's Worries on Hotline and Proposal to the Medical Staffs

北村 邦夫

Kunio KITAMURA

社団法人日本家族計画協会クリニック所長

Medical Director, Japan Family Planning Association, Inc., Tokyo 162-0843, Japan

はじめに

不妊の問題は昔から存在していたにもかかわらず、そのカップルが抱える心理や苦悩についての詳細な研究は極めて少ない。その理由の一つとしては、不妊が10組に1組といういわば「少数派」の問題でしかなかったということもあるだろう。しかし、それ以上に不妊を「語られない問題」にしてきたのは、何と云っても世間が不妊に抱く価値観である。

『日本産育習俗資料集成』の「石女と未婚女」の項は、日本人がこれまで不妊の女性をどう見なしてきたか、その断片をかいま見させてくれる¹⁾。

・浄土真宗では、石女は前世で人を殺したからだと言う(福井県)

・石女はこの世では楽でも、あの世では地獄へ突き落とされるとされる(長野県)

・石女を鬼女といっている。結婚しない女はこの鬼女とか、不具者とか、精神異常者である。鬼女は心臓に故障があり、猫背で、眉毛が非常に薄いかまたはない者が多く、血色がきわめて悪く、青白い顔色、皮膚色をしている。鬼女は非常にけがれがあるためか、路傍で小便をする時は草木が即座に枯れると言われていた。なお鬼女には鼻血が出る者がある(岐阜県)

・石女を当地方でキオンナ(生女)と言い、終身未婚の女をオバアという。俗謡に「わたしキオンナ孝行はしらず末は地獄へ行くである」というのがある(愛知県)

・元来、女には目に見えない12本の角がある。そして子どもを1人産むごとに1本ずつ落ちていき、12人産んで12本の角がまったく落ちてしまえば善人という

ことになる。ウマズは12本ことごとく残っているのが極楽には行けないという(奈良県)

・石女がいると村が枯れるという(鳥根県)

・石女、および結婚しない女は世間の者がかたわのよう(福岡県)

・古来、罪深い婦人は妊娠しないという(福岡県)

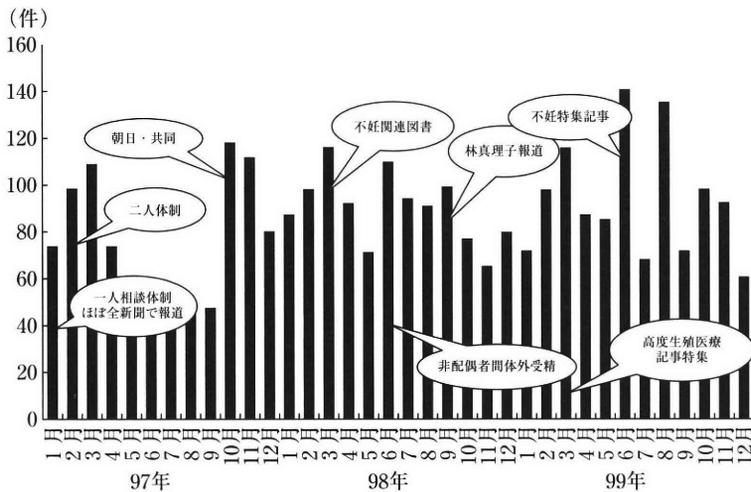
こうした状況は、現代において改善されたのだろうか。特に地方において、こうした意識はさらに根強く、今日でさえ「3年たっても子どもができなかったら離婚してもらおう」と嫁に言い渡す姑がいる。不妊の原因が自分の息子にあるということに思い至らない親は多いし、その事実を知ったとしても黙殺したり、「夫に原因があることは親戚には言わないように」と嫁に口止めするケースもある。そうした抑圧の中で不妊をカミングアウトすることは非常に困難である。まして当事者自身にも、不妊を「恥」「罪悪」とする感覚が、根づいていることも原因している。

また、不妊はセックス等もからだ極度にプライベートな問題であって、口にするには、その点でもはばかれるだろう。不妊のカップルは、そうした外的、内的な抑圧の中で、いまま口をつぐんでいる。

不妊ホットラインの開設の経緯と実績の概要²⁾

厚生省が1996年度からスタートさせた「生涯を通じた女性の健康支援事業」を東京都から委託された日本家族計画協会クリニックでは、その一環として『不妊ホットライン』を開設した。

不妊の当事者が求めているのは、不妊治療相談に限るものではないと考えた私どもは、不妊で長い間悩み、苦しんできた女性、すなわちピア(仲間、この場合は



不妊ホットライン月別相談件数
(1997年1月～1999年12月)

不妊の当事者)をカウンセラーとしてこの事業を進めてきた。以来、3年が経過し、相談件数は3,132件(平成9年926件,平成10年1,080件,平成11年1,126件)に達した。

週一回、毎週火曜日の午前10時から午後4時まで受け付けている不妊ホットラインには二人の相談員が当たっている。しかし、残念なことに、彼らに対応できる相談件数は一日に30件程度。それに対して、全国各地から一日に向けられるアクセス数が4,400件を超えた時があった。

以下、3年間を1年毎に区切ったクロス集計の結果などを示し考察を加えた。

(1) 相談件数の月別推移

相談件数は1997年926件,1998年1,080件,1999年1,126件となっている。2台設置した電話は開設日には常時飽和状態であり、この相談件数だけから、関心の高まりを定量的に評価することはできない。しかも、12月や1月のように、年末年始のために相談活動を中止する月にはおのずと件数が減少することになる。また、相談内容によっては、短時間で対処できることもあったり、担当する相談員の経験や能力によって相談時間の長短が十分に起こり得ることから、結果として相談件数が増減することになる。しかし、総体的に見れば、このような事業を長年にわたって推進していくには、メディアとの共存が極めて重要である。

過去3年間で、月別相談件数が最も多かったのが1999年6月。夫婦間以外の体外受精を容認すべきかど

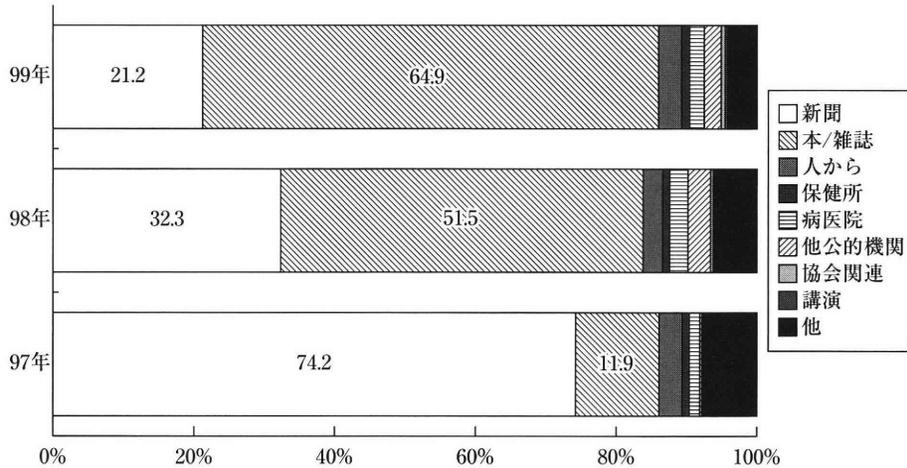
うかなどを巡る議論が国や日本産科婦人科学会などで沸騰し、メディアが新聞や雑誌などで関連記事の特集するなどの影響が出ているものと思われる。3年間を概観すれば、図にあるように、1998年6月の長野県・諏訪マタニティークリニックの根津八紘医師による卵子提供による体外受精騒動、1998年9月の高齢出産として話題をさらった作家林真理子の妊娠・出産報道など、時代に瞬時に反応する姿が、不妊ホットラインに如実に現れている。

その一方、1997年4月以降の相談件数の落ち込みに代表されるように、熱しやすく冷めやすいという日本人の特性を示す現象も経験した。このような事業を継続させ、成功に導くためには、相談員の質的向上を常に図りながら、メディアへのニュースバリューのある情報提供を絶えず行っていくことが要求される。

(2) 情報経路

1997年1月7日からスタートした『不妊ホットライン』には、新聞社、雑誌社などから多数の取材依頼があった。相談日初日のアクセス数が4,400件を超えたことなど、メディアによる取り上げの影響の凄さを実感させられた。

しかし、メディアというものは概して、花火のような取り上げが一般的であり、取り上げた記事を継続的に評価するという点には関心がない。そのようなメディアの姿勢を反映してか、1997年には74.2%を占めていた「新聞」は、1998年には32.3%、1999年には21.2%と激減している。一方、数ある女性誌などでは、時



不妊ホットラインの存在を知るきっかけ
(1997年1月～1999年12月)

代の関心を記事にする中で、「不妊特集」が増える傾向にあり、それぞれ 11.9%、51.5%、64.9% の結果であった。

3年を経過した段階でも「新聞」を情報源として相談をかける利用者によれば、当事者にとって必要とする記事は、スクラップするなどして保管されているとのことである。最近の傾向としては不妊を扱う医療機関からの紹介患者が電話をかけてくる例が散見されている。

(3) 相談内容

相談内容については、「知りたい情報」「治療に関すること」「治療以外の問題」の3項目の中から、該当するものがあれば、そのうち最も印象に残った問題、それぞれ1項目だけ選択することとしている。仮に該当するものがなければ選択されない。人によっては、それぞれの項目で3個所にチェックが入る場合があり、ある人は、例えば「知りたい情報」の中の1個所だけにチェックが入ることもある。したがって、関連のない項目間の比較は単純にはできないが、ここでは、相談内容の傾向を把握するという意味から、相談内容を表にまとめた。

これによれば、第1位「自分自身のこと」(56.7%)、第2位「治療への迷い」(51.1%)、第3位「病院情報」(23.7%)、第4位「不妊への不安」(22.5%)、第5位「病院への不満」(22.0%)、第6位「夫とのこと」(18.2%)、第7位「検査について」(16.5%)、第8位「周囲との人間関係」(15.7%)、第9位「情報、その他」12.1%、第

10位「薬について」9.3%との順となっている。

この相談内容の傾向は、ここ3年間で大きな変化が認められる。1997年の上位5項目は、「治療への迷い」「自分自身のこと」「病院情報」「病院への不満」「検査」、1998年は「自分自身のこと」「治療への迷い」「病院への不満」「不妊への不安」「夫とのこと」、1999年「自分自身のこと」「治療への迷い」「不妊への不安」「病院情報」「病院への不満」となっており、私どもが実施している不妊ホットラインが、不妊の当事者を相談員としていることから、「治療」や「検査」「薬」という医療に係る情報提供よりも、「自分自身のこと」「治療への迷い」「病院情報」「不妊への不安」「病院への不満」「夫とのこと」といった、「心」の問題などについて聞いてもらえるという期待感を反映した結果とも受け止めることができる。

不妊の当事者に向けられる圧力³⁾

子どもが欲しいという気持ちは、無数の要素から成り立っており、一言では表すことはできない。本能だと決めつけるのも危険である。時には遠い過去から受け継がれてきた命が、自分をもって途絶えてしまうのだという程の死生観に根ざしたものであるかもしれない。しかし、ここでは不妊の当事者が抱える悩みを、「外圧」「内圧」「医療からの圧力」の3つに分けて考えてみたい。

まず、外圧の具体例を挙げてみよう。夫の親や親戚から「役立たず」「あなたが悪い」「お墓はどうする」「こ

表 相談内容の傾向(1997年～1999年)

	%			
	97年	98年	99年	合計
自分自身のこと	46.7	60.0	60.2	56.7
治療への迷い	71.1	48.7	39.5	51.1
病院情報	33.1	16.7	23.0	23.7
不妊への不安	0.0	22.5	37.8	22.5
病院への不満	23.2	25.5	17.9	22.0
夫とのこと	20.0	19.4	15.6	18.2
検査	20.5	16.8	13.3	16.5
周囲との人間関係	18.2	13.7	16.3	15.7
情報その他	13.7	13.8	9.5	12.1
薬	9.6	9.6	8.8	9.3
体外受精/顕微受精	8.1	10.4	8.4	9.0
月経・基礎体温など	0.0	9.0	9.9	6.8
AIH	3.0	5.7	5.2	4.7
男性不妊	5.2	2.8	6.0	4.7
習慣流産	3.5	5.1	4.9	4.6
セックス	0.0	5.2	6.0	4.1
治療外その他	6.4	2.6	2.7	3.6
子どものいない人生	5.5	2.8	1.5	3.0
妊娠・出産・育児	1.8	1.6	3.5	2.4
治療のことその他	3.3	1.2	1.7	1.9
AID	1.8	1.8	2.0	1.9
内膜症・筋腫など	0.0	2.6	2.5	1.9
費用	1.5	0.8	2.4	1.6
仕事との両立	0.9	1.3	0.8	1.0
代理母・卵提供	1.5	0.5	0.5	0.8
養子	1.5	0.0	0.2	0.5

の家の者ではない」などと言われ、身の置き場がなくなっているケースがある。極端な例になると、「産めない嫁は世間の恥になるから外に出るな」と言われ、外出を制限されたという女性すらいる。また職場や地域社会では「お子さんはまだなの」と始終迫ってきたり、「子どものいない女性は成長しない」といった偏見を受けるといった声もある。日本社会でも多様な生き方が認められるようになったと言われるが、こと「産む」ことに関しては、まだまだ、これほど抑圧的な社会なのかと驚かされる。このような状況下では、不妊状態の女性是否定的な自己認識を持たざるを得ない。それが内圧となって現れる。まず、「女として不完全」「根なし草のようだ」という声がある。

アイデンティティが揺るがされ、産めないという喪失感に悩まされている。また、「将来がイメージできない」といった不安、「夫や親に申し訳ない」といった罪悪感、実際に「1年以内に子どもができなかったら離婚

して欲しい」と言われている女性もいる。電話相談の2, 30分間、泣きっぱなしで話される女性も少なくない。中には鬱状態に陥ったり、自傷行為に至る女性もいる。そして、ほとんどの女性が、「子どもができない限り、この悩みからは一生逃れられない」と思い詰めている。不妊の問題には、心理面と生活面の両方からのサポートが必要であるのはこのような理由からだ。

医療に関しては、初めのうちは、「こんな状態だが検査を受けるべきか」「不妊専門の病院へ行くべきか」。また中期では、「医師が説明してくれない」「薬の副作用に苦しんでいる。治療を続けるのが怖い」「病院を替えるべきだろうか」と悩み、やがて、「いつまで人工授精や体外受精を続けたらいいのか」「どうしたら子どもをあきらめることができるか」といった、生殖技術が発達した現代ならではの悩み相談も寄せられている。

このように、タペストリーのように複雑に絡み合った不妊の悩みを、一本一本ほぐしてあげるのが不妊に関わる医療従事者の役割と期待される。

不妊ホットラインを通して寄せられた医療対応に対する様々な苦情や問題点を例示しながら、以下提言したい。

不妊医療現場への提言⁴⁾

1) 説明不足と不安

説明不足を訴える声としては①検査結果さえ教えてくれない、②説明を求めたら、「あんたにはわからないでしょ」と言われた、③副作用が苦しいと訴えても、「子どもが欲しいんでしょ。だったらしょうがないですよ」と言われた、④治療開始2カ月でいきなり体外受精を勧められた、⑤毎回ドクターが変わり、それぞれ意見が異なる、などがあつた。

医療現場が混雑しているという事情もさることながら、ここには医療者と当事者の意識に大きなギャップが生じていると推察される。医療者の中には「専門家にまかせればいいのだ」といった考えをもつ人がいるのに対し、当事者側には「からだの状態や薬の副作用をきちんと把握し、納得したうえで医療を受けたい」という意識が高まっている。こうした不満は、事態を把握できないまま医療を受け続けることへの不安や葛藤とも言えるだろう。

この事態を改善するためには、なによりも医師による説明と、看護者が「わからないことや、不安なことはないか」と声をかけて応えるようなフォローアップ・システムを確立させる必要がある。また薬の副作用

用に対する当事者の不安に対しては、妊娠率は落ちても、別の選択肢を提供することや、卵巣過剰刺激症候群などの緊急事態にどんな受け入れ体制を整えているかを伝えておくことなどが重要である。

2) プライバシーや個人の尊厳への侵害

①声が筒抜けで、セックスのことなどとても質問できない、②大勢の前で、「人工授精の〇〇さん」と呼び出された、③内診台で待っていると、一声もなくいきなり内診された、④何人も女性が並んで次々と行われる人工授精、動物のような扱いだ、⑤人工授精で人の精子と他人の精子を間違われそうになった。

とりわけ人工授精や胚移植は、一つまちがえば他人の子どもを出産することになりかねない。結果として夫婦間にはありえない血液型の子どもが生まれてしまったという事例もある。決してあってはならない深刻な事態である。そこで次のような提案をしたい。

①プライバシーを重視し、外部に声の漏れない工夫を。

②内診台での緊張を和らげる配慮を。待つ間は下半身にバスタオルを。

③精子、卵子、受精卵を他者のものと間違えないように、管理は複数のスタッフによる厳重なチェック・システムの確立が望まれる。

④ AIH、胚移植の際には、当該カップルの精子、受精卵であることを必ず確認する。

3) 育児を期待できない不安や葛藤

妊娠の可能性がないと伝えるにしても、「あんなのような体で妊娠したなんて、聞いたこともないね」と、突き放すような態度では、当事者は大きな痛手を受ける。また「あきらめることを半ば決心したが、「大丈夫、一発妊娠でいきましょう」と体外授精を勧められたというように、根拠も示さず、むやみに期待を抱かせる言動は、かえって混乱を招く。こうした妊娠が期待できない人への対応は、医療者としての力量が最も問われる場面といえるだろう。

そこでまず、「客観的データに基づく妊娠可能性の有無や程度の明示」を訴えたい。そうしたデータが当事者に、どこで医療を打ち切るかの目安を提供することになると思われる。しかし、たった1%の可能性にでもかけたい、という当事者もいるだろう。それを阻止する権利は誰にもないが、と同時に、繊細な心理的援助が欠かせない。ホットラインでは、まずそうした方の苦しさを十分に受けとめる努力をしているが、しかし、そのような時間も体力もないといった医療スタッ

フの苦労もあろうかと思う。そのような場合、当事者を援助してくれる不妊の関連機関の紹介、例えば、不妊ホットライン、不妊の自助グループ、児童相談所、心理カウンセリング施設などを紹介することも検討されたい。

まとめ

「不妊ホットライン」に寄せられる不妊の当事者からの相談は、大半が女性からのものであり、不妊女性に向けられる家族、親族、社会からの外圧の厳しさをかいま見ることができる。相談件数の推移などをみても、メディアでの不妊の取り組みに瞬時に反応し、例えば、40歳を超えて出産に至った作家林真理子や非配偶者間の体外受精でメディアを賑わせた根津問題などは、その一例である。

その悩みを分析すると、不妊の当事者が相談を受け付けている事情を反映してか、不妊である自分自身を見つめている姿が目立つ。妊娠しさえすれば本当に当事者の悩みが消えるのだろうか。体外受精など高度生殖医療技術をもってしても17、8%しか妊娠・出産に至ることができない現状を、治療に当たる医療従事者はどう捉え、当事者はどのように受け止めているのだろうか。

十分な説明もないまま、強迫的に不妊治療を続けている当事者も少なくない。医療を提供する側と、提供される側が、納得づくめの中で、必要な治療が行われるためにも、医師と患者とのよりよいコミュニケーションが図られていくことを願わずにはおれない。

最近では、日本産科婦人科学会の審議会が、非配偶者間の体外受精を容認しようと学会に答申したとの記事がメディアを賑わせている。

このような報道は、いったん限界を受容した当事者を少なからず動揺させている。精子の提供と異なり、卵子の提供は第三者の女性に身体的なリスクを負わせることになる。その是非を巡る議論も十分とは言えない。生まれてくる子供の出自を知る権利はどうか。生まれてくる子供が幸福に生きられる医療となっていくのか。商業主義は幅をきかすようなことにはならないか、課題が山積している。

身近な人の理解も心理的な援助もなく追い詰められて、こうしてただ選択肢だけがが増えていく当事者の苦悩を、それぞれの立場で今一度考えてみる必要があるのではないだろうか。

文 献

- 1) 赤城恵子(1998) 忌避された不妊の歴史. ペリネイタルケア 17:285-289
 - 2) 北村邦夫, 杉村由香理, 鈴木良子(1998-2000) 患者から見た不妊治療の在り方に関する研究 (主任研究者: 矢内原巧), 厚生科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業), 厚生省
 - 3) 赤城恵子(1999) 不妊状態の女性の心理とその対応. 母子保健情報 39:35-40
 - 4) 赤城恵子, 北村邦夫, 他(1998)「不妊ホットライン」その4~医療スタッフへの提言~, 第39回日本母性衛生学会, 前橋
-

卵管機能とその異常 —感染症と卵管機能—

Tubal Dysfunction with Sexually Transmitted Disease

野口靖之

Yasuyuki NOGUCHI

愛知医科大学産婦人科学教室

Department of Obstetrics and Gynecology,

Aichi Medical University School of Medicine, Aichi 480-1195, Japan

緒言

卵管性不妊は、不妊症の原因の中でも高い頻度を占め、診断が困難なものの一つである。そして、卵管炎は、卵管性不妊のいくつかある原因の中で、子宮内膜症をのぞけば、最も頻度の高いものとされている^{1,2)}。卵管炎を含めた女性性器感染症の起炎菌は、*Escherichia coli* (*E. coli*) などの腸内細菌が、よく知られている。しかし、近年、性交渉の低年齢化や、その多様化により、*Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*)、*Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*) が、卵管炎の起炎菌として、増加しつつある^{3,4)}。*N. gonorrhoeae* の本邦における年間罹患率は、軽度の上昇傾向であるが、*C. trachomatis* は、10年前と比較して4倍以上の著しい増加を認める(図1)⁵⁾。このことは、これら起炎菌による性器感染症の自覚症状が乏しく、それに伴う不顕性感染者の増加が原因の一つに挙げられる。また、*C. trachomatis*、*N. gonorrhoeae* は、臨床的特徴より、長期にわたり診断がなされず、不顕性感染となり慢性感染に移行する頻度が高いことが特徴である。それに伴い、卵管炎は、慢性化し、卵管上皮の障害のみでなく、卵管上皮下間質に線維化を形成し不可逆性の卵管機能障害に至ると考えられている。したがって、その後抗菌剤による治療がなされても、卵管の線維化は、卵管の慢性炎症の後遺症として残存し難治性卵管性不妊症の原因となる。今後、卵管機能に不可逆性の後遺症をもたらす慢性卵管炎は、卵管性不妊症の原因として重要視されると考える。

慢性卵管炎の臨床症状と診断

卵管炎の初発症状は、卵管が骨盤内臓器であることから、下腹部痛であることが多い。

急性卵管炎では、下腹部激痛、発熱、腹膜刺激症状など強い自覚症状を認める。そして、その起炎菌として *E. coli*、黄色ブドウ球菌が挙げられるが、これらは自覚症状が激烈であり早期発見なされることが多い。一方、*C. trachomatis* や *N. gonorrhoeae* による卵管炎は、感染後すぐに症状の乏しい慢性期に移行し、無治療のまま放置されることが多い^{6,7)}。これにより、卵管炎は、慢性化し慢性卵管炎に移行する頻度が極めて高い。以上より、*C. trachomatis*、*N. gonorrhoeae* による性器感染症は、その生物学的、臨床的特徴より、慢

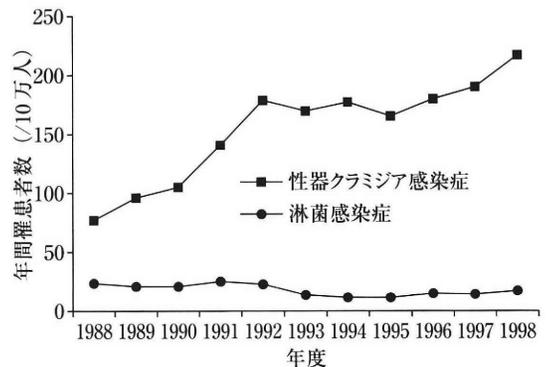


図1 本邦女性における性器クラミジア感染症、淋菌感染症の推定年間罹患率の推移 (モデル県におけるSTD Sentinel Surveillance研究班1998年)

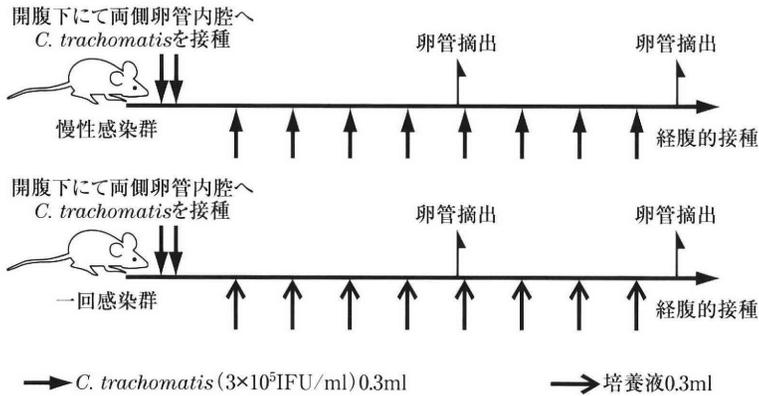


図2 ラットによる慢性卵管炎実験モデルの作成について



図3 卵管内腔へ *C. trachomatis* を接種し、その後 *C. trachomatis* を腹腔内へ8回接種し摘出した慢性感染群の卵管組織の膠原線維染色像 (Masson Trichrome 染色) ($\times 100$)。卵管上皮下の間質組織に青く染色された膠原線維を著明に認める。卵管の線維化に伴う卵管壁の肥厚と、卵管内腔の狭小を認めた。粘膜ひだは、線維化に伴い硬化し輸卵能を障害すると推測された。

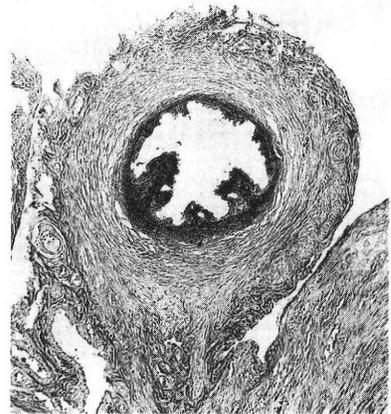


図4 *C. trachomatis* を卵管内腔へ初回接種し、*C. trachomatis* 培養液のみを、腹腔内へ8回接種後摘出した一回感染群の卵管組織。Masson Trichrome 染色による膠原線維染色では、卵管上皮下の間質組織に膠原線維の増殖や卵管内腔の狭小化を認めない ($\times 100$)。

性卵管炎に移行することが多く、その結果、卵管機能障害を発症し、卵管性不妊症に最も関連した感染症といえる。

慢性卵管炎による卵管障害の基礎的検討

われわれは、*C. trachomatis* 性慢性卵管炎による卵

管組織障害が卵管機能に及ぼす影響について、動物実験モデルを用い検討し報告した。ラットを開腹し卵管内腔に *C. trachomatis* の初回接種を行い、その後、経腹的に腹腔内へ *C. trachomatis* を頻回接種した群 (慢性感染群) と、同様に *C. trachomatis* の初回接種を行い腹腔内へは Chlamydia 培養液のみを頻回接種した群 (一回感染群) で卵管組織を比較した。慢性感染群は、開腹後に卵管を露出し、*C. trachomatis* を両側の卵



図5 子宮筋腫の診断により、子宮全摘術をおこなった症例の摘出標本。右卵管は、肉眼的及び組織学的に、炎症所見を認めた。本症例では、抗 *C. trachomatis* 抗体を用いた免疫組織化学染色を行い、卵管上皮に封入体を認め、*C. trachomatis* 感染を証明した。さらに、以前より慢性的な下腹部痛を認めていたことより慢性 *C. trachomatis* 性卵管炎と診断した。

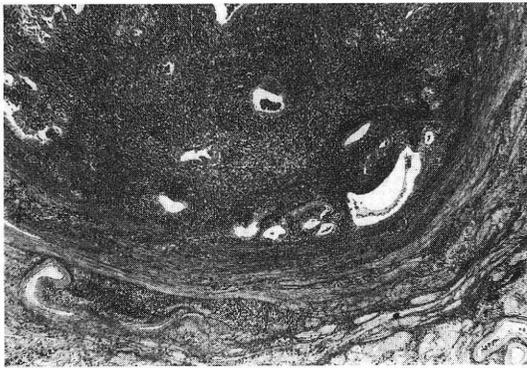


図6 ヒトの *C. trachomatis* 慢性卵管炎に対する膠原線維染色像(×50)。ラットの感染実験で確認された所見同様、上皮下間質の強い線維化と、卵管壁の肥厚とそれに伴う卵管内腔の狭窄を認めた。

管内腔へ接種し、続いて腹腔内へ、*C. trachomatis* を経腹的に7日ごとに接種し、8回接種後7日目に卵管を摘出した。一回感染群は慢性感染群と同様に開腹下で *C. trachomatis* を接種した後、腹腔内へ同量の培養液のみを7日ごとに接種し8回接種した7日目に卵管を摘出した(図2)。摘出した卵管組織を Masson Trichrome 法により膠原線維染色したところ慢性感染群の卵管組織では、一回感染群と比較し卵管上皮下間

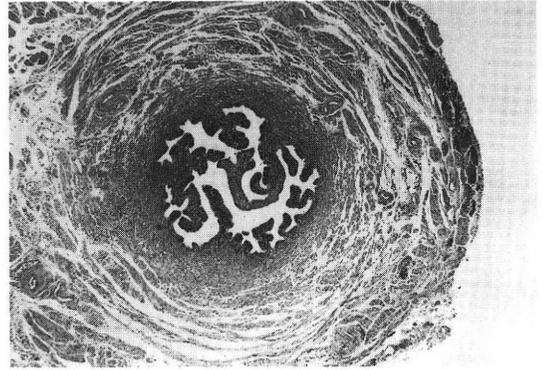


図7 ヒトの正常卵管では、Masson Trichrome 組織染色において、上皮下間質に著明な線維化は、認めない。(×50)。

質に、著明な膠原線維の増殖を認めた。これに伴い、卵管壁の強い肥厚、卵管内腔の狭窄、粘膜ひだの硬化が確認された(図3,4)。以上より、慢性卵管炎は、卵管壁が卵管上皮下の線維化により肥厚し、卵管閉塞につながる卵管内腔の狭窄や、卵管壁の硬化に伴う蠕動運動の障害を発症すると考えられる。慢性感染群の著明な線維化より、卵管障害は、卵管炎治癒後も残存することが強く推測された⁸⁾。

ヒトの *C. trachomatis* 慢性卵管炎と卵管の線維化に関する検討

動物実験により、慢性卵管炎が、卵管上皮下に卵管機能障害につながる線維化を形成することが確認された。そこで、*C. trachomatis* が卵管上皮に確認されたヒトの慢性卵管炎において、卵管組織の線維化発現を組織学的に検討した。(図5)は、子宮筋腫の診断により、子宮全摘術を施行した症例において右の卵管に肉眼的に炎症所見を認め、右卵管炎と診断した。そして、この卵管組織には、抗 *C. trachomatis* 抗体を用いた免疫組織化学染色により、卵管上皮に封入体を認め、*C. trachomatis* 感染が証明された(図5)。また、本症例は、数カ月前より持続的な下腹部痛を自覚しており、慢性感染であることが強く推察され、*C. trachomatis* 慢性卵管炎と臨床診断された。この卵管組織に対し、Masson Trichrome 染色による膠原線維染色を行ったところ、動物実験で確認された組織変化に極めて類似した卵管上皮下間質の著明な線維化を確認した(図6,7)⁹⁾。以上の結果から、慢性卵管炎の持続により、卵管上皮から上皮下間質に炎症反応が波及し、輸卵能の障

表1 血中 *C. trachomatis* 抗体価と卵管上皮下間質の線維化発現の関連について

anti-Chlamydial antibodies		fibrosis positive (No.)	fibrosis negative (No.)
IgG(+)	IgA(+)	14	6
IgG(+)	IgA(-)	1	1
IgG(-)	IgA(+)	0	1
IgG(-)	IgA(-)	7	15

* < 0.05

害につながる線維化を形成することがヒトにおいも明らかにされた。さらに、この線維化は、卵管炎の長期化により増殖し、それに伴い、卵管機能障害は、不可逆性変化になることが推測される。

抗 *C. trachomatis* 抗体価と卵管上皮線維化に関する検討

次に、*C. trachomatis* 感染の既往を示唆する血中 *C. trachomatis* 抗体価と卵管上皮下の線維化の有無についてヒトの卵管を用いて検討した。卵管妊娠により卵管摘出が行われた45症例の摘出標本を対象とし、*C. trachomatis* 感染の既往を示唆する宿主の血中抗 *C. trachomatis* 抗体価を測定した。この時に、摘出された卵管の上皮下に存在する線維化の有無を膠原線維染色により比較検討した (Table 1)。血中抗 *C. trachomatis* 抗体の測定には、セロイパライザクラミジア IgG, IgA を用いた。結果は、血中抗 *C. trachomatis* 抗体陽性症例は、20 例中 14 例で卵管上皮下の線維化を認めた。一方、血中抗 *C. trachomatis* 抗体陰性症例では、卵管上皮下の線維化は、22 例中 7 例であった。この時、血中抗 *C. trachomatis* 抗体陽性症例では、陰性症例に比べて上皮下線維化の発現率は、有意に高率であった (図 3)。以上より、過去に *C. trachomatis* 感染を強く疑う症例では、卵管組織に線維化が存在する可能性が高く、血中 *C. trachomatis* 抗体陽性症例では、慢性卵管炎に伴う卵管障害を考慮することが必要であると思われた¹⁰⁾。

慢性卵管炎に対する診断と対応

卵管性不妊症の原因として卵管炎は、その慢性化により組織障害を引き起こし重篤な卵管機能障害を発症することが確認された。そして、*C. trachomatis* 感染が治癒した後も、線維化を卵管上皮化間質に残存し、不可逆的な卵管狭窄や、輸卵能を障害する粘膜ひだの蠕動運動障害を発症すると考えられた。子宮卵管造影や卵管通水試験などで卵管の卵管閉塞を認めない不妊症

症例であっても、慢性卵管炎の既往歴が存在すると、臨床的に潜在的な卵管障害を十分に考慮する必要がある。さらに、今回の検討では、血中 *C. trachomatis* 抗体価が、慢性卵管炎による卵管の線維化を推測するマーカーになりうる事が確認された。慢性卵管炎の既往を疑う症例や、血中 *C. trachomatis* 抗体陽性の不妊症症例では、卵管鏡などにより卵管内腔の粘膜ひだや線毛上皮の状態の評価を考慮する必要があるといえる。卵管上皮下間質の著しい線維化により卵管狭窄や卵管閉塞に至った不妊症例では、卵管形成術により疎通性は、得られるが、卵管機能の障害は、改善されない。したがって、過去に *C. trachomatis* 又は、*N. gonorrhoeae* による性器感染症の治療歴、PID を疑う臨床症状、血中 *C. trachomatis* 抗体価の上昇などより、慢性卵管炎既往を強く疑う不妊症例では、卵管機能障害の存在を考慮し、早期より IVF-ET を念頭に入れた不妊治療が必要である。また、慢性卵管炎による卵管障害を考慮し、卵管形成術の適応を検討することは、卵管形成術後の妊娠率を、さらに向上する上でも重要である。

さらに、*N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* による性器感染症の診断は、慢性卵管炎を予防する上で、できるだけ早期に行う必要がある。外来診療では、卵管より直接検体採取が困難であり、PCR, LCR, IDEIA PCE など高感度な菌体検査法を行う必要がある。また、*C. trachomatis* の子宮頸管分泌物検査が陰性であっても、症状より卵管炎を強く疑う症例では、*C. trachomatis* 抗体検査法も感染の存在を知る上で有用である。

終わりに

C. trachomatis, *N. gonorrhoeae* による慢性卵管炎症例の増加に伴い、難治性卵管性不妊症患者は、増加すると考えられる。今後は、慢性卵管炎症例を、外来診療において早期発見、早期治療し、卵管障害による不妊症患者の発症の予防を心がけることが期待される。

文 献

- 1) Sellors JW, Mahoney JB, Chernesky MA, et al. (1983) Tubal factor infertility : an association with prior Chlamydia infection and asymptomatic salpingitis. *Fertil Steril* 40 : 451-156
- 2) Sevensson L, Mardh PA and Westorm L (1983) Infertility after acute salpingitis with special reference to Chlamydia trachomatis. *Fertil Steril* 40 : 322-329
- 3) Hanssen PW, Mardh PA, Sevensson L, et al. (1983) Laparoscopy in women with Chlamydial infection and pelvic pain : A comparison of patients with and without salpingitis. *Obstet Gynecol* 61 : 299-303
- 4) Westorm L (1985) Influence of sexually transmitted diseases on sterility and ectopic pregnancy. *Acta Eur Fertil* 16 : 21-24
- 5) 熊本悦明, 他(1999) 厚生省性感染症センテナル・サーベイランス研究班(1999) 本邦における性感染症流行の実態調査(疾患, 性, 年齢別, 10万人・年対罹患率) <1998 年度報告>. *日性感染症会誌* 10 : 40-60
- 6) Patton DL, Moore DE, Spadoni LR, et al.(1989) A comparison of the fallopian tube 's response to overt and silent salpingitis. *Obstet Gynecol* 73 : 622-630
- 7) Wolner-Hansen P.(1995) Silent pelvic inflammatory disease : is it overstated? *Obstet Gynecol* 86 : 321-325
- 8) 野口靖之, 中部 健(1999) 感染症と卵管機能. *産婦治療* 79 : 325-330
- 9) 野口靖之, 中部 健, 藤田 将 他(1999) ヒトの Chlamydia trachomatis 性卵管炎と卵管の線維化に関する検討. *日性感染症会誌* 10 : 168-172
- 10) 野口靖之(1998) Chlamydia trachomatis の骨盤内感染による骨盤内癒着と卵管障害に関する基礎的. 臨床的研究. *愛知医大誌* 26 : 59-70

子宮内膜症と卵管機能

Tubal Assesment or Endometriosis

藤 下 晃

Akira FUJISHITA

宮 村 泰 豪

Yasutake MIYAMURA

カレク・ネワズ・カーン

Khaleque Newaz Khan

北 島 道 夫

Michio KITAJIMA

蓮 尾 敦 子

Atsuko HASUO

増 崎 英 明

Hideaki MASUZAKI

竹ノ下 由 昌

Yoshimasa TAKENOSHITA

浜 崎 哲 史

Tetsushi HAMASAKI

石 丸 忠 之

Tadayuki ISHIMARU

長崎大学医学部産婦人科

Department of Obstetrics and Gynecology,

Nagasaki University School of Medicine, Nagasaki 852-8501, Japan

緒 言

子宮内膜症が不妊を引き起こす機序として機械的因子、腹腔内環境因子、免疫異常あるいは内分泌学的異常などのさまざまな因子が挙げられているが、いまだ十分解明されている訳ではない^{1,2)}。また、不妊因子が特定されていない現状では、内膜症が真に不妊の原因となっているかどうかには疑問視する考えもある^{3,4)}。また、卵管機能を直接あるいは間接的に評価する方法はなく、臨床的には通気法、通水法あるいは子宮卵管造影法（以下、HSGと略す）などで疎通性を判定する方法が一般に行われている。しかし、その評価に関しても false positive や false negative が問題とされ、一般には HSG に比べ腹腔鏡下通色素検査が信頼性が高いとされるが、ルーチン検査法として行うには限界がある。

そこで今回、当科で取り扱った不妊症例を対象とし、非内膜症群と内膜症群において HSG の所見に差がみられるかどうかを比較した。さらに、内膜症患者における腹腔鏡下の通色素検査、卵管所見（癒着、閉塞）および卵管采の形態などを評価し、妊娠率についても検討した。

対象および方法

対象は 1989 年 1 月から 1998 年 12 月までに当科不妊外来を受診し、腹腔鏡検査を施行した患者のうち、

術前に HSG が施行されていた 230 例を対象とし retrospective に解析した。HSG は検査 30 分前に鎮痙剤（ブスコパン 1A、筋注）を投与し、造影剤は油性造影剤（リピオドール）を用い、24 時間後に残存像を撮影し判定した。また腹腔鏡は全例、全身麻酔下に行い、卵管疎通性は子宮腔内に挿入したカテーテルからインジゴカルミン液を注入し、卵管采から色素の流出を確認した。推計学的有意差は student t-test, χ^2 検定および Mann Whitney-U 検定を行った。

結 果

I. 不妊症患者における HSG と腹腔鏡による疎通性の比較。

230 例における患者の平均年齢は 30.4 ± 3.8 歳、原発不妊が 148 例（64%）、続発不妊が 82 例（36%）であり、不妊期間は 45.6 ± 30.7 カ月であった。また HSG から腹腔鏡までの期間は 9.5 ± 12.8 カ月であった。

HSG と腹腔鏡により評価が可能であった 195 例（390 卵管）で検討したところ、HSG にて通過性ありと判断した 257 卵管中 222 卵管は、腹腔鏡下通色素でも通過ありと判定され、positive predictive value は 86%、35 例が false positive であり、false positive rate は 34%（35/104）であった。なお、外妊や附属器腫瘍のため卵管を摘出した症例や通過性が確認できなかった例は不明、その他に分類した。また HSG で通過性なしと判定した 118 例中 69 例は通色素でも通過性なし

表1 HSG と腹腔鏡による卵管疎通性の比較(非内膜症群 VS 内膜症群)

HSG	腹腔鏡下通色素			(非内膜症群 84 例:168 卵管)	
	通過性 (+)	通過性 (-)	不明 その他		
通過性 (+)	68	19	1	false positive rate	26% (19/74)
通過性 (-)	19	55	0	false negative rate	22% (19/87)
不明 or その他	0	0	6	negative p.v.	74% (55/74)

HSG	腹腔鏡下通色素			(内膜症群 111 例:222 卵管)	
	通過性 (+)	通過性 (-)	不明 その他		
通過性 (+)	154	16	6	false positive rate	53% (16/30)
通過性 (-)	30	14	0	false negative rate	16% (30/184)
不明 or その他	0	0	2	negative p.v.	32% (14/44)

表2 HSG 所見別の通色素検査の結果

HSG	通色素検査	非内膜症群 (84 例)	内膜症群 (111 例)
両側開通	両側開通	74% (26)	88% (67)
	一側開通	14% (5)	8% (6)
	両側閉塞	12% (4)	4% (3)
一側開通 (閉塞)	両側開通	38% (6)	50% (8)
	一側開通	31% (5)	50% (8)
	両側閉塞	31% (5)	0% (0)
両側閉塞	両側開通	15% (4)	69% (9)
	一側開通	19% (5)	8% (1)
	両側閉塞	66% (18)	23% (3)

であり, negative predictive value は 58% となったが, 49 例は通色素で疎通性が確認され, false negative rate は 18% (49/271) であり, HSG からみた sensitivity は 82%, specificity は 66% であった.

II. 非内膜症群と内膜症群における比較

不妊症 240 例中, 内膜症以外の不妊原因であったものが 84 例 (以下, 非内膜症群と略す), 内膜症が 146 例であった (以下, 内膜症群と略す). 非内膜症群の内訳は卵管因子が 43 例と最も多く, ついで子宮筋腫および子宮奇形などの子宮因子 12 例, 腹腔鏡でも異常所見を認めなかった原因不明不妊が 12 例, PID11 例およびその他 (PCO など) 6 例であった. 一方, 内膜症群における r-AFS 進行期別内訳は I 期 64 例, II 期 30 例, III 期 22 例および IV 期 30 例であった. 両群間における患者年齢, 経妊-経産回数, 不妊期間, HSG から腹腔鏡までの期間にはいずれも有意差を認めなかった.

(i) クラミジア感染の比較

両群間におけるクラミジア検査をみると, 非内膜症群 84 例中, 抗原検査は 64 例 (76%) に施行しており, 陽性率は 13%, 内膜症群では 90 例 (62%) に施行していたが, 陽性率は 8% であり, 両群間には推計学的な有意差を認めなかった. しかし, 血清抗体価をみると, IgA 抗体陽性率は非内膜症群で 35% (28/80 例), 内膜症群で 11% (12/110 例) と有意に非内膜症群で高く, また IgG 陽性率も同様に非内膜症群で 55% (44/80 例), 内膜症群では 38% (42/112 例) であり, 非内膜症群で有意に高率であった.

(ii) HSG と腹腔鏡による疎通性の比較.

評価可能であった非内膜症群 84 例 (168 卵管) と内膜症群 111 例 (222 卵管) における疎通率をみると, 非内膜症群では false positive rate が 26% (19/74) であったのに対し, 内膜症群では 53% (16/30) であった. また negative predictive value, すなわち HSG で閉塞と判断し, 実際の腹腔鏡で閉塞と診断した率は非内膜症群で 74% (55/74) であったのに対し, 内膜症群では 32% (14/44) であった (表 1). さらに, HSG の所見別に両側開通例, 一側が開通あるいは閉塞例および両側閉塞の 3 通りに分けて, その後の腹腔鏡下通色素検査でどのように変化したかを検討したところ, HSG で両側閉塞と診断され, 実際に通色素で両側開通していたものが, 非内膜症群では 4 例 (15%) であったのに対し, 内膜症群では 9 例 (69%) と高い傾向にあった. また, HSG で両側閉塞と診断され, 通色素でも両側閉塞していたのは非内膜症では 18 例 (66%) であったのに対し, 内膜症群では 3 例 (23%) であり, 内膜症群における両側閉塞例は少ないことが示された (表

表 3 内膜症進行期別の卵管通色素結果

r-AFS 進行期 (症例数)	年齢 (平均 ± SD)	両側 開通 (%)	両側 閉塞	一側 閉塞	その他
I 期(64)	31.1 ± 3.3	49(77%)	3	8	4
II 期(30)	29.6 ± 4.4	27(90%)	1	1	1
III 期(22)	30.5 ± 4.3	20(91%)	1	1	0
IV 期(30)	30.3 ± 2.9	18(60%)	1	6	5
計(146)	30.4 ± 3.7	114	6	16	10

2).

III. 内膜症群における腹腔鏡所見

(i) 腹腔鏡下通色素検査

内膜症 146 例における r-AFS 進行期別の平均年齢は I 期 31.3 歳, II 期 29.6 歳, III 期 30.5 歳, IV 期 30.3 歳と各群間に差を認めなかった。I 期において両側卵管開通率は 77% (49/64 例), II 期 90% (27/30 例), III 期 91% (20/22 例) および IV 期 60% (18/30 例) であり, 全体では 78% (114/146 例) の症例に両側卵管の疎通性が認められた(表 3)。また軽症例のなかには, HSG 上脈管像を認め, 実際の腹腔鏡時に子宮角部および卵管間膜の血管内が青色に着色し, 閉塞と診断した症例も存在した(図 1)。

(ii) 腹腔鏡下卵管および卵管采所見

腹腔鏡施行時に卵管が正常であったのは, I 期では 87% (111/128 卵管) であり, 同様に II 期 88% (53/60), III 期 62% (26/42) および IV 期 63% (25/40) となり, III 期および IV 期では PTA (卵管周囲癒着) の頻度も多くなり, IV 期ではチョコレート嚢胞に伴う癒着も高度となっていた。また, 卵管の延長はそのほとんどがチョコレート嚢胞の存在によるものであったが, 卵管留水腫は II 期に 1 卵管, IV 期で 3 卵管に認められた(表 4)。

次に卵管采の所見を検討した結果, 正常形態を呈していたのは I 期 94% (120/128 卵管), II 期 98% (59/60), III 期 93% (41/44) および IV 期 70% (42/60) であった。なお IV 期例でその他の所見(不明を含む)が多くみられたが, この多くはチョコレート嚢胞の存在により卵管采の形態が確認できなかった例であった(表 5)。

IV. 併用療法および妊娠率の比較

非内膜症群と内膜症群に関しての併用療法をみると, 非内膜症群では, 卵管障害による不妊症例が多かったことから, microsurgery を併用した頻度が 31% (26/84 例) と内膜症群の 2% (3/146 例) に比べ有意に高

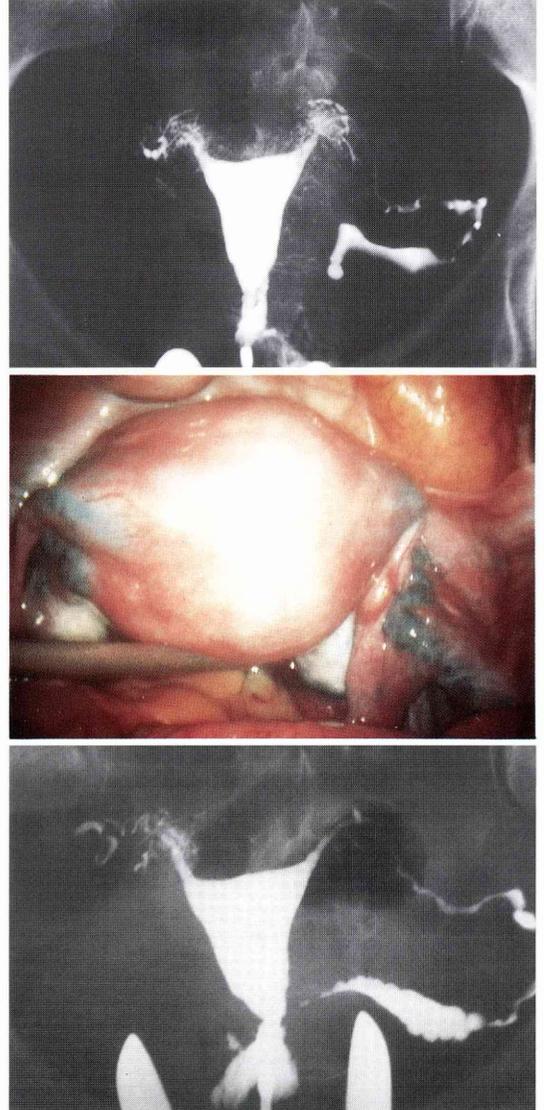


図 1 間質部内膜症が疑われた症例における HSG および腹腔鏡所見

上段はルーチン検査における HSG 所見であり, 両側子宮角部に脈管像を認める。中段は腹腔鏡時の通色素検査であり, 両側子宮角部が青変し, 卵管周囲の血管内が青変していた。本例は骨盤腹膜に表在性病変を認め, 内膜症 I 期と診断し, 術後ダナゾールを 3 カ月投与した。下段はダナゾール投与後の HSG であり, 左脈管像は消失し, 疎通性も改善されている。

値であった。IVF 併用率をみると非内膜症群 13% (11/84) と内膜症群 13% (19/146 例) に差を認めなかった。妊娠率は非内膜症群で 25% (21/84) であったのに

表4 内膜症進行期別の卵管所見

進行期	正常	PTA		屈曲 蛇行	延長	HYD	その他
		filmy	dense				
I 期 (右)	55	3	1	0	1	0	4
	(左) 56	1	1	4	0	0	2
II 期 (右)	27	2	0	1	0	0	0
	(左) 26	2	0	1	0	1	0
III 期 (右)	14	5	1	0	2	0	0
	(左) 12	6	1	0	3	0	0
IV 期 (右)	14	5	5	0	2	1	3
	(左) 11	10	3	0	2	2	2

表5 内膜症進行期別の卵管採所見

進行期	正常	PFA		閉塞	その他 (不明を含む)
		filmy	dense		
I 期 (右)	59	0	0	1	4
	(左) 61	0	0	2	1
II 期 (右)	30	0	0	0	0
	(左) 29	1	0	0	0
III 期 (右)	21	0	0	1	0
	(左) 20	1	0	1	0
IV 期 (右)	20	1	1	2	6
	(左) 22	1	1	0	6

表6 併用療法および妊娠率の比較

	非内膜症群 (84 例)	内膜症群 (146 例)
microsurgery 併用	26 例 (31%)*	3 例 (2%)*
IVF 併用	11 例 (13%)	19 例 (13%)
妊娠例	21 例 (25%)*	69 例 (47%)*
妊娠回数	25 回	88 回
妊娠の転帰		
外 妊	4 回 (16%)	1 回 (1%)
流 産	2 回 (8%)	15 回 (17%)
早 産	1 回 (4%)	3 回 (3.5%)
正期産	18 回 (72%)	66 回 (75%)
フォロー中	0 回	3 回 (3.5%)

(* χ^2 検定, $p < 0.05$)

対し、内膜症群では 47% (69/146) と、有意に内膜症群での妊娠率が高率であった。また、のべ妊娠回数は非内膜症群で 25 回、内膜症群で 88 回であり、妊娠の転帰をみると非内膜症群では外妊の発生率が高く、内膜症群では流産率が高い傾向にあったが、推計学的有意差は認めなかった (表 6)。また、内膜症群における妊娠率は、IVF を除き、また他の不妊因子を除いた修正妊娠率でみると、I 期 65% (31/48 例)、II 期 54%

(13/24)、III 期 61% (11/18) および IV 期 50% (11/22) であり、進行期別に有意差を認めなかった。

考 察

子宮内膜症が不妊を引き起こす機序として、内膜症が進行すれば、卵管および卵巣を巻き込み、解剖学的な位置異常や癒着をきたし、卵の pick up 障害や排卵障害をきたすことが予想される。しかし、軽症の内膜症例では卵管疎通性が保たれていることが多く、これらの場合の不妊因子としては、腹腔内マクロファージ (Mφ) や種々のサイトカインが注目されており、私どもは腹腔内環境の異常が不妊原因の一つではないかと考えている⁵⁾。

今回、非内膜症群と内膜症群に分けて、一般に不妊のルーチン検査として行われている HSG と通色素検査について retrospective に解析した結果、非内膜症群では false positive rate が 26% であったのに対し、内膜症群では 53% であった。すなわち、HSG で通過していたけれども腹腔鏡下の通色素で閉塞と診断された頻度が内膜症で高かった。その理由は不明であるが、内膜症群では HSG 施行後から通色素検査までの期間に、卵管が閉塞するような状態をきたしたのかもしれない

い、また、negative predictive value, すなわち HSG で閉塞と診断し、実際の通色素検査で閉塞と診断した率は非内膜症群で 74%, 内膜症群で 32% と低かった。これは、非内膜症群での不妊原因としては卵管因子による症例が多く、いったん閉塞をきたしたものは通色素検査でも閉塞が改善されることは少ないことが考えられる。また、内膜症群では逆に HSG で両側閉塞と診断されても、通色素検査で閉塞していた症例が少なかったことから、内膜症群では実際に卵管閉塞をきたす頻度は少ないけれども、非内膜症群に比べ HSG 上の読影が難しいのかもしれない。なお、通色素検査で、軽症の内膜症 (I 期) で両側ないし一側閉塞と診断した頻度が 17% (11/64 例) であり、これらのなかには HSG 上両側子宮角部に脈管像を認める例が存在した。Haney ら⁶⁾は子宮卵管角部あるいは近位卵管閉塞症例に対し、顕微鏡下の卵管形成手術を行い、切除した卵管を組織学的に検討した結果、14% に内膜症が認められたと述べている。また、Karande ら⁷⁾は不妊症を対象とし、選択的卵管造影検査を施行したところ、内膜症では正常群に比べ、高い通水圧が必要であったことを報告し、近位卵管閉塞例のなかには卵管内膜症が存在する可能性を示唆している。自験例では組織学的に検討できていないため詳細は不明であるが、薬物療法で改善した例もみられたことから、間質部あるいは卵管近位部の内膜症であった可能性も考えられる。同様に、Muneyirci-Delate ら⁸⁾は、両側近位卵管閉塞と診断した 23 例に対し、GnRH-analogue あるいは Danazol などの薬物を 3 カ月投与している。このうち 15 例 (65%) に骨盤内の内膜症がみられ、治療後、23 例中 16 例 (69.6%) は少なくとも一側の卵管が開通し、その後 9 例 (39%) が妊娠したことから、両側卵管閉塞例に対して、短期間のホルモン療法も試みて良い手段ではないかと述べている。

腹腔鏡下の卵管の所見別に検討した結果、軽症内膜症 (I 期および II 期) では 87% (164/188 卵管)、重症内膜症 (III 期および IV 期) では 62% (51/82 卵管) が正常卵管であり、内膜症が進行しチョコレート嚢胞を形成した場合には卵管周囲癒着、卵管の延長などの所見を伴ってくるが、軽症例でみられた卵管周囲癒着や卵管の屈曲、蛇行などの障害は同時に合併していたクラミジア感染などによる PID によるものと考えられた。また、卵管采の形態では I 期から III 期までは、95% (220/232) が正常形態を呈していたことから、チョコレート嚢胞を合併した IV 期例では、卵管采の確認

ができない症例が比較的多いものの、phimosi あるいは卵管采周囲癒着を形成する頻度はそれほど高率ではなく、内膜症性不妊患者では卵管采の形態異常を伴う頻度は比較的小さいことが示された。

今回の成績から、妊娠率に関しては、内膜症群は非内膜症群に比し妊娠率が高い結果となり、内膜症群では r-AFS 進行期別の妊娠率にも差を認めなかった。チョコレート嚢胞の存在により、卵管の癒着、延長などをきたしたり、卵管留水腫や卵管采まで巻き込んだ症例では卵の pick up 障害や排卵障害をきたす可能性も考えられるが、以前の私どもの成績^{2,5)}からもチョコレート嚢胞 (長径が 9cm 以下) が存在しても、卵管に障害が及んでいない内膜症であれば、妊孕能を低下させることはなかった。また、今回の検討でも、腹腔鏡で確認できた内膜症では、卵管の異常所見を伴う頻度は重症例でも 40% 程度であったことから、内膜症合併不妊患者に対しては、腹腔鏡下により骨盤内を観察し、卵管を評価することが重要と思われる。

まとめ

子宮内膜症における卵管機能を評価するためには、最終的には腹腔鏡検査を行い、疎通性の有無を確認するとともに、内膜症病巣が存在すれば病巣を除去し、癒着などがあれば可能な限りの癒着剥離を行い、腹腔内の洗浄および吸引などの処置を行うことが妊孕能を回復する方法の 1 つと思われた。

本内容の一部は、第 44 回日本不妊学会ワークショップ「卵管の機能とその異常」において発表した。

文 献

- 1) Seibel MM and Zilberstein M (1997) Endometriosis; mechanisms of infertility. Endometrium & endometriosis, Diamond MP, et al. (eds), Blackwell Science, Massachusetts, pp182-187
- 2) 藤下 見, 石丸忠之 (1999) 子宮内膜症と不妊. 産婦治療 78: 165-170
- 3) Bérubé S, Marcoux S, et al. (1998) Fecundity of infertile women with minimal or mild endometriosis and women with unexplained infertility. The Canadian Collaborative Group on Endometriosis. Fertil Steril 69: 1034-1041
- 4) Thomas EJ (1995) Endometriosis, 1995: confusion or sense?. Int J Gynae and Obstet 48: 149-155
- 5) 石丸忠之, 藤下 見, 他 (1997) 子宮内膜症性不妊

- に対する腹腔鏡下処置・手術の意義. 産と婦 64 : 714-721
- 6) Haney AF and Fortier DE (1982) Observations on the pathophysiology of uterine-tubal junction obstruction. Fertil Steril 37 : 293-294
- 7) Karande VC, Balin M, et al. (1995) Elevated tubal perfusion pressure during selective salpingography are highly suggestive of tubal endometriosis. Fertil Steril 64 : 1070-1073
- 8) Muneyyirci-Delate O and Karacan M (1999) Hormonal treatment of bilateral proximal tubal obstruction. Int J Fertil Womens Med 44 : 204-208
-

卵管鏡による卵管機能の評価

Falloposcopic Evaluation for Tubal Function

末 岡 浩

Kou SUEOKA

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

Department of Obstetrics and Gynecology,

Keio University School of Medicine, Tokyo 160-0016, Japan

近年、微細な卵管内視鏡とそれを卵管内に安全に導くカテーテルを組み合わせた卵管鏡下卵管形成 (falloposcopic tuboplasty: FT) カテーテルシステムが開発され、子宮側からのアプローチで卵管内腔の全域を観察し、同時に内腔の癒着も剥離することが可能となった。治療対象とした両側卵管閉鎖では、約半数例が多発性部位の閉塞であった。また、各部位の内でもさらに、限局する癒着が多発性に存在する例が多く、実質的な卵管内癒着の発生は単一で限局するものは極めて少ないことが示された。妊娠例の術前の HSG による閉塞部位からみると、間質部の閉塞症例が 75.9% を示し、峽部を加え、近位閉塞例が多くを占める結果となった。HSG では最も近位部の閉塞箇所の確認しか行うことはできないが、FT 治療による近位部閉塞箇所の通過性回復を終えた後に、それより末梢側に膨大部の癒着による卵管留水症が認められた例が少なからず存在した。また、両側同じ位置に閉塞を有する例が多いことを示した。対象となった両側卵管閉塞のクラミジア抗体陽性者割合は、検査を施行した 190 例中 68 例 (35.8%) を占めた。卵管通過性回復成績はクラミジア陽性者に低い傾向を示したが、有意差は認められなかった。しかし、とくにクラミジア抗体価が高値である例では卵管内腔のみならず卵管采癒着や卵管周囲癒着など外方の癒着を生じていることが多く、卵管機能の評価には卵管内腔と外面の両面からの評価が必要である。卵管鏡によって診断できる情報には各卵管部位による内腔面の色調、構造、癒着の有無と癒着組織の状態、卵管留水症などがあり、これらの病態を把握することによって、その先の治療方針を決定することの一助となる。卵管鏡による内腔病態の観察を行い、①癒着による癒着、②線維性癒着、③血液循環の低下、④卵管上皮の非薄化、とくに卵管ひだの消失などが主な病態と判断された。再閉塞による重複症例施行時の 1 回目 FT で通過性改善がみられた多発性閉塞症例の検討では、①、②、③は FT 治療後の再上皮化により改善を示した。

キーワード: falloposcopic tuboplasty (FT), 卵管通過障害, 卵管留水症, クラミジア, 再上皮化

(日不妊会誌 46:37-42, 2001)

緒 言

卵管機能とは妊娠成立に関わる機能が全てである。それゆえ、女性側の不妊原因のなかで、卵管不妊は最も頻度が高く、その病態も多様である。卵巣から排卵した卵子を卵管采で回収し、卵管蠕動運動によって卵子を子宮側へ運搬していく一方で、精子は子宮側から卵管を逆行し、膨大部での受精、そして約 1 週間にわ

たる胚成長に至る幅広い生殖環境を提供している。すなわち、配偶子の出会いと成長の場を司る重要な環境因子としての役割を担っている。この卵管の妊娠成立における機能を大別すると①卵管通過性、②卵子採取能、③卵管内の生殖細胞環境、④卵管運動性、に分けることができる。この卵管の機能をさらに卵管内腔と外側の機能に分類すると卵管外方の機能は卵子の採取能および卵管の蠕動運動による胚の輸送機能であり、

ほかの多くの機能は卵管内腔側の機能である。

これに対して、卵管の検査として従来より、通気・通水・子宮卵管造影(hysterosalpingography:HSG)が行われ、それに加えて腹腔鏡および色素通水が治療を兼ねての手法として実施されてきたが、機能面からの詳細な情報を得ることは卵管が細長く蛇行する微細な構造をもつことから困難と考えられ、新たな技術の開発が待たれてきた。また、卵管内腔の病変を直接把握し、さらに治療することは困難であり、また多発性閉塞の場合に従来の方法では最も近位側の閉塞によって、それより末梢側の状態を把握できないなどの問題点が指摘されてきた。

医療技術の進歩は細長く蛇行する卵管の内腔の病態を観察し、治療に導く新たなカテーテル機器の開発を導いた。それによって観察が可能となった卵管内腔の病態と卵管の妊孕性について検討した。

方法・器材

1) 卵管鏡システム

卵管内視鏡は卵管内腔病態を直接観察するために、古くから卵管采側から挿入する微小内視鏡が考案されてきたが、卵管内腔全体にわたり挿入することは不可能であり、また、卵管采側から挿入するものであり、あまり実用的なものではなかった。低侵襲な子宮側から挿入する新たな構造の卵管鏡システムが開発され、内腔観察と、同時に閉塞に対する治療が可能となった。卵管鏡下卵管形成(falloscopic tuboplasty:FT)法は円筒状の伸長性バルーンカテーテル(linear eversion(LE) catheter)とその内側に微細でフレキシブルなファイバースコープである卵管鏡(falloscope)を組み込んだシステムで、卵管内の観察を目的として開発されたが、本邦では卵管通過障害の治療目的として導入された^{1,2)}。

卵管内を伸長して安全にスコープを卵管内へ導入するLEバルーンカテーテルは外径1.2mmであり、そのなかに挿入する卵管鏡システムは、0.5mm径2000画素のファイバースコープ、CCDビデオカメラ、テレビモニター、光源装置、灌流ポンプから構成されている。カテーテルの内側には卵管鏡を挿入し、CCDカメラ、光源に接続する。卵管形成の際には内筒を押し込むことでバルーン部分が内側より卵管内へ前進し、卵管内腔面を傷つけることなく前進することができる。本法は開発当初、腹腔鏡下の補助操作を行うことで安全性

の確認なども行ったが、副作用も認められず、侵襲性の低い方法でNLA麻酔の下にFT単独で操作することができる。

2) 操作法

まず、経頸管的にカテーテルを子宮腔内に挿入した後、子宮側卵管口にカテーテル先端を押しつけておき、次いで卵管鏡を用いて子宮側卵管口で確認する。カテーテル外筒を専用腔鏡(スペキュラム)と単鉤鉗子(タナキュラム)に固定し、前進操作を開始する。基本的にはバルーンカテーテル部分を1目盛ずつ前進させるが、スコープがカテーテルよりも2倍の距離で同時に前進するため、スコープを引き戻しながらカテーテルの前進操作を行う。子宮側ですでに閉塞しているために子宮側卵管口を確認できないときは、子宮卵管角部の陥凹部にカテーテル先端を当てて、抵抗感の程度を目安に前進操作(blind eversion)を開始する。

バルーンの拡張内圧は、バルーン前進時には6気圧以上、卵管鏡を動かす際は2気圧に調節して操作を行う。カテーテル前進時に閉塞が強固で卵管内を通過できないときにカテーテルがつぶれる現象(パンチング)が生じたときは2気圧のままスコープを前進させながら、カテーテルを引き戻すように操作するパンチングの解除を行ったうえで再度前進操作を施行する。また、パンチングを繰り返すときは、カテーテル内圧を漸次増加させて前進操作を行う^{3,4)}。

卵管内腔の観察はカテーテル前進時に断続的に行うことも可能であるが、主に前進終了後にカテーテルを後退させる際に連続的に観察を行う(retrograde imaging)。

結 果

卵管鏡下卵管形成は卵管通過障害に対して適応とされる治療法であり、その際に観察される内腔所見から卵管の病態を把握し、さらに妊娠の成立をみることでその妊孕性を評価することになる。以下に卵管内腔の正常および病的所見、卵管通過障害の治療成績、さらにそれによってもたらされた妊娠例からの卵管内腔の妊孕性について成績を示す。

1) 卵管内腔所見

卵管の内腔は間質部、峽部、膨大部で構造や広さなど特徴的な所見を有している。卵管内腔の所見を評価するうえで観察すべき病的状態を表1に示す。主たる評価項目として内腔癒着とその性質、卵管の拡張、卵管ひだの構造、血管・炎症像、そして病変の部位と数、

表 1 卵管内病態の評価

1) 内腔癒着	①閉鎖 ②狭窄
2) 癒着の性質	①肉芽性癒着 ②線維性癒着 ③膜状癒着
3) その他の所見	①拡張(卵管留水症) ②卵管ひだの菲薄化, 消失 ③血管像 ④炎症所見
4) 病変部位	①間質部 ②峡部 ③膨大部
5) 病変の数, 拡がり	①単発性—③広汎性—⑤片側性 ②多発性—④限局性—⑥両側性

拡がりなどについて分けて評価した。

1. 子宮側卵管口・卵管間質部：正常の子宮側卵管口は月経後の卵胞期の初期であれば増殖期の子宮内膜の肥厚がまだ充分にみられず、円孔状に観察される。黄体期になると分泌期の子宮内膜は肥厚して子宮側卵管口の位置や所在を見つけづらいことがある。

これに対し、子宮卵管角からの卵管閉鎖の場合は、子宮側卵管口が全く観察できないが、または、cornual gutter の先に子宮側卵管口の痕跡状のくぼみ状の所見が観察される、また、間質部の内腔の遠景を観察することが難しいことがある。この閉鎖を解除した後に、子宮側卵管口では癒着組織に生じた裂孔状または円孔状の亀裂が観察されることが多い。

FT 治療によって卵管内腔の癒着部分を剥離後、retrograde imaging 操作で観察すると、剥離して遊離した癒着組織の断片が灌流によってはためく動きが観察される。

2. 卵管峡部：峡部内腔の正常所見は断面は円形であり、内膜の肥厚はない。色調は白色に近い淡桃色であり、通常血管像は観察されない。癒着を剥離すると癒着組織の剥離断片が観察され、時に線維性癒着の像を観察することがある。峡部はカテーテルの伸展距離にして子宮側から約 2.5~5cm 程に多くが位置する。retrograde imaging で卵管内へ伸展した後に観察する所見とは別に、カテーテルの前進時に剥離する前の内腔癒着を観察することがあり、この際、時に子宮卵管造影法で通過性が認められる部位であっても部分的に癒着して生じた卵管狭窄を観察することがある。癒着部分の色調は白色ないしは黄白色を示す。

3. 卵管膨大部：膨大部の内腔はほかの部位と異なり、卵管内腔は広く、管壁には卵管ひだが密に並び、

表 2 FT による卵管通過性回復成績

	評価時	実数	回復率(%)
卵管別	術中	460/519	88.6
	術後 HSG	440/519	84.8
患者別	術中	263/274	96.0
	術後 HSG	252/274	92.0

灌流に対して柔軟に波動状の動きを示す。色調は淡桃色で、時に血管像を観察することがある。

卵管留水症では膨大部の内腔は拡張し、暗い視野として観察される。異常所見として卵管ひだが部分的ないしは全体に、硬化や消失、菲薄化がみられることがあり、その際には血管像をより多く観察する。

4. 卵管形成後の second look falloposcopy 所見：卵管内癒着による通過障害部位を FT システムにより卵管形成を行い、再度通過障害を生じた例を対象に反復 FT 治療を施行し、その際の卵管内腔所見を検討した。再癒着を生じた部分は肉芽様ないしは線維性の癒着を生じ、初回の内腔所見と同様の所見を示したが、多発性病変のうち通過性を修復しえた部位の内腔は再上皮化し、線維性癒着でも卵管間質部および峡部では癒着を残さず修復されていた。卵管膨大部の卵管ひだは硬化や菲薄化などが観察されたが、内腔所見の改善が認められた。

2) 卵管鏡下卵管形成の治療成績

子宮卵管造影によって両側の卵管閉塞と診断され、次いで子宮鏡下選択的卵管通水を行って、攣縮による機能的卵管閉塞を除外した器質的癒着による卵管内腔閉塞患者に対して卵管鏡下卵管形成を行った。卵管通過性回復成績は、卵管ベースで 88.6% を示し、このうち術後 1~3 カ月後の子宮卵管造影による再閉塞は約 4% であった。少なくともいずれかの卵管の疎通性を回復した患者ベースの治療成績はおのおの 96.0%、92.0% に達した(表 2)。卵管の閉塞部位間に治療成績の差は認められなかった⁵⁾。卵管閉鎖症例のなかで間質部閉塞は最も高頻度に発生し、単一の部位のみならず、多発性の卵管内病変を有する例が確認されたものでは卵管閉鎖症例の少なくとも約半数に存在することが確認された。

この母集団におけるクラミジア抗体陽性者は 35.9% を示し、一般人口統計の罹患率より 2 倍高頻度である。クラミジア抗体陽性者と陰性者間の通過性回復成績に有意な差は認められなかったが、陽性者に再閉塞発生

表3 妊娠例におけるHSG上の閉塞部位の分析

両側卵管の 病変部位	妊娠例		非妊娠例	
	症例数	構成比 (%)	症例数	構成比 (%)
間質部・間質部	33	75.0	95	50.0
間質部・峽部	7	15.9	54	28.4
峽部・膨大部	4	9.0	41	21.6
合計	44	100	190	100

表4 妊娠例におけるFT治療時の閉塞部位

治療部位(cm)	治療閉塞数	構成比(%)
0～2.5(間質部)	95	52.4
2.5～5(峽部)	42	23.2
5～10(膨大部)	44	24.3
合計	181	100

率が高い傾向を示した。

3) 妊娠成立例における卵管内腔病態

卵管内腔に病変を有する通過障害例について、卵管鏡下卵管形成を施行した後の妊娠成立例から、卵管の妊孕性と内腔所見との関わりについて検討した。

卵管通過障害の治療によって成立した妊娠例の分析では、非妊娠例と比較して患者年齢や不妊期間にも有為な差は認められず、また、内腔所見の質的な評価に特徴が認められたこともなかった。治療後2年以上を経過した例でその妊娠率は約30%であった。卵管内癒着の頻度は妊娠・非妊娠群の全治療例で卵管間質部、峽部、膨大部の順に近位部多く発生していたが、妊娠例については両側の卵管通過障害部位の組み合わせが間質部・間質部、間質部・峽部、峽部・膨大部の順に多く成立し、その頻度は約75%、16%、9%(表3)であった。この頻度から近位部の通過障害は多く発生しているが、通過性の改善によって妊孕性の回復は良好であり、一方、遠位部の病変では妊孕性の回復が得づらいことを示した。また、妊娠例におけるFT治療施行時に確認した閉塞部位の延べ数は、間質部が約1/2、峽部・膨大部が各1/4を占めた(表4)。卵管通過障害を来す通過障害の対象患者のクラミジア抗体陽性率が36%であったのに対し、また、クラミジア抗体価が高値を示す例では卵管采癒着、卵管周囲癒着など卵管の外側の癒着が多く発生していた。卵管末梢部分の通過障害に対して新たな方法として経卵管采卵管鏡下卵管

形成(transfimbrial FT: TFFT)を腹腔鏡下に行った結果、2年以内の経過で16.7%の妊娠率を得たが、クラミジア抗体の陽性率は67%に及んだ⁶⁾。

考 察

卵管機能を評価するうえで従来の方法では直接観察ができず、実際の所見から評価することができない点が最大の問題であった。卵管機能検査として用いられてきた子宮卵管造影や通気・通水・腹腔鏡下の色素通水などは、いずれの方法も卵管の内腔面を評価するものではなく、主として卵管の通過性を確認するための方法として施行されてきた。

しかし前述したように、卵管機能には卵管通過性、以外にも卵子の採取能や卵管内環境、卵管運動による生殖細胞の運搬能など多くの機能がある。従って、卵管通過性以外の妊孕性に関わる卵管内腔面の評価と治療は重要であり、また、これらの機能検査は、必ずしも単一の方法では確実な情報を得ることが困難なことが多く、種々の検査法を使い分けることによって判断されてきた。その意味からも卵管鏡による観察は治療とともに新しい概念を作り出す可能性を含んでいる。

その1つは多発性病変である。卵管通過障害患者の卵管内病変の少なくとも半数は多発性病変を有し、さらに左右ともに近似した部位に病変をもつことが多いことが指摘された。

次に、卵管通過性を従来の方法で認めたとしても、卵管内腔の部分は癒着により狭窄をきたしている例が少なからず存在していることが示された。通過性が認められた場合にも必ずしも妊孕性に問題がないと帰結できないことを示したことになる。

この一部が子宮外妊娠の成立原因となりうることも示唆され、子宮外妊娠の発生と卵管内病態との関わりを明らかとするうえでも卵管鏡の意義は大きい。

実際の卵管内腔所見は多様であり、卵管膨大部の卵管ひだの構造が再生する能力は認められないが、治療によって明らかに内腔所見の改善が認められる。とくに、卵管間質部や峽部の内腔病態は癒着を剥離すると再上皮化し、数カ月後以降のsecond lookの卵管鏡所見では線維性癒着でも瘢痕をほとんど残さない程度に修復されていることが観察される。この内腔所見の改善がすなわち妊孕性の回復につながることは断言できないが、治療方針の決定に少なからず有益な情報を与えうる。卵管の妊孕性の意味からの機能を評価することによって卵管病態の可逆的な変化については卵管を通

じての妊娠努力を指針とし、不可逆的な変化については体外受精の適応とする新たな卵管治療の位置づけができると考えられる。

結 語

体外受精の急速な普及によって本来の卵管機能の評価と治療の開発が遅れ、近年に至ってようやく新たな技術の開発による系統的な治療指針が築かれようとしている。

管腔臓器である卵管は通過性のみがその機能ではなく、妊孕性という最大の役割についての評価と治療がさらに前進するために、卵管内視鏡の技術や機器が普及することは体外受精の適応を再考することにもなり、本来の病態に対する治療法の次なる進歩を促すことになるであろう。

文 献

- 1) Kerin J, et al.(1992) Falloposcopic clasification and treatment of fallopian tube lumen disease. *Fertil Steril* 57: 731-741
- 2) 末岡 浩, 他 (1994) 卵管鏡下卵管形成 (FT) システムの臨床評価. *基礎と臨床* 28: 3001-3013
- 3) 末岡 浩, 他 (1995) 新構造の卵管鏡システムを用いた卵管形成法の操作技術と適応についての考察. *日不妊会誌* 40: 238-243
- 4) Sueoka K, et al.(1998) Falloposcopic tuboplasty for bilateral tubal occlusion. A novel infertility treatment as an alternative for *in-vitro* fertilization? *Hum Reprod* 13: 71-74
- 5) 末岡 浩, 他 (1998) 卵管鏡下卵管形成 (FT) の治療技術とその成績. *産婦人科の世界* 50: 11-18
- 6) 末岡 浩, 他 (1999) 経卵管采卵管鏡下卵管形成 (TFFT) の有効性. *日受着会誌* 16: 200-203

Falloscopic Evaluation for Tubal Function

Kou Sueoka

Department of Obstetrics and Gynecology,
Keio University School of Medicine, Tokyo 160-0016, Japan

Falloscopic tuboplasty (FT) system has been recently developed for observation of tubal lumen and simultaneously for the treatment of tubal occlusion. The linear eversion catheter guides safely falloscope by approaching from uterine side. As a result, multiple occlusions have been observed in at least half cases of tubal occlusion. The case of intramural occlusion has been seen in 75.9% of the pregnancy cases following FT treatment. Occlusive preoperative HSG was occupied mostly by proximal portion in pregnancy cases. Although preoperative HSG could afford to confirm only most proximal occlusion part, the case that existence of hydrosalpinx due to ampullar adhesion was recognized after having recovery of tubal patency of proximal occlusion by FT treatment was not a few. Majority of the cases had occlusions in similar portion in bilateral tubes. The incidence of Chlamydia infection which was serological positive, was 35.8% (68/190) in patients with occlusion in bilateral tubes. The rate of tubal patency recovered tended to be lower in the patients of serological Chlamydia positive than those of negative, but the significant difference was not recognized. But, in the cases with high value of Chlamydia antibody, outer adhesion of fallopian tubes such as perifimbrial adhesion or peritubal adhesion existed frequently in addition to the adhesions in tubal lumen. It is shown that observation of not either but both inside and outside is important to evaluate tubal function. In the information that can be checked by falloscope, color, structure (in each part of fallopian tubes), adhesion, and hydrosalpinx become a helpful information to decide the treatment plan. By falloscopic observation (1) adhesion scar, (2) fibrous adhesion, (3) hypovascularity, (4) thinning or flattening of tubal fold were seen as major pathological conditions of tubal lumen. Since FT treatment was repeatedly performed for the cases produced reocclusion, reepithelization was seen in the part that patency was recovered by the first time FT, and the findings of tubal lumen were improved.

Key words : falloscopic tuboplasty (FT), tubal occlusion, hydrosalpinx, Chlamydia infection, reepithelization

(Jpn J Fertil Steril 46 : 37-42, 2001)

ARTの最前線

—生殖医療における配偶子・受精卵診断—

Genetic Diagnosis of Gametes and Embryos Resulting from ART

雀 部 豊

Yutaka SASABE

東邦大学医学部産科婦人科学第1講座

1st Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,

Toho University, Tokyo 143-8541, Japan

1990年にHandysideら¹⁾によって初めて妊娠例が報告されたPreimplantation genetic diagnosis (以下PGD)の技術は、当初遺伝性疾患の診断に用いられてきた。ところが最近欧米において、この技術を用いて得た胚の染色体情報によって、胚の生存性を評価する試みが行われている。Munneら²⁾によるとこの方法により、着床後の流産を減らすことが可能であり、結果として継続妊娠または生産率を向上させることができたと報告している。このように、胚の遺伝情報を引き出すことが可能なPGDの技術は、生殖医療の様々な場面で有効活用されている。

本ワークショップでは、生殖医療においてPGDの技術を有効活用するための3つのストラテジーについて報告を行った。

今回検討に用いたヒト胚は、当科においてARTを施行し、インフォームドコンセントの得られた夫婦から提供された余剰胚、すなわち移植にも凍結保存にも用いられなかった胚である。また、診断を行った胚は、移植に用いていない。

1. 基本ストラテジー：胚の倍数性を診断する

遺伝的変異がある生物集団の生存上・生殖上の適応性を低下させる状態を遺伝的荷重 (genetic loading) とする。この遺伝的荷重の重さにより、胚を3つのグループに分けて考えた(図1)。すなわち、遺伝的荷重が重度、つまり出生の可能性が無い胚、遺伝的荷重が中等度、つまり出生の可能性はあるが、表現型が異常となる胚、遺伝的荷重が軽度、つまり表現型に異常は無いが、将来生殖上の問題点を抱える胚、である。

我々は、体外受精胚にどの程度、遺伝的荷重が重度な胚が含まれているかを検討した。

対象および方法：51症例(conventional IVF:18例, ICSI:33例)より得られた130個の胚(conventional IVF:59個, ICSI:71個)について検討した。症例の平均年齢は33±4歳、胚の内訳は、Day3に割球が4個以上ありかつVeeck分類³⁾grade1または2の良好胚23個(18%)、24時間以上発育が停止またはVeeck分類grade5の不良胚31個(24%)、どちらにも属さない中等度胚76個(58%)であった。採卵後1日目に正常受精が確認された胚を、採卵3日目に、13/18/21/X/Y染色体特異的プローブを用いたfluorescence in situ hybridization (FISH)にて解析した。

結果：胚の基本的倍数性(異数性は考慮していない)は、chaoticモザイク胚(秩序の無い高度なモザイク胚)13%、モザイク胚(倍数性の異なる細胞系列が2つ以上存在する胚)13%、4倍体3%、3倍体4%、1倍体4%、2倍体63%であった。

考察：ヒトの場合、得られた正常受精胚をすべて解

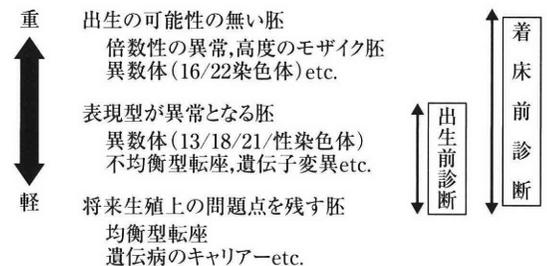


図1 遺伝的荷重 (genetic loading) による分類

表 1 自然流産する可能性の高い胚を診断する

胚	生検割球の診断	胚全体の診断
1	XX + 16* X	Chaotic mosaic
2	XX + (13/21)	Trisomy 13 or 21
3	XXY + 18 + 2(13/21) + 16 + 22	Triploid
4	XXX XX + 18	Diploid mosaic*
5	XX - (13/21) XX	Diploid mosaic
6	XY + (13/21) + 16 XY + (13/21) - 16	Mosaic
7	XY XY	Diploid
8	XXY + 16	Chaotic mosaic
9	XX - 18 - 3(13/21) - 16 - 22	Mosaic
10	XY - 2(18) - 3(13/21) - 2(16) - 22	Chaotic mosaic
11	Y Y	Mosaic
12	XY XXY + 18 + 2(13/21)	Diploid mosaic
13	XX	Diploid mosaic
14	XY	Diploid
15	XY	Chaotic mosaic
16	XY Y - 18 - 2(13/21) - 16 - 22	Mosaic
17	XY	Diploid
18	XX XY	Chaotic mosaic
19	X - 18 - 2(13/21) - 16 - 22	Chaotic mosaic
20	XY - (13/21)	Monosomy 13 or 21

*性染色体と過不足のある常染色体のみを示した。
文献4)より引用

析することは事実上不可能であり、今回の検討のように、余剰胚を用いた解析を行うことになる。従って、今回の結果は、余剰胚というバイアスを十分考慮しなければならないが、実に37%の胚が、倍数性異常胚であることが明らかになった。今回は5つの染色体に特異的なプローブを用いたが、プローブ数の増加に伴い、さらに異常率が上昇することが予想される。

さらに倍数性異常胚は、着床不全を起こす可能性が高く、仮に着床したとしても早い時期に流産する可能性が高い。我々は、PGDの対象には倍数性異常胚が多

く含まれていることを考慮し、基本ストラテジーとして、13/18/21/X/Y染色体特異的のプローブを基本プローブセットとした解析を行うこととした。なお、この基本プローブセットに含まれるべきプローブは、X/Y染色体と複数の常染色体であり、特に13/18/21染色体プローブである必要は無い。

2. ストラテジー 1: 自然流産する可能性の高い胚を診断する

我々は、自然流産250例の絨毛の染色体解析を行った結果、解析可能であった231例中114例(49%)に染色体異常を認めた。染色体異常の頻度は、16番染色体異数体が最も多く、ついで22番染色体、性染色体の順であった。さらに、基本染色体プローブセットに16/22染色体プローブを加えることにより、染色体異常が原因で自然流産する運命にある胚の65%を診断できることを明らかにした⁴⁾。そこで、これらの染色体プローブを用いたPGDをストラテジーとして確立することを目的とした。

対象および方法：採卵後1日目に正常受精が確認された胚33個を対象として、採卵3日目に割球生検を行い、1または2個の割球を摘出した。生検割球と生検後の胚を別々に固定し、13/16/18/21/22/X/Y染色体特異的のプローブを用いたFISHにて解析した。7つのプローブを、13/18/21/X/Y(基本プローブセット)と16/22の2つのセットに分けて、二段階FISHを行った⁵⁾。そして、生検割球の診断と胚全体の診断を比較検討し、正診率を検討した。

結果：生検割球と胚全体両者の診断が得られたのは、20個であった。生検割球の診断から予測される胚の診断が、実際に異なり誤診の可能性を認めた胚は、20個中2個(4と15の胚)であり、原因は胚のモザイクであった⁴⁾(表1)。

考察：7つの染色体プローブを用いて、二段階FISHを行うことにより、染色体異常が原因で自然流産する運命にある胚の65%を、90%の正診率で診断できる可能性が示唆された。この方法により、着床後の流産率の減少、生産率の向上が期待される。

3. ストラテジー 2: 遺伝子変異を診断する

前述の通り、着床前期胚には、多くの倍数性異常胚が含まれている。そのため、遺伝子変異を診断する際、胚の倍数性と対象遺伝子が存在する染色体の本数を、同時に確認することが望ましい。我々は、Tronrhill

ら⁶⁾の cell recycling 法を応用して, polymerase chain reaction (以下 PCR) にてジストロフィン遺伝子のエクソン欠失を診断する方法を検討した.

対象および方法: 単一リンパ球 51 個 (男 24 個, 女 27 個) を用いた. 単一リンパ球を自作の 3×22mm のミニチュアスライドの先端に固定した. ミニチュアスライドの先端部分が, PCR 混合液 100μl に浸るように PCR 用チューブに挿入した. PCR にて, ジストロフィン遺伝子のエクソン 8/17/45/51 の欠失を同時に診断できるように, multiple-nest PCR を行った. 1st PCR 終了後, ミニチュアスライドは, 基本プローブセットを用いた FISH へ供した⁷⁾.

結果: PCR の増幅率は, エクソン 8:92%, 17:98%, 45:92%, 51:92% であった. FISH では, 98% に期待されるシグナルを検出することができた (表 2).

考察: 単一細胞レベルで, multiple-nest PCR による遺伝子変異の診断と FISH による倍数性と X 染色体

数の診断が同時に可能であった.

従来の出生前診断を実施する時期には, 倍数性異常胚や高度モザイク胚などの遺伝的荷重が重度の胚はすでに淘汰されていることが多いのに対して, PGD は, 遺伝的荷重が軽度から重度の胚まで, すべてを対象としている (図 1). この違いは, PGD のストラテジーを検討する際に非常に重要なポイントである. すなわち, PGD において高度な細かい遺伝的検索を行う際には, 必ず倍数性や対象とする遺伝子が存在する染色体の本数を確認しておくことが, 誤診を防ぐ上で重要である.

4. ストラテジー 3: 染色体構造異常を診断する

夫婦のどちらかが, ロバートソン転座や相互転座の保因者である場合, 着床不全や反復流産を繰り返すことがある. そのような症例においては, 染色体構造異常の PGD が有効と考えられる. 我々は, ロバートソン転座や相互転座などの染色体構造異常を診断するためのストラテジーを検討した.

対象および方法: 我々は, 夫が均衡型相互転座 46XY, t(11;15), (p15.1;q26.3) であり, 乏精子症のため ICSI の適応となった症例を経験し, その余剰胚の提供を受けた. 胚 (5 細胞期で发育停止) をスライドグラスへ固定後, 11p テロメア領域 (green) と 15q26 領域 (orange) に特異的なプローブを用いて, FISH を行った (図 2).

表 2 遺伝子変異を診断する

細胞	n.	PCR (%)				FISH (%)
		8	17	45	51	
リンパ球 (男)	24	83	96	83	88	100
リンパ球 (女)	27	100	100	100	96	96
リンパ球 計	51	92	98	92	92	98

夫が均衡型相互転座 46XY, t(11;15), (p15.1;q26.3)

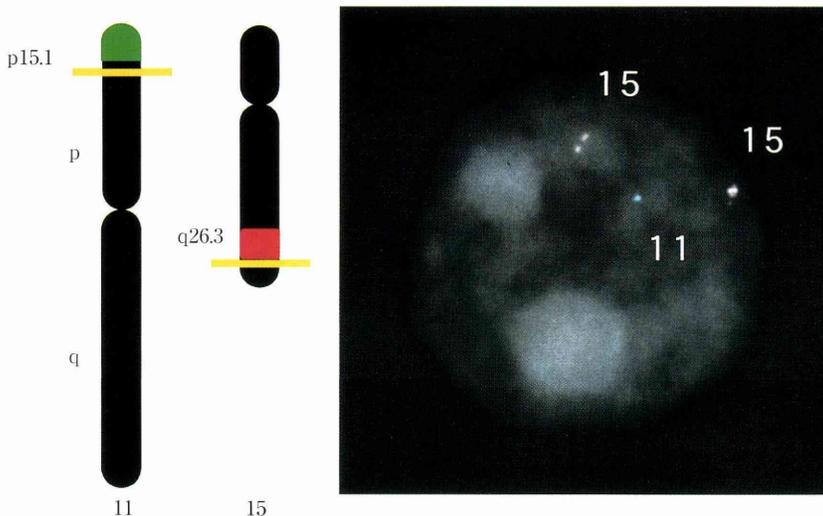


図 2 染色体構造異常を診断する

結果：5個の割球すべてに、orange 2個、green 1個のシグナルを認めた。この胚は不均衡型相互転座胚と診断できた(図2)。

考察：ロバートソン転座症例は、市販のプロープを用いて対応可能であるが、相互転座は、その切断部位によっては、プロープを自作しなくてはならない。そして、分裂中期のリンパ球などを用いて、切断部位とシグナルの位置関係を検討しておく必要がある。

今回は、染色体構造異常のみの診断を行ったが、基本プロープセットを用いた倍数性の診断を同時に行うことが望ましい。

5. ストラテジー 4：核型を診断する(検討中)

Verlinsky ら⁸⁾は、マウスの接合子にヒト割球を融合させ、第1卵割の分裂中期で固定し、核型を診断することに成功している。この様に効率よく割球の分裂中期像が得られれば、Spectrum Karyotyping (SKY) などを用いて、すべての染色体に関して数的異常、構造異常を診断することができる。現在我々も、この方法を検討しているが、まだ実用の段階に達していない。

6. 総 括

従来胚の形態から得てきた情報に加えて、遺伝情報を得ることができるようになり、将来の生殖医療のあり方が大きく変わることが予想される。今回我々は、PGDの技術を、生殖医療の様々な場面で有効活用するための3つのストラテジーを報告した。将来的には胚の核型などさらに詳しい遺伝情報が得られるようになると考えられる。その技術開発と並行して、偶発的に得られた遺伝情報の取り扱いなど倫理的問題も十分な議論を積み重ねる必要がある。

謝 辞

本ワークショップ発表の機会を与えてくださった会長の矢内原巧先生、座長の労をお執りくださった久保春海先生、佐藤英明先生に深謝いたします。なお本研究の一部は、日母おぎゃー献金研究費によって行われ

ており、ご支援に深く感謝いたします。

共同研究者

東邦大学医学部産科婦人科学第1講座

西村崇代、菅 陸雄、洪井幸裕、伊藤嘉奈子、中野由起子、池永秀幸、間崎和夫、安部裕司、久保春海、平川 舜

Advanced Institute of Fertility, WI, USA

K Paul Katayama

文 献

- 1) Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, et al. (1990) Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 344:768-770
- 2) Munne S, Magli C, Cohen J, et al. (1999) Positive outcome after preimplantation diagnosis of aneuploidy in human embryos. *Hum Reprod* 14:2191-2199
- 3) Veeck LL (1991) Atlas of the human oocyte and early conceptus. Vol. 2, Williams & Wilkins Co. Baltimore
- 4) Sasabe Y, Katayama KP, Nishimura T, et al. (1999) Preimplantation diagnosis by fluorescence in situ hybridization using 13-, 16-, 18-, 21-, 22-, X- and Y-chromosome probes. *J Assist Reprod Genet* 16:92-96
- 5) 雀部 豊 (1999) 着床前診断における Cell recycling 法. 生殖ジェネティクス. 鈴木秋悦編, メジカルビュー社, 東京, pp106-111
- 6) Thornhill A, Holding C and Monk M (1994) Recycling the single cell to detect specific chromosomes and to investigate specific gene sequences. *Hum Reprod* 9:2150-2155
- 7) 雀部 豊, 西村崇代 (1999) Cell recycling 法による胚の遺伝子診断法. ART ラボマニュアル. 鈴木秋悦他編, メジカルビュー社, 東京, pp220-223
- 8) Verlinsky Y and Evsikov S (1999) A simplified and efficient method for obtaining metaphase chromosomes from individual human blastomeres. *Fertil Steril* 72:1127-1133

Nuclear Transplantation 技術の生殖医療への応用

Germinal Vesicle Transplantation of Immature Human Oocytes

竹内 巧

Takumi TAKEUCHI

The Center for Reproductive Medicine and Infertility
Weill Medical College of Cornell University
505 East 70th Street, HT-336 New York, NY 10021, USA

生殖学的に高齢な婦人（特に40歳以上）の不妊は、成熟卵の高率な染色体異常と密接に関連していると考えられている。最近、卵の染色体異常の発生を減少させる手段として高齢婦人の未熟卵の核(germinal vesicle, GV)を若齢者の卵細胞質に移植する方法が提案された。我々はまずこの未熟卵における核移植法をマウスを用いた実験により、この技術そのものの高い効率や安全性を確認し報告した。この動物実験の結果を踏まえ、当施設の倫理委員会の許可の下、患者の同意により得られた余剰の未熟卵(GV卵)を用いてヒトにおけるこの技術の有効性につき検討する本研究を開始した。特に顕微操作の各段階における細胞の生存率、卵の再構築率および体外成熟能を評価し、加えて再構築卵の受精能や核型の検査を行った。

この実験に用いられたGV卵は全て細胞質内精子注入法(ICSI)の際に得られた余剰の未熟卵で、患者の同意の下に提供された。短時間のcytochalasin Bでの培養後、顕微操作によりGV卵を除核し、単離されたそのGV核を前もって除核された別のGV卵の卵胞腔に挿入した。電気刺激による細胞融合の後、再構築された卵は体外成熟のため培養した。第一極体を放出した成熟卵の一部は13,16,18,21番およびX染色体をfluorescent in situ hybridization法により分析し、また一部はICSIによりその受精能を評価した。

顕微操作と電気融合による核移植全体の成功率は約73%であった。実験に供される検体数には限りがあるため核移植は主にsibling卵の間で行われた。再構築後の卵の成熟率は染色体異常の発生率とともに対照の無操作の卵とそれぞれ同等であった。ICSIにより正常受精とその後の胚発育が観察されたが、受精能および胚発生は生体内で成熟した卵と比較して明らかに劣っていた。非常に限られた数ではあるが、異なる母体年齢由来のGV卵の間で核移植を行った結果、高齢婦人の卵細胞質は染色体異常を誘起しやすく、若齢婦人のそれは正常な減数分裂を誘導するという傾向がみられた。

ヒトにおいてGVの核移植により再構築された卵が成熟から受精そして初期の胚発生に至ることを証明した。体外成熟が大きな課題であるが、この核移植技術は卵の成熟過程における細胞質と核との関連を研究する上で有益な手法であることが示唆された。

キーワード：核移植、体外成熟、ヒト未熟卵、Aneuploidy, ICSI

(日不妊会誌 46:47-51, 2001)

緒 言

体外受精胚移植の臨床応用が開始されてから20年が経過し、この間に培養法の改善や顕微授精を含めた

新しい技術の開発がその成績改善に大きく貢献してきた。しかしながら依然としてその成功の鍵は女性配偶者の生殖年齢に大きく依存している。特にintracytoplasmic sperm injection (ICSI)法という男性不妊に対

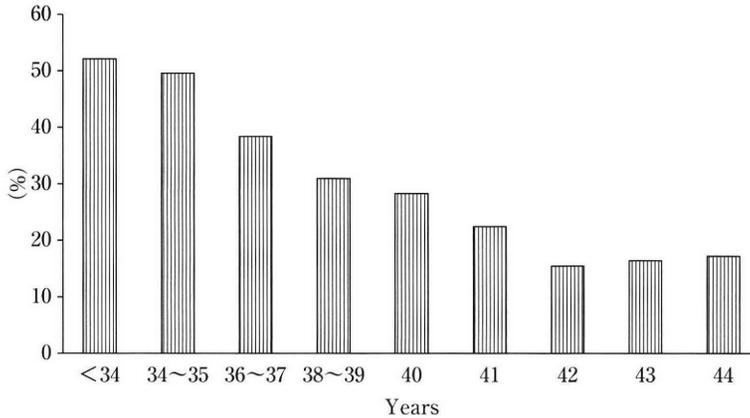


図 Maternal age and ICSI delivery rate

する画期的な治療法が導入されたことにより (Palermo et al., 1992; 1995), 現在の不妊治療が抱える大きな問題点としての女性配偶者の年齢が改めて浮き彫りにされた。図は 3,535 周期中 1,381 周期が生産に至った当施設の母体年齢別 ICSI 刺激周期あたりの生産率を示している。生殖学的に高齢な婦人 (特に 40 歳以上, 以下高齢婦人とする) の治療成績は若齢者のそれと比較すると明らかに劣っている。未だに高齢婦人に対しては第三者からの全卵子の提供による治療以外に好成績を望むことができないのが現状であるが, 同時にその事実は高齢婦人においては卵の質が低下していることを証明している。種々の要素が高齢婦人における体外受精胚移植後の低妊娠率, 低着床率や高流産率に関連しているが, 最も重要な原因として高齢婦人における成熟卵の高率な染色体異常 (特に aneuploidy) が認識されている (Munné et al., 1995a; Dailey et al., 1996)。卵の aneuploidy は主に成熟過程の第 1 減数分裂中に発生すると考えられている (Hassold and Chiu, 1985)。染色体の分裂は各減数分裂中に構成される meiotic spindle により制御されており, またその構成成分は多くを卵の細胞質から提供されている。meiotic spindle の異常が高齢婦人の卵に高率に確認されており (Battaglia et al., 1996), 卵細胞質の染色体分裂における重要性が注目されている。

近年, 第 1 減数分裂前の未熟卵の段階で, 高齢者の germinal vesicle (GV) を, 除核された若齢婦人の卵細胞質に移植し, 作製された再構築卵を体外成熟させる方法が正常な減数分裂を経た成熟卵を得る手段として提案された (Zhang et al., 1999)。全卵子の提供に対し,

この技術は第三者の卵細胞質の提供を受けながらも, 患者自身の遺伝情報を核移植という方法でその児に伝えることが可能という点で非常に魅力的である。この技術による染色体異常の発生子防効果については少ないながらも実験結果が報告されており, 若齢婦人の卵細胞質が移植された高齢婦人の卵核を正常な減数分裂へ誘導するという卵成熟過程での細胞質の重要性を強く示唆するものであった。

我々はヒト卵を用いた研究の前に準備段階として, マウスを用いた動物実験を行い, 高率に未熟卵が再構築されることを報告した。また核移植後に成熟した卵の染色体数を分析することにより, この非常に侵襲的な技術そのものが卵の成熟率に影響を与えないばかりか染色体異常を誘発することがないことも確認した (Takeuchi et al., 1999)。動物実験の結果を踏まえ, さらに当大学の倫理委員会の許可を得て, ヒト未熟卵に対する核移植の有効性を検討する研究を開始し, その各過程での顕微操作による細胞損傷率, 電気融合による卵再構築率, その後の卵成熟率, Fluorescent in situ hybridization (FISH) 法による成熟卵の染色体検査結果, さらに再構築卵の受精能およびその後の初期胚発生率等を検討したのでここに報告する。

対象と方法

本研究は Cornell 大学医学部の倫理委員会による許可 (IRB Number 0198-082) の下に行われた。卵の採取, ICSI のための卵巣刺激法や採卵方法また卵の前処置については既報の通りである (Palermo et al., 1995)。顕微授精の直前に卵丘細胞を取り除き, 裸化された卵は

表 1 ヒト未熟卵における核移植成績

	No. of Oocytes(%)
核移植施行 GV 卵	158
除核後生存卵	151 (95.6)
GV 移植卵	141 (89.2)
再構築卵	115 (72.8)
体外成熟 MII 卵	71 (44.9)

GV = germinal vesicle

MII = metaphase II

倒立顕微鏡下にその成熟度を確認し、第一極体を放出した成熟卵のみを実際の ICSI 治療に用いた。本研究で使用した卵は全て ICSI の際に得られた余剰の未熟 GV 卵で、患者の同意のもとに提供された。

核移植手技

実際の手技は我々がマウスで報告した未熟卵の核移植とほぼ同様である (Takeuchi et al., 1999)。以下に概要を記す。まず卵の透明帯の周囲の約 20% をマイクロニードルで切開し、5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の cytochalasin B (CCB) を含む HEPES-HTF 中に移動する。卵を外径約 60 μm のマイクロピペットで保持しながら内径約 30 μm の除核用のマイクロピペットを透明帯の切開層より挿入する。続いて GV をごく少量の卵細胞質と共に細胞膜に包まれたままの状態 (GV karyoplast) でゆっくりと除核する。この様にして単離された GV karyoplast は既に除核操作の済んだ別の GV 卵 (GV cytoplast) の囲卵腔に挿入する。こうして作成された Graft 卵 (融合前の GV karyoplast と cytoplast) を電気融合に供した。一個の Graft 卵を先端約 100 μm の 2 本の微小電極 (ECF-100, 東京理化学器械) の間に移動し、1.0 ないし 1.5 kV/cm の直流パルス を 70 から 100 μs 加えて細胞融合を誘起する。処理した卵は洗浄後にインキュベーター内の HTF 液中で培養し、約 30 分後に細胞融合を確認した。以上の顕微操作ならびに電気融合はヒーティングステージにより保温した状態で倒立顕微鏡下で行った。またマイクロマニピュレーターはナリシゲ社製を、電気融合装置は Genetronics 社の BTX200 あるいは 2001 を用いた。

体外成熟

再構築に成功した卵は引き続き HTF 中で培養を続け、電気融合の 48 時間後まで 24 時間毎にその成熟を観察した。顕微操作を行わない対照の GV 卵も同様に培養し、成熟度を比較した。

成熟卵の FISH 法による染色体解析

第一極体を放出することにより確認された成熟卵の一部は染色体解析のために以前報告した通りにスライド上に固定した (Takeuchi et al., 1999)。位相差顕微鏡下に第二減数分裂中期の染色体を確認した後に既報の如く FISH 法を施行した (Munné et al., 1995b; Dailey et al., 1996; Palermo et al., 1997)。用いたプローブは全て Vysis 社より購入し、16, 18 番および X 染色体は CEP で、13 および 21 番染色体は LSI プローブで標識した。スライドは適切なフィルターを用いて蛍光顕微鏡下に観察した。卵の染色体と第一極体の双方に signal を認めたもののみを評価した。

受精および発生能の評価

成熟卵の一部は ICSI にてその受精能を評価した。卵はその第一極体の放出が確認されてから 2 から 3 時間後に ICSI に供した。ICSI 施行の 16 から 20 時間後に前核と第二極体の有無を確認し、明らかな 2 前核と第二極体を有する卵を正常受精と判断した。受精卵はその後 HTF 中で 72 時間後まで培養を続け、胚の観察を 24 時間毎に行った。

統計

成熟率や染色体異常の発生率はカイ二乗検定を用いて再構築卵と対照の卵との間で比較した。

結 果

計 188 の GV 卵が 81 名の患者 (平均年齢 34.3 \pm 4 歳) から提供されたが、採卵日当日に異なる年齢の患者 (高齢婦人と若齢婦人) からそれぞれ GV 卵を得ることが出来たのは極限られていたため、殆どの核移植は sibling 卵の間で施行された。採卵当日に核移植を行うことが出来た新鮮卵 158 個の結果は表 1 の通りである。115 個 (72.8%) の卵で再構築に成功し、核移植の各過程で 80% を越える効率であった。再構築卵の卵成熟率は 61.7% で対照の体外成熟した無操作の未熟卵 30 個の 63.3% (19/30) と有意差を認めなかった。

また sibling 卵の間での核移植による再構築卵の染色体異常率は表 2 に示すごとく 21.4% で、同様に対照の体外成熟卵の 26.7% (4/15) と有意に異ならなかった。異なる年齢の婦人間で GV 卵の核を交換する実験を行った結果、計 8 個の卵 (高齢婦人から 4 個、若齢者から 4 個) から 7 個が再構築され、その内 5 個が第一極体を放出し成熟した。若齢者 (平均年齢 30 歳) の卵細胞質と高齢婦人 (平均年齢 37.5 歳) の核により再構築された卵は 2 個とも正常の核型を示したが、一方高齢婦人 (平均年齢 36 歳) の細胞質と若齢婦人 (平均

表2 Sibling 卵の間による核移植後に成熟した卵の染色体検査結果

	No. of Oocytes(%)
a. FISH に供した卵	16
b. 分析可能(% of a)	14(87.5)
c. 正常核型(% of b)	11(78.6)
d. 染色体異常(% of b)	3(21.4)
Predivision of monovalents (% of b)	2(14.3)
Nondisjunction of univalents (% of b)	1(7.1)

FISH = fluorescence in situ hybridization

年齢 31 歳)の核の組み合わせで成熟した卵 3 個のうち 2 個で染色体異常が確認された。

核移植により再構築され、その後に成熟した卵 31 個に対して行った ICSI の結果を表 3 に示す。ICSI 後に生存した卵は 67% の正常受精を示し、また異常受精はそれぞれ 1 前核卵 4%、3 前核卵 4% という頻度で観察された。正常受精した卵を 72 時間培養することにより平均 4.9 個の割球と平均 25% の fragment を有する胚に発生した。

考 察

我々が以前報告したマウスでの結果と比較するとやや劣るが、ヒトにおける未熟卵の核移植はその顕微操作や電気融合の各過程で 80% を超える効率であり、GV 卵の再構築までは約 73% の成功率であった。再構築卵のその後の成熟率は約 62% で、対照の無操作未熟卵のそれと同等であった。つまり核移植技術が卵の成熟率には影響を与えないことを証明した。さらに本研究では核移植により再構築された卵が受精能を有し、初期胚に発生すること示した。ICSI 後の卵の生存率やその後の胚の質は明らかに劣るが、正常受精および異常受精の比率は体内で成熟した卵と同様であった。未熟卵の体外成熟法は未だ発展段階であるが、体外成熟卵の発生能は体内成熟卵より明らかに劣っている事実は既に報告されている (Trounson et al., 1998)。よって今回経験した胚の低発生能は、核移植による影響の他にも本研究で用いた未熟卵の培養環境が適切でない事も原因となっていると考えられる。

体外受精胚移植治療の際に得られるヒト体内成熟卵の染色体異常は 25~35% とされている (Plachot et al., 1988; Pellestor, 1991; Van Blerkom, 1994)。また体外

表3 再構築卵の ICSI による受精成績

	Number of oocytes(%)
a. ICSI 施行卵	31
b. 生存卵(% of a)	24(77.4)
c. 受精卵(% of b)	16(66.7)
d. 分割卵(% of c)	15(93.8)

成熟した卵の染色体異常が 25% であったという近年の報告も今回得られた核移植後の成熟卵のそれと同等であるといえる (Park et al., 1997)。本研究の結果から核移植技術そのものは卵の染色体異常を誘起するものではないことを明らかに証明した。未だ十分な数ではないが、異なる年齢の婦人間で GV 卵の核置換を行った結果、高齢婦人の卵細胞質は染色体異常を誘起しやすく、若齢婦人のそれは正常な減数分裂を誘導するという仮説を支持する所見が得られた。

これらの結果は今後の核移植技術の臨床応用を考える上で必要な更なる研究の十分な動機づけとなるとともに、再構築卵の発生能を含め、体外成熟が大きな課題である点、高齢婦人からいかに十分な数の未熟卵を採取するかといった新たな問題点を明らかにした。

謝 辞

稿を終えるに際し、この研究を指導、援助して下さいました Drs. Palermo, Rosenwaks, Veeck ならびに Center for Reproductive Medicine and Infertility のスタッフに深謝致します。

文 献

- 1) Battaglia DE, Goodwin P, Klein NA, et al. (1996) Influence of maternal age on meiotic spindle assembly in oocytes from naturally cycling women. *Hum Reprod* 11: 2217-2222
- 2) Dailey T, Dale B, Cohen J, et al. (1996) Association between nondisjunction and maternal age in meiosis-II human oocytes. *Am J Hum Genet* 59: 176-184
- 3) Hassold T and Chiu D (1985) Maternal age-specific rates of numerical chromosome abnormalities with special reference to trisomy. *Hum Genet* 70: 11-17
- 4) Munné S, Alikani M, Tomkin G, et al. (1995a) Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil Steril* 64: 382-391

- 5) Munné S, Dailey T, Sultan KM, et al. (1995b) The use of first polar bodies for preimplantation diagnosis of aneuploidy. *Mol Hum Reprod*, 1, Hum Reprod 10 : 1014-1020
 - 6) Palermo G, Joris H, Devroey P, et al. (1992) Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 340 (ii) : 17-18
 - 7) Palermo GD, Cohen J, Alikani M, et al. (1995) Intracytoplasmic sperm injection : a novel treatment for all forms of male factor infertility. *Fertil Steril* 63 : 1231-1240
 - 8) Palermo GD, Colombero LT and Rosenwaks Z (1997) The human sperm centrosome is responsible for normal fertilization and early embryonic development. *Rev Reprod* 2 : 19-27
 - 9) Park SE, Son WY, Lee SH, et al. (1997) Chromosome and spindle configurations of human oocytes matured in vitro after cryopreservation at the germinal vesicle stage. *Fertil Steril* 68 : 920-926
 - 10) Pellestor F (1991) Frequency and distribution of aneuploidy in human female gametes. *Hum Genet* 86 : 283-288
 - 11) Plachot M, Veiga A, Montagut J, et al. (1988) Are clinical and biological IVF parameters correlated with chromosomal disorders in early life : a multicentric study. *Hum Reprod* 3 : 627-635
 - 12) Takeuchi T, Ergün B, Huang TH, et al. (1999) A reliable technique of nuclear transplantation for immature mammalian oocytes. *Hum Reprod* 14 : 1312-1317
 - 13) Trounson A, Anderiesz C, Jones GM, et al. (1998) Oocyte maturation. *Hum Reprod* 13 (Suppl 3) : 52-62
 - 14) Van Blerkom J (1994) Developmental failure in human reproduction associated with chromosomal abnormalities and cytoplasmic pathologies in meiotically mature oocytes. In Van Blerkom, J. (ed). *The Biological Basis of Early Human Reproductive Failure*. Oxford University Press, New York, pp283
 - 15) Zhang J, Wang CW, Krey L, et al. (1999) *In vitro* maturation of human preovulatory oocytes reconstructed by germinal vesicle transfer. *Fertil Steril* 71 : 726-731
-

Cre-loxP system を用いた精巣に注入した外来遺伝子の解析

The Expression of Exogenous DNA Introduced into Testis Embryos and Newborns

林 克 彦

Katsuhiko HAYASHI

東京理科大学生命科学研究分子生物学研究部門
Division of Molecular Biology, Research Institute for Biological Science,
Science University of Tokyo, Chiba 278-0022, Japan

緒 言

ヒト細胞を含めた哺乳動物細胞への外来遺伝子の導入技術は、単一の遺伝子の機能の解明といった基礎的な分野から近年では実用的な遺伝子治療への応用など臨床的な分野においてもその汎用性は広く、現代の医学・生命科学では基幹技術となっている。個体への遺伝子導入法は目的に応じて様々な方法が開発されており、すべての体細胞に安定的に外来遺伝子を導入するトランスジェニック動物の作製には受精卵前核へ直接遺伝子を導入するマイクロインジェクション法が現在最も広く用いられている。しかしこの技術は特殊な器具を要することや、習熟までに多大な時間を要すること、さらにはその作製効率が低いことを欠点にもつことからその応用性が制限されている。我々は以前より個体への遺伝子導入法として生体の精巣に直接遺伝子を導入し、精子をベクターとした新しい遺伝子導入法である TMGT 法 (Testis-Mediated Gene Transfer) の開発を行ってきた¹⁻³⁾。これまでの研究により TMGT 法により導入された外来遺伝子は精子を介して受精卵に持ち込まれ、胎仔・新生仔の体細胞に保持されることが明らかとなった。しかし TMGT 法により導入された外来遺伝子の宿主染色体への安定的な組み込みは観察されず、また導入遺伝子の種類または動物種によってはその効率は著しく異なることから、TMGT 法による個体への遺伝子導入の是非は未知の要因に左右されていることが示唆されている。この未知の要因の検索のためには TMGT 法により導入された外来遺伝子の導入経路の解明など基礎的な研究が必要なものと考えられる。本研究は TMGT 法により導入された遺伝子の宿主細胞内における存在や発現を

Cre-loxP system を用いて解析し導入遺伝子の宿主における動態を解析したものである。

材料および方法

1 供試動物：精巣に遺伝子を注入する雄として CAG-loxP-Stop-loxP-EGFP を 1 細胞あたり 20 コピー程度有するトランスジェニックマウスを用いた。CAG-loxP-Stop-loxP-EGFP は 2 つの loxP 配列を含み、これらの配列が Cre recombinase 蛋白により配列特異的に組み換えが起こるように構築した (図 1a)。

2 精巣への導入遺伝子：精巣に注入する外来遺伝子として受精卵や初期胚から成体では全身に発現するアクチンプロモーターの下流に Cre recombinase をコードした cDNA を構築したもの (CAG-Cre) を用いた。loxP 配列は微量の Cre recombinase で不可逆的な組み換えを起こすことから、CAG-Cre を CAG-loxP-Stop-loxP-EGFP トランスジェニックマウスの精巣に導入することにより導入遺伝子の一過性もしくは微量な発現の検出が可能になると考えた。

3 受精卵への CAG-Cre の注入による loxP 配列の組み換えの解析：予備実験として、受精卵において何コピー程度の CAG-Cre が存在すればトランスジェニックマウスの loxP 配列が組み換えを起こすかを調べた。トランスジェニックマウスの受精卵に一過性に Cre 蛋白を発現させる目的で環状の CAG-Cre を 10~20 コピーまたは 100~200 コピーを前核に注入し、得られた産仔について Genomic DNA を採取し PCR 法により loxP 配列の組み換えを調べた。

4 精巣への外来遺伝子の導入および新生仔における外来遺伝子の解析：トランスジェニックマウスの精巣への注入は 3 日おきに 3 回行った。注入する環状の

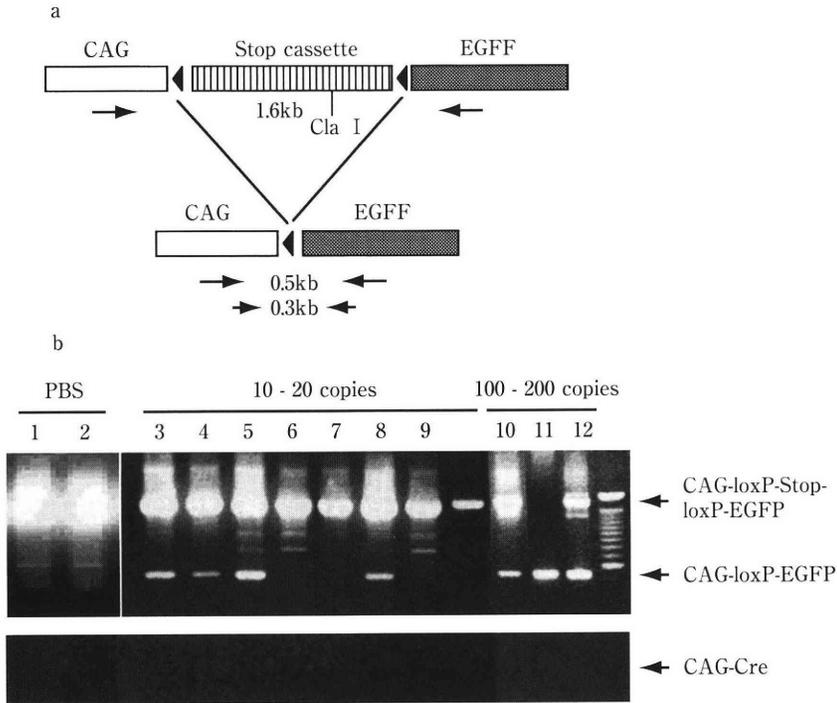


図1 受精卵前核にCAG-Creを注入したCAG-loxP-stop-loxP-EGFPトランスジェニックマウスのloxP配列の組み換え

CAG-Cre (5 μ g/精巣)はLipofectin reagent (GIBCO BRL) 10 μ gと混合し1時間室温に放置した。その後ひとつの精巣につき20 μ lのDNA・リボソーム複合体を注入した。交配は最初の遺伝子注入後4, 14, 17, 30日目に行った。これらの交配により得られた産仔について分娩5日以内および8週目に尾よりGenomic DNAを採取しCAG-Creの有無をPCR法およびSouthern hybridization法により調べた。また得られた産仔のloxP配列の組み換えをPCR法により解析した。loxPの組み換えの有無を更に詳細に検討するためにPCR産物の内側にprimerを設定しnested PCRを行った。nested PCRは初回の1.6kbのPCR産物の増幅を抑えるために鋳型として用いるPCR産物をClaI(宝酒造)により消化した後に行った。

5 精子における外来遺伝子の存在および発現: TMGT法によりCAG-Creを精巣に注入した雄の精巣上体精子を、注入後30日目に採取し、PCR法により外来遺伝子の存在およびloxP配列の組み換えを解析した。

結 果

1 CAG-CreのマイクロインジェクションによるloxP配列の組み換えの解析: CAG-Creをトランスジェニックマウスの受精卵前核に10~20コピー導入した結果、4/9(44.4%)の新生仔のloxP配列の一部に組み換えが確認された。また100~200コピー導入したすべての新生仔についてloxPの組み換えが確認され、1匹の新生仔については全てのloxP配列において組み換えが起こった(図1b)。得られた新生仔のgenomic DNAにCAG-Creは検出されず、loxPの組み換えは初期胚でのCre recombinaseの一過性の発現によるものと考えられる。

2 精巣に導入された外来遺伝子の存在および発現: TMGT法により得られた産仔のPCRの結果、遺伝子注入後4, 14, 17日目の交配区の40~80%にCAG-Creが確認されたが、30日目の交配区はCAG-Creは検出されなかった(表1)。Southern hybridizationの結果、遺伝子注入後17日目の交配により得られた19匹の新生仔のうち3匹に5コピー程度、また5匹

表 1 新生仔および成体における TMGT 法により導入された CAG-Cre の解析

交配日 (導入後 / 日)	新生仔数	CAG-Cre が検出された新生仔		CAG-Cre が検出 された成体
		PCR (%)	Southern blot (%)	
4	12	5/12(41.6)	0/12(0)	
14	24	13/24(54.1)	0/24(0)	
17	19	15/19(78.9)	8/19(42.1)	0/8
30	23	0/23(0)	0/23(0)	

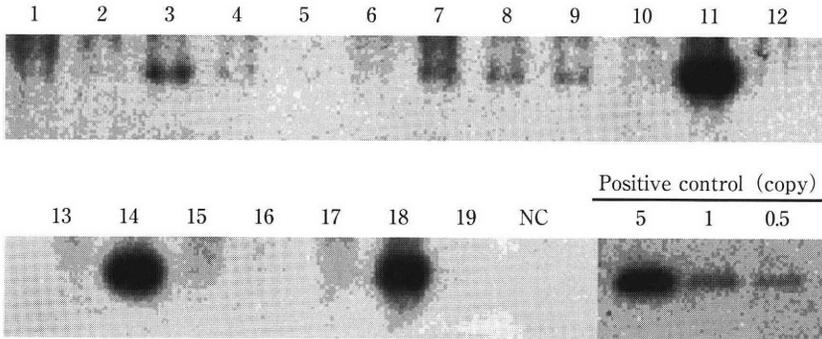


図 2 新生仔における CAG-Cre の Southern blot による検出 (導入後 17 日目交配区)

表 2 新生仔における loxP 配列の組み換えの有無

交配日 (導入後 / 日)	新生仔数	loxP 配列の組み換え が起こった新生仔 (%)
4	12	8/8(100)
14	24	5/11(45.4)
17	19	7/12(58.3)
30	23	0/10(0)

に 0.1~0.5 コピー程度の CAG-Cre の存在が確認された (図 2)。しかしこれらの新生仔の生後 8 週目の genomic DNA では、CAG-Cre は検出されなかった (表 1)。遺伝子注入後 4,14,17 日目交配区の産仔について loxP 配列の組み換えを調べた結果、約 50~100% の新生仔で組み換えが起こっていた (表 2)。これらの新生仔について nested PCR を行った結果、CAG-Cre を精巣に注入して得られた新生仔に特異的に loxP 配列の組み換えが検出された (図 3a, b)

3 精子における外来遺伝子の存在および発現: 精巣に CAG-Cre を導入後 30 日目の精巣上体精子において CAG-Cre の存在を認めたが、loxP 配列の組み換えは認められなかった (図 4)。また nested PCR 解析においても組み換えを起こしたシグナルは得られなかった (図 3b)。

考 察

本研究では Cre-loxP system を用いて TMGT 法により精巣に導入された外来遺伝子の存在および発現について検討した。予備実験ではトランスジェニックマウスの受精卵に Cre を一過性に発現させることにより loxP 組み換えの検出限界を検討した。その結果受精卵前核に 10~20 コピー程度の CAG-Cre が一過性に存在すれば loxP 配列の組み換えは起こり、それを PCR で検出することが可能であることを確認した (図 1)。予備実験により本システムは精巣に導入した外来遺伝子の一過性もしくは微量の発現を解析することに適していると判断し以後の解析に適用した。TMGT 法により導入された CAG-Cre は導入後 4, 14, 17 日目の交配により得られた新生仔に認められた。この結果は以前に報告されている結果と同様であり、精巣に導入された外来遺伝子は精子をベクターとして受精卵に伝達されることが明らかとなった。導入遺伝子の発現を loxP 配列の組み換えにより解析すると CAG-Cre の存在が確認された新生仔の約 50~100% に組み換えが観察された。しかし組み換えの起こる頻度は全ての loxP 配列のうち 1/100 以下と非常に低率であることが明らかとなった (図 3a)。Gandolfi F は精子と結合し

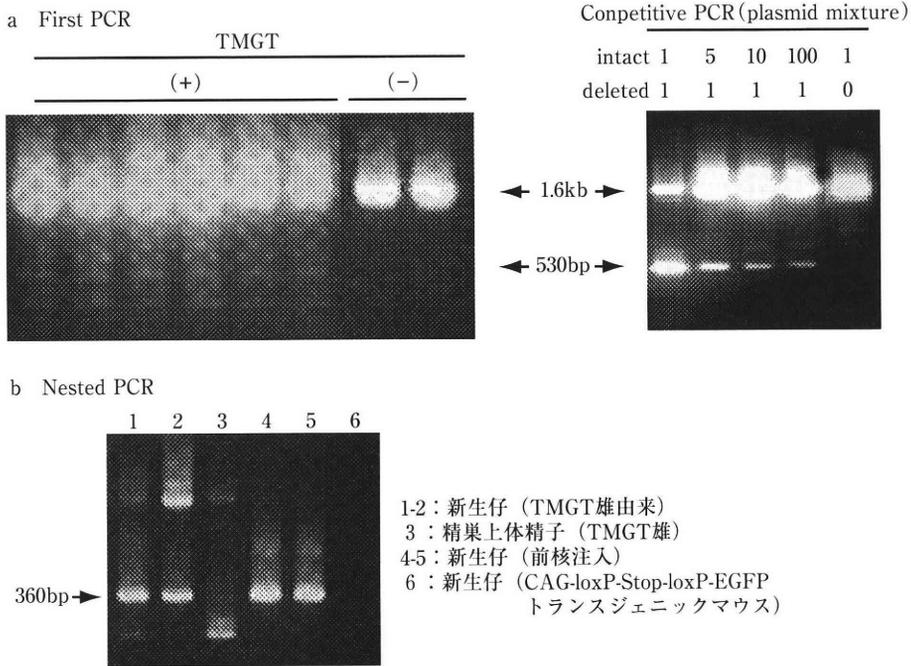


図3 TMGTにより得られた新生仔における loxP 配列の組み換え

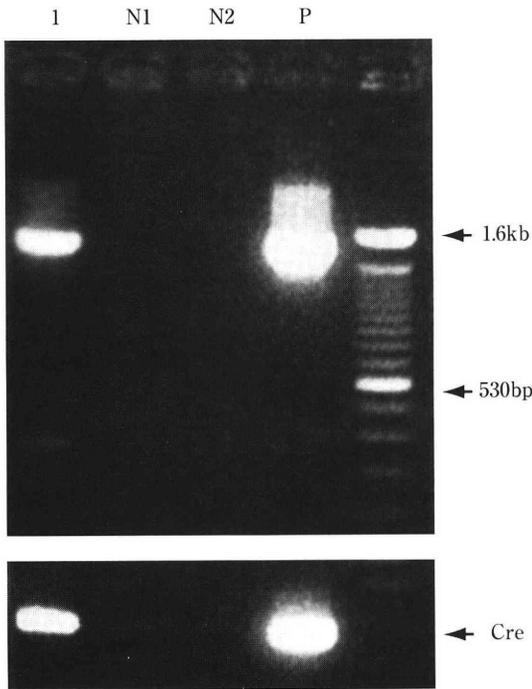


図4 精巣上体精子における loxP 配列の組み換え
 1: 精巣上体精子 (CAG-Cre 導入後 30 日), N1: 陰性対照 1 (C57BL/6), N2: 陰性対照 2 (PCR Buffer のみ), P: (上段: CA-loxP-Stop-loxP-EGFP トランスジェニックマウス, 下段: CD19Cre トランスジェニックマウス)

た外来遺伝子の多くは遺伝子配列の欠損など修飾をうけることを報告している⁴⁾。今回の我々の結果と合わせて考えると、精子により受精卵に伝達された CAG-Cre のコピー数は不明であるが、そのうち受精卵において Cre recombinase を発現しているものは 10 コピー以下であると考えられる。精巣に導入した CAG-Cre は分娩後 5 日以内の新生仔には観察されたが成体においては検出されなかった。これは導入した遺伝子の染色体への組み込みは起こらず核内に存在していたと考えられる。しかし受精卵前核に導入した外来遺伝子は染色体への組み込みが起こらなかった場合、胚の発生の過程において分解されることが知られている⁵⁾。今回の結果では受精卵に導入された発現しうる外来遺伝子の数は 10 コピー以下と予想されるにも関わらず新生仔までその存在が認められた。これに関する理由は不明であり今後の研究の課題である。精子における導入遺伝子の解析の結果、CAG-Cre は精子内での発現は認められなかった。また精巣への遺伝子導入後 4 日目の交配により得られた新生仔より CAG-Cre の存在があることから、精巣に導入した遺伝子の大部分は精巣内の精子形成細胞には導入されず成熟精子と結合することにより受精卵へ伝達されるものと考えられる。本研究により精巣に導入された外来遺伝子の運

命について以下のことが明らかとなった。(1) 精巣に導入された外来遺伝子は速やかに成熟精子と結合し受精卵に伝達される。(2) 受精卵に伝達された外来遺伝子は genomic DNA に組み込まれずに何らかの作用で分娩時まで体細胞に維持され、成体になるまでに消失する。(3) 精巣に導入された外来遺伝子は受精卵以降のステージで少量の発現が起こる。これら TMGT 法の特徴を効率良く活かせば初期胚特異的な遺伝子疾患に対する遺伝子治療への応用の可能性も示唆される。今後さらに TMGT 法により導入された外来遺伝子の動態について様々な方向から解析する必要がある。

文 献

1) Ogawa S, Hayashi K, Tada N, et al. (1995) Gene

- expression in blastocysts following direct injection of DNA into testis. *J Reprod Dev* 41 : 379-382
- 2) Chang K, Ikeda A, Hayashi K, et al. (1999) Production of transgenic rats and mice by the testis mediated gene transfer. *J Reprod Dev* 45 : 29-36
- 3) Sato M, Iwase R, Kasai K, et al. (1994) Direct injection of foreign DNA into mouse testis as a possible alternative of sperm-mediated gene transfer. *Anim Biotech* 5 : 19-31
- 4) Gandolfi F (1998) Spermatozoa, DNA binding and transgenic animals. *Transgenic Res* 7 : 147-55
- 5) Araki K, Araki M, Miyazaki J, et al. (1995) Site-specific recombination of a transgene in fertilized eggs by transient expression of Cre recombinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 3 : 160-164

核移植を用いたヒト疾患モデル動物としての トランスジェニックブタの開発戦略

Development of Transgenic Pigs for Animal Models of Human Diseases by Nuclear Transfer Techniques

三好 和睦

佐藤 英明

Kazuchika MIYOSHI

Eimei SATO

東北大学大学院農学研究科動物生殖科学分野

Laboratory of Animal Reproduction, Graduate School of Agricultural Science,
Tohoku University, Sendai 981-8555, Japan

緒 言

胚性幹細胞 (embryonic stem cell: ES 細胞) は、未分化性を維持したまま増殖が可能な初期胚由来の培養細胞であり、宿主胚に注入することにより ES 細胞と宿主胚の両者に由来する細胞を持つキメラを形成し得る^{1,2)}。ES 細胞が生殖細胞の形成に寄与した場合には生殖系列キメラが作出され、これらのキメラを交配することによって ES 細胞由来の個体を得ることができる³⁾。現在マウスでは、ES 細胞に対して遺伝子導入を行った後にそれらに由来する個体を作ることにより、トランスジェニック動物を作出することが可能となっている。この方法は、外来遺伝子の導入だけでなく、ジーンターゲティングによって特定遺伝子が破壊されたトランスジェニック動物の作出にも利用できる。これまでにマウスでは、ES 細胞を用いたジーンターゲティングによりヒトの疾患モデルとなり得る種々のトランスジェニック動物が作出され、病気の原因解明に貢献してきた。

解剖学的・生理学的にヒトとの類似点が多い⁴⁾ブタにおいて同様な系が確立されれば、ヒト遺伝子の高次機能解析が可能となり⁵⁾、生殖障害における原因遺伝子の解明にも有効である。しかし、マウス以外の動物種では、生殖系列キメラへ分化し得る ES 細胞は得られていない。

最近ヒツジにおいて、胚盤胞に由来する上皮様細胞が全能性を維持していることが報告された⁶⁾。これら

の細胞は形態的にマウスの ES 細胞と異なる分化細胞であるが、除核未受精卵に移植することによりクローン産仔が生産された。さらに、胎仔の線維芽細胞や成体の乳腺細胞を移植後にも産仔が得られた⁷⁾ことから、この方法を用いることにより、広い範囲の分化細胞からそれらに由来するクローン動物を生産し得る可能性が示された。このような分化細胞は体外において継代培養し得るので、ES 細胞の樹立が困難である動物種において、トランスジェニック動物を作出するために利用できると考えられる。これまでに、ウシ^{8,9)}、マウス¹⁰⁾およびヤギ¹¹⁾においても、核移植技術を用いて分化細胞に由来するクローン動物が作出されているが、ブタにおける成功例は報告されていない。そこで我々は、ブタへの応用を目的として、体外作出した脱出胚盤胞から継代培養可能な細胞株を樹立し、それら

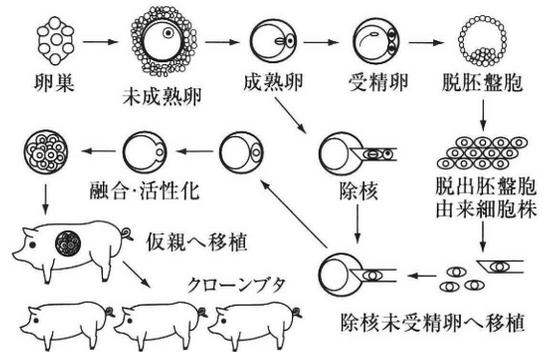


図1 核移植を用いたクローンブタの開発戦略

の細胞を除核未受精卵に移植することにより作製した再構築胚の発生能について検討している(図1)。本稿では、我々の最近の研究結果¹²⁾について紹介したい。

胚盤胞由来細胞株の樹立

初期胚からの細胞株の樹立を目的とした研究では、基礎培地として主に Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) が用いられてきたが、ブタ脱出胚盤胞を DMEM を基礎とした培地中で培養しても胚由来細胞の増殖は観察されなかった。そこで、ブタ初期胚の体外培養用に開発された NCSU-23¹³⁾ を基礎培地として、胚盤胞由来細胞株の樹立を試みた。DMEM を基礎培地とした場合には、67% の胚がフィーダー細胞に接着したが、増殖してコロニーを形成した胚は観察されなかった。これに対して、NCSU-23 を基礎培地とした場合には、80% の胚が接着し、そのうち 45% においてコロニーの形成が認められた。以上の結果から、培地の種類はブタ胚盤胞由来細胞の増殖に大きな影響をおよぼすことが明らかになった。ブタ初期胚の体外培養には、Modified Ham's F-10 medium あるいは TCM-199 のような複雑な組成の培地より Whitten's medium あるいは Hepes-buffered Tyrode's solution のような単純な組成の培地の方が適していることが知られている¹⁴⁻¹⁶⁾。このことから、複雑な組成の培地には、ブタ初期胚の発生を抑制する成分が含まれていることが示唆される。複雑な組成を持つ DMEM にもそのような成分が存在しており、それらによって胚盤胞由来細胞の増殖が妨げられたのだろう。得られたコロニーを DMEM を基礎とした培地中で継代培養した結果、いずれの場合にも細胞が増殖し、ES 細胞様のコロニーが形成された。それらの ES 細胞様コロニーのひとつをフィーダー細胞不在下で継代培養した結果、ヒツジの場合^{6,7)}と同様の上皮様細胞が出現した。これらの細胞は、上皮様の形態を維持しながら少なくとも 30 回継代することが可能であった。

胚盤胞由来細胞と除核未受精卵の融合におよぼす電圧の影響

再構築胚は、得られた胚盤胞由来細胞と除核未受精卵を電気融合することによって作製される。そこで、両者の融合に適した電圧の設定を行った。100 V/mm の電圧を付加した場合には、胚盤胞由来細胞と除核未受精卵の融合は観察されなかった。融合率は電圧の上昇にともなって増加する傾向を示し、200 V/mm の区

では 64% において融合が認められた。250 V/mm (77%) および 300 V/mm (52%) の区における融合率は、200 V/mm の区における値と比較して有意な差はなかった。200 V/mm の電圧を付加した場合には融合胚の 39% が分割したが、150 V/mm (14%) および 250 V/mm (35%) の区における分割率との間には有意な差はなかった。以上の結果から、胚盤胞由来細胞と除核未受精卵の融合に適した電圧は、200 V/mm であることが明らかになった。ブタ初期胚の割球と除核未受精卵の電気融合には、平行電極を持つチャンバーの使用が有効であった¹⁷⁾。そこで、同様のチャンバーを用いて胚盤胞由来細胞と除核未受精卵の融合を試みたが、融合胚はほとんど得られなかった。対照的に、細胞-卵子複合体を一直線に配置したワイヤー電極で挟んで電気刺激を付加した場合には、先に示したような高い融合率が得られた。胚盤胞由来細胞のような小さい細胞をドナーとした場合には除核未受精卵との接着面が極めて狭くなるので、融合させるためにはドナーとレシピエントの位置関係が重要となる。ドナーとレシピエントは、両者の接着面が電気パルスの進行方向と垂直になるように設置しなければならないが、我々の方法はそのような位置関係を設定し、かつ両者の接着を維持するという点において有効であると考えられる。

単為発生卵との共培養が再構築胚の発生におよぼす影響

先の実験において、いくつかの再構築胚は 3-細胞期にまで発生したが、培養を継続してもそれ以上の発生は観察されなかった。再構築胚は、5~15 個をひとつの小滴中に移して培養しているが、そのうち胚盤胞への発生能を有しているものは 1 個あるかあるいは全くないかのいずれかと考えられる。マウス 2-細胞期胚を単独で培養すると、グループで培養した場合と比較して胚盤胞形成率が著しく低下することが知られている¹⁸⁾。そこで、単為発生卵と共培養することにより、再構築胚の発生能改善を試みた。単為発生卵不在下では、再構築胚の 4-細胞期への発生は困難であった。これに対し、単為発生卵と共培養した場合には、65% の胚が分割し、23% が 4-細胞期以上に発生した。これらの割合は、単為発生卵不在下の値 (分割率: 38%; 4-細胞期への発生率: 3%) と比較して有意に高かった。単為発生卵存在下では、1 個の再構築胚が胚盤胞にまで発生した。以上の結果から、単為発生卵との共培養

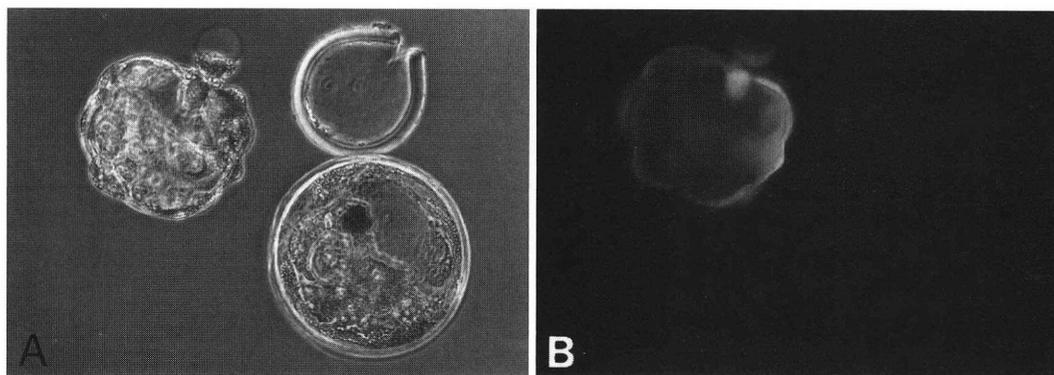


図2 普通光下 (A) および紫外線下 (B) で撮影した再構築胚 (左) あるいは単為発生卵 (右) に由来する胚盤胞

はブタ再構築胚の発生を促進することが明らかになった。マウスでは、胚発生に必要な成長因子を胚自身が分泌しており、単独で培養した場合にはそれらの濃度が低下するために胚の発生が抑制されると考えられている¹⁹⁾。単為発生卵との共培養によるブタ再構築胚の発生促進も、単為発生卵から分泌される成長因子によってもたらされるのだろう。

Green fluorescent protein (GFP) 発現細胞の除核未受精卵への移植

先の実験において、1 個の再構築胚が胚盤胞にまで発生したが、胚盤胞由来細胞のゲノムが除核未受精卵中に移植され、その遺伝情報によって再構築胚が発生していることを確認するには、遺伝的マーカーを持つ細胞をドナーとして用いる必要がある。GFP は紫外線照射下で緑色の蛍光を発するタンパク質であるが、その発現を生存細胞中で経時的に観察することができるので遺伝的マーカーとして有用である²⁰⁾。そこで、胚盤胞由来細胞に GFP 遺伝子を導入することによって、GFP 発現細胞株を樹立した。得られた GFP 発現細胞を除核未受精卵に移植することにより再構築胚を作製し、単為発生卵と共培養した。237 個の細胞-卵子複合体に電気刺激を付加した結果、102 個 (43%) において融合が認められた。これらの融合胚を培養した結果、3 個 (3%) が胚盤胞にまで発生した。これらの胚盤胞に紫外線を照射した結果、すべての胚において緑色の蛍光が観察された (図 2)。以上の結果から、再構築胚は移植した胚盤胞由来細胞の遺伝情報によって胚盤胞にまで発生していることが確認された。

おわりに

本研究の結果から、体外作出したブタ脱出胚盤胞から長期間継代培養し得る細胞株を樹立できることが明らかになった。また、それらの細胞を除核未受精卵に移植することによって作製した再構築胚は、胚盤胞にまで体外発生し得ることが示された。現在、これらの再構築胚を仮親に移植することにより、産仔への発生能について検討している。本稿に示したようなクローンブタの作出系が確立されれば、トランスジェニックブタの生産も可能になると思われる。なお、本稿は第 44 回日本不妊学会学術講演会のワークショップ「ART の最前線」における講演内容をまとめたものである。

文 献

- 1) Evans MJ and Kaufman MH (1981) Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 292: 154-156
- 2) Martin GR (1981) Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 7634-7638
- 3) Bradley A, Evans MJ, Kaufman MH, et al. (1984) Formation of germ-line chimaeras from embryoderived teratocarcinoma cell lines. *Nature* 309: 255-256
- 4) 高木 弘 (1995) 異種移植臨床ドナーとしてのブタ. *医学のあゆみ(別冊メディカルトピックス)* 22: 152-153
- 5) 佐藤英明 (1996) 異種移植臓器ドナーとしてのトランスジェニックブタの開発戦略. *畜産の研究* 50: 59-64

- 6) Campbell KHS, McWhir J, Ritchie WA, et al. (1996) Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature* 380 : 64-66
 - 7) Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, et al. (1997) Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385 : 810-813
 - 8) Cibelli JB, Stice SL, Golueke PJ, et al. (1998) Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts. *Science* 280 : 1256-1258
 - 9) Kato Y, Tani T, Sotomaru Y, et al. (1998) Eight calves cloned from somatic cells of a single adult. *Science* 282 : 2095-2098
 - 10) Wakayama T, Perry ACF, Zuccotti M, et al. (1998) Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature* 394 : 369-374
 - 11) Baguisi A, Behboodi E, Melican DT, et al. (1999) Production of goats by somatic cell nuclear transfer. *Nature Biotech* 17 : 456-461
 - 12) Miyoshi K, Taguchi Y, Sendai Y, et al. (2000) Establishment of a porcine cell line from *in vitro*-produced blastocysts and transfer of the cells into enucleated oocytes. *Biol Reprod* 62 : 1640-1646
 - 13) Petters RM and Wells KD (1993) Culture of pig embryos. *J Reprod Fertil (Suppl)* 48 : 61-73
 - 14) Wright RW Jr (1977) Successful culture *in vitro* of swine embryos to the blastocyst stage. *J Anim Sci* 44 : 854-858
 - 15) Hagen DR, Prather RS, Sims MM, et al. (1991) Development of one-cell porcine embryos to blastocyst stage in simple media. *J Anim Sci* 69 : 1147-1150
 - 16) Miyano T, Hiro-oka RE, Kano K, et al. (1994) Effects of hyaluronic acid on the development of 1- and 2-cell porcine embryos to the blastocyst stage *in vitro*. *Theriogenology* 41 : 1299-1305
 - 17) Nagashima H, Ashman RJ and Nottle MB (1997) Nuclear transfer of porcine embryos using cryopreserved delipated blastomeres as donor nuclei. *Mol Reprod Dev* 48 : 339-343
 - 18) Paria BC and Dey SK (1990) Preimplantation embryo development *in vitro* : cooperative interactions among embryos and the role of growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 87 : 4756-4760
 - 19) O' Neill C (1997) Evidence for the requirement of autocrine growth factors for development of mouse preimplantation embryos *in vitro*. *Biol Reprod* 56 : 229-237
 - 20) Okabe M, Ikawa M, Kominami K, et al. (1997) 'Green mice' as a source of ubiquitous green cells. *FEBS Lett* 407 : 313-319
-

ヒト胚盤胞の急速凍結法 (Vitrification)

—生存率および妊娠率の検討—

Survival and Pregnancy Rates Following Vitrification of Human Blastocysts

佐藤 節子 横田 美賀子 横田 英巳
Setsuko SATO Mikako YOKOTA Hidemi YOKOTA
荒木 康久* 横田 佳昌
Yasuhisa ARAKI Yosimasa YOKOTA

横田産婦人科医院

Yokota Obstetrics and Gynecology Clinic, Gunma 371-0031, Japan

*高度生殖医療技術研究所

*The Institute for ARMT, Gunma 371-0037, Japan

現在まで胚盤胞の急速凍結保存 (Vitrification 法) による妊娠出産例は報告されていない。今回、著者らは、体外受精-胚移植後の各発育段階の余剰胚を、vitrification 法を用いて凍結保存を試みた。A 群 5 症例では、Day3~Day4 の余剰胚を凍結し、融解後胚盤胞まで培養し移植、B 群 18 症例では、Day3~Day4 の余剰胚を更に培養し、胚盤胞で凍結し融解後の胚盤胞を移植した。なお、比較検討のため、C 群 9 症例では、Day1~Day2 の余剰胚を slow freezing で凍結し、融解後胚盤胞まで培養し移植した。Vitrification 法の耐凍剤として VSED (Vitrification Solution Ethyleneglycol Dimethylsulphoxide) を利用し、10% ethyleneglycol (EG) を追加した 3 ステップ法で凍結した。A、B、C 群の胚の生存率 66.7%、80.0%、69.5%、着床率 44.4%、21.2%、22.2%、妊娠率 40.0%、33.3%、33.3% と 3 群間でほぼ同様な結果が得られた。B 群の vitrification 胚盤胞を用いて妊娠した 6 例の中の 1 例では、2000 年 6 月 23 日に健康な男児を出産した。1 例は妊娠 6 週で流産したが、4 例は現在それぞれ順調な妊娠経過を辿っている。著者らの行なった vitrification は操作が簡便で、臨床的意義が高く、Day3~Day4 分割胚のみならず胚盤胞にも応用でき、今後の普及が期待される。

キーワード：胚盤胞，VSED，急速凍結法，緩慢凍結法，体外培養

(日不妊誌 46: 63-68, 2001)

緒 言

ヒト胚の体外培養技術の進歩により、胚盤胞の移植が多くの施設で行なわれるようになってきた。胚盤胞移植は移植胚数が 1~2 個で、良好な妊娠率が得られるため、多胎防止にも役立っている^{1,2)}。それに伴い胚盤胞の余剰胚凍結保存の必要性が高まってきたが、現在

まだその方法は確立されていない。胚の凍結保存方法は slow freezing 法と vitrification 法とがある。現在 slow freezing 法が一般的であるが、高価なプログラムフリーザーが必要であり、かつ操作に手間がかかり長時間を要する。これに対して vitrification 法は、プログラムフリーザー不要で手技も簡便なことから、臨床的意義は大きく注目されつつある。現在、胚盤胞の凍結

保存による妊娠出産例の報告は slow freezing 法のみであり, vitrification 法による報告は見当たらない. 今回, 著者らはヒト分割胚および胚盤胞の急速凍結保存に, Ishimori らのマウスおよびウシ胚の vitrification 法^{3,4)}を応用し, 良好な胚の生存率, 着床率, 妊娠率が得られ, 1例が健児を出産したので報告する.

対象および方法

1999年3月より2000年3月までの余剰胚を vitrification した患者を2群(A, B)に分け, また初期胚を slow freezing した患者をC群とし, それぞれの胚を胚盤胞移植した. それぞれの群における胚の生存率, 着床率及び妊娠率を比較検討した. A群はDay3~Day4の余剰分割胚を vitrification 法で凍結し, 後日融解後Day5~Day6まで体外培養して胚盤胞を移植した5症例. B群はDay3~Day4の余剰分割胚を更にDay5~Day6まで体外培養し, 胚盤胞で vitrification 凍結して, 後日融解移植した18症例. C群はDay1~Day2余剰胚を slow freezing で凍結し, 融解後Day5~Day6まで体外培養し胚盤胞移植した9症例である. いずれの症例も vitrification 凍結に際し, 患者によく説明し, 承諾のもとに臨床応用した.

卵巣刺激は, gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist (buserelin asetat, suprecur, Aventis Pharma Ltd) と human menopausal gonadotropin (hMG 日研, 日研化学) を用いた long protocol 法で行なった. 主席卵胞が18mmを超えた時点で human chorionic gonadotropin (hCG, pregnyl Organon) を10000単位筋注し, 35時間後に経陰超音波下で採卵した. 培養液は媒精からDay3まではHTF medium (GIBCO社), Day4~Day6まではSydney IVF Blastocyst medium (COOK社)を使用した.

急速凍結方法は20%SSS合成血清を添加した m-HTF と ethyleneglycol (EG), dimethylsulphoxide (DMSO) を2:1:1の割合に調整した耐凍剤 VSED (Vitrification Solution Ethyleneglycol Dimethylsulphoxide) を用いた. VSED は Ishimori ら^{3,4)}がマウスおよびウシ胚の vitrification に用いた耐凍剤で, 著者らはこの方法に更に10%EGを追加した3ステップ法で急速凍結した. 図1に示すように, まず胚を基礎媒液に数分間浸した後, 10%EGに5分間保持し, 次いで50%VSEDへ1分間保持した. さらに30秒間VSEDに保持し, その30秒の間にストロー内に封入した. ストロー内は胚の両側に air を充填し, 融解時の耐凍剤

として0.5M sucrose を充填した. 胚を封入後, 直ちに液体窒素(LN)上の発泡スチロール板に2分間保持後, LN中に投入した. 融解方法はLNの保管器から取り出したストローを10秒間 air thawing し, 更に室温程度の温水に氷晶が解けるまで浸した後, 速やかにストローを振って混和し, 1ステップで希釈した. その後 Blastocyst medium で6時間以上体外培養し, 胚の生存を確認した. 胚の移植は clomiphene citrate 投与周期または cyclofenil 投与周期に少量の hMG を投与し, 卵胞成熟を促して胚と子宮内膜の同期化を図り, 排卵後5日目から6日目に移植した.

結 果

A~C群の臨床的背景を表1に示した. vitrification を実施した2群(A, B)と slow freezing したC群の胚で, 生存率, 着床率, 妊娠率について比較検討した成績を表2に示した. A群の40%は卵巣過剰刺激症候群(OHSS)予防のため全凍結し, 他は移植後の余剰胚であった. B群はすべて移植後の余剰胚であった. C群は66.7%(%)はOHSS予防のため2前核期胚で全凍結したもので, 残りは移植後の余剰胚である. 全凍結胚は Veeck 分類のG1~G3のバラツキがあったが, 余剰胚は Veeck 分類のG2~G3のものが大部分である. A群の移植周期数は5周期で, 融解した胚の数15個の内生存した10個の胚を移植した. 胚の生存率66.7%(10/15), 着床率44.4%(4/9), 妊娠率40%(2/5)であった. 妊娠例2例の内1例は双胎妊娠であったが妊娠7週で流産した. もう1例は順調な妊娠経過を辿っている. B群の移植周期数は18周期で, 融解した胚の数45個の内生存した36個の胚を移植した. 胚の生存率80%(36/45), 着床率21.9%(7/32), 妊娠率33.3%(6/18)であった. 妊娠した6例の内1例は2000年6月23日に健康な男児を出産した. 出生時の体重3026g, 身長51cmであり, 染色体は46XYの正常核型であった. 残りの1例は妊娠6週で流産したが, 4例は現在それぞれ順調な妊娠経過を辿っている. C群の移植周期数は9周期で, 融解した胚の数は59個の内生存した41個の胚を移植した. 胚の生存率69.5%(41/59), 着床率22.2%(6/27), 妊娠率33.3%(3/9)であった.

考 察

近年, 体外受精胚移植(IVF-ET)をはじめとする生殖補助技術(ART)は目覚ましい進歩をとげ, 本邦でも1999年6月現在日本産科婦人科学会に登録されて

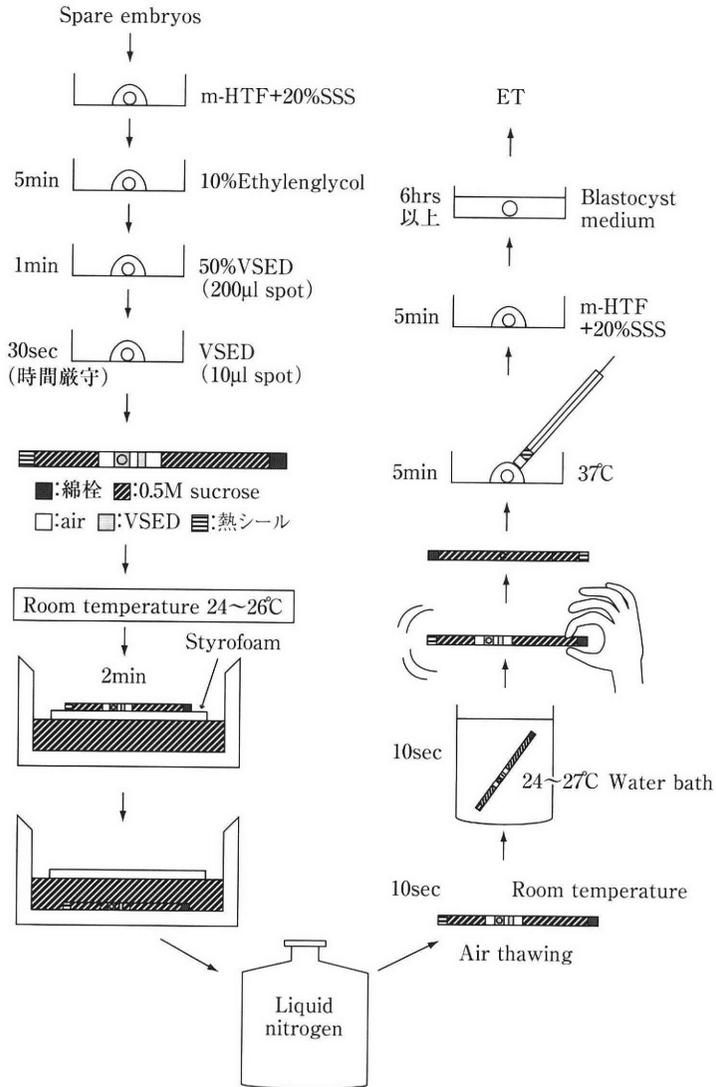


図1 Vitrification 法による胚盤胞の凍結融解

いる IVF-ET の実施施設は 315 施設となったが、受精卵の凍結を行なっている施設は 125 施設にとどまっている⁵⁾。日本産科婦人科学会は不妊治療で IVF-ET を行なうすべての医療施設で受精卵を凍結保存できる設備をもつべきだと勧告している。

現在行なわれている胚の凍結法は slow freezing 法が一般的である。しかし slow freezing 法は高価なプログラムフリーザーを必要とし、操作も煩雑で長時間を要するので敬遠されがちである。一方、vitrification 法はプログラムフリーザー不要で操作も簡便であり、しかも短時間でこなえることから注目されている。vit-

rification 法による胚の凍結保存は、1985 年 Rall らのマウスでの基礎的な研究により開始され⁶⁾、その後ヒト胚でも応用されるようになった。1990 年 Gordts ら⁷⁾ Barg ら⁸⁾により最初の妊娠例が報告され、1991 年には Feichtinger ら⁹⁾が、1999 年 Hsieh ら¹⁰⁾が出産例を報告した。これらは 1~16 細胞期胚を凍結したもので、耐凍剤として DMSO を用いたものである。また、1996 年太田らは 8 細胞期胚を¹¹⁾、1998 年 Mukaida らは 2~8 細胞期胚を¹²⁾、耐凍剤の EG を用いて凍結し妊娠出産例を報告している。しかし、いずれの耐凍剤でも今日まで満足すべき妊娠率は得られていない。

表1 対象者の臨床的背景

対象群 凍結方法	A 群 (Day 3 ~ Day 4 の胚)	B 群 (Day 5 ~ Day 6 の胚)	C 群 (Day 1 ~ Day 2 の胚)	
	Vitrification	Vitrification	Slow freezing	
患者数(治療周期数)	5(5)	20(20)	9(9)	
年齢(平均±SD)	32.6 ± 3.3	31.4 ± 4.0	31.4 ± 2.7	
妊娠の既往(%)	3/5(60)	3/20(15)	3/9(33.3)	
IVF 適応	男性因子(%)	1/5(20)	1/9(11.1)	
	機能性因子(%)	1/5(20)	2/9(22.2)	
	卵管因子(%)	3/5(20)	7/20(35)	6/9(66.7)
	conv-IVF(%)	4/5(80)	10/20(50)	7/9(77.8)
受精法	ICSI(%)	1/5(20)	10/20(50)	2/9(22.2)
採卵数(平均±SD)	20.2 ± 8.9	13.4 ± 5.8	23.9 ± 5.7	
受精率(%) (平均±SD)	73.4 ± 16.7	78.4 ± 14.6	73.7 ± 11.9	
新鮮胚移植数(平均±SD)	3.0 ± 0.0	2.8 ± 0.4	3.0 ± 0.0	
凍結胚数(平均±SD)	11.8 ± 11.2	3.8 ± 4.9	14.6 ± 7.7	

SD: 標準偏差

表2 各群の凍結成績

対象群 凍結方法	A 群 (Day 3 ~ Day 4 の胚)	B 群 (Day 5 ~ Day 6 の胚)	C 群 (Day 1 ~ Day 2 の胚)
	Vitrification	Vitrification	Slow freezing
融解胚数(平均±SD)	3.0 ± 0.7	2.5 ± 1.1	6.6 ± 1.7
生存率(%)	10/15(66.7)	36/45(80.0)	41/59(69.5)
移植胚数(平均±SD)	1.8 ± 0.4	1.7 ± 1.0	3.0 ± 0.5
着床率(%)	4/9(44.4)	7/32(21.9)	6/27(22.2)
妊娠率(%)	2/5(40.0)	6/18(33.3)	3/9(33.3)

SD: 標準偏差

今回著者らは耐凍剤としてEG, DMSOを用いたIshimoriらのマウスおよびウシ胚のvitrification法^{3,4)}に、さらに1ステップ(10%EG)を追加した方法で、ヒト胚(8細胞~桑実胚, 胚盤胞)を急速凍結し、良好な胚の生存率, 着床率, 妊娠率を得ることに成功した。現在著者らの施設ではART2回まではDay3胚を移植し、3回目よりDay5またはDay6胚(胚盤胞)を移植している。Day3胚移植後の余剰胚は、原則としてDay5~Day6まで体外培養し、胚盤胞となった胚はvitrification(B群)している。我々がルーチンで行なっているB群の凍結胚(胚盤胞)の生存率, 着床率, 妊娠率は、初期胚をslow freezingし、後日融解した後胚盤胞まで培養して移植したC群の成績と、ほぼ同程度と良好なものであった。

これまで胚盤胞の凍結保存による妊娠例の報告はslow freezing法のみである¹³⁻¹⁵⁾。Vitrification法での

報告は著者らの報告¹⁶⁾以外ない。また著者らの実施したvitrification法は分割胚(8細胞, 桑実胚)でも有用であり、これまで報告されている分割胚の妊娠率(9.8~20%)⁷⁻¹⁰⁾より良好なものであった。近年vitrificationの弊害も問われている。Michelle Laneらはcryoloopによるvitrification法を推奨しているが¹⁷⁾、Bielanskiらによると極めて希ではあるがLNに混入したvirusが存在する場合、感染症の問題があると警告している¹⁸⁾。著者らの方法は、胚をストロー内に充填してあるので、直接LNに触れることなく安全である。vitrificationとは液体を結晶化することなく固相化することを表現した用語であり¹⁹⁾、この方法による凍結には、かなり高濃度の耐凍剤を使用するため、その化学的毒性が心配される。その他にもslow freezingと同様、冷却~加温過程の細胞内氷晶形成やフラクチャー、さらに等張液に回収する際の浸透圧的膨張によっても

傷害を受ける可能性がある²⁰⁾。これらの中で最大の問題となるのは耐凍剤の毒性である。著者らの用いた耐凍剤 (EG, DMSO) は、すでにヒト分割胚で臨床応用されており、EG 単独では 30~40%^{11, 12)} DMSO 単独では 2.5M~4.5M⁷⁻¹⁰⁾ の濃度で使用し、ヒト胚の妊娠出産例が報告されている。EG と DMSO を組み合わせた方法では Michelle Lane ら¹⁷⁾ は、著者らが用いた濃度よりやや低濃度で胚盤胞の vitrification を行っており、良好な胚の生存率を報告しているが、まだ妊娠例の報告はない。著者らの使用した EG と DMSO の濃度は、これまで報告された濃度より特に高濃度でもなく、平衡時間もほぼ同等であることから、安全性について問題ないと思われた。さらに耐凍剤の種類、濃度、平衡時間は胚の生存率からみても、ヒト胚に適していたことが示唆された。以上より著者らの実施したヒト胚盤胞の急速凍結法 (vitrification 法) は胚の生存率、着床率、妊娠率ともに極めて良好であり、さらに 10 分程度で行なえることから、今後 slow freezing 法に変わり広く臨床応用されるものと思われる。

文 献

- 1) Gardner DK, Vella P, Lane M, et al. (1998) Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rates and reduces the need for multiple embryo transfer. *Fertil Steril* 69: 84-88
- 2) Jones GM, Trouson A, Lolatgis N, et al. (1998) Factors affecting the success of human blastocyst development and pregnancy following *in vitro* fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 70: 1022-1029
- 3) Ishimori H, Takahashi T, Kanagawa H, et al. (1992) Viability of vitrified mouse embryos using various cryoprotectant mixtures. *Theriogenology* 37: 481-487
- 4) Ishimori H, Saeki K, Inai M, et al. (1993) Vitrification of bovine embryos in a mixture of ethylene glycol and dimethyl sulfoxide. *Theriogenology* 40: 427-433
- 5) 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: 361-394
- 6) Rall WF and Fahy GM (1985) Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196°C by vitrification. *Nature* 313: 573-575
- 7) Gordts S, Roziers P, Campo R, et al. (1990) Survival and

pregnancy outcome after ultrarapid freezing of human embryos. *Fertil Steril* 53: 469-472

- 8) Barg PE, Barad DH and Feichtinger W (1990) Ultrarapid Freezing (URF) of mouse and human preembryos: A modified approach. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 6: 355-357
- 9) Feichtinger W, Hochfellner C and Ferstl U (1991) Clinical experience with ultra-rapid freezing of embryos. *Hum Reprod* 6: 735-736
- 10) Hsieh YY, Tsai HD, Chang CC, et al. (1999) Ultrarapid cryopreservation of human embryos: experience with 1,582 embryos. *Fertil Steril* 72: 253-256
- 11) 太田信彦, 野原 理, 小島原敬信, 他 (1996) Vitrification 法によるヒト胚凍結の実際—妊娠, 分娩に至った 1 症例—. *日不妊会誌* 41: 48-51
- 12) Mukaida T, Wada S, Takahashi K, et al. (1998) Vitrification of human embryos based on the assessment of suitable conditions for 8-cell mouse embryos. *Hum Reprod* 13: 2874-2879
- 13) Cohen J, Simons RF, Edwards RG, et al. (1985) Pregnancies following the frozen storage of expanding human blastocysts. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 2: 59-64
- 14) Hartshorne GM, Elder K, Crow J, et al. (1991) The influence of *in-vitro* development upon post-thaw survival and implantation of cryopreserved human blastocysts. *Hum Reprod* 6: 136-141
- 15) Menezo Y, Nicollet B, Herbaut N, et al. (1992) Freezing cocultured human blastocysts. *Fertil Steril* 58: 977-980
- 16) Yokota Y, Sato S, Yokota M, et al. (2000) Successful pregnancy following blastocyst vitrification. *Hum Reprod* 15: 1802-1803
- 17) Michelle Lane, William B, Gardner D, et al. (1999) Vitrification of mouse and human blastocysts using a novel cryoloop container-less technique. *Fertil Steril* 72: 1073-1078
- 18) Bielanski A, Nadin-Davis S, Sapp T, et al. (2000) Viral contamination of embryos cryopreserved in liquid nitrogen. *Cryobiology* 40: 110-116
- 19) Fahy GM, Macfarlane DR, Angell CA, et al. (1984) Vitrification as an approach to cryopreservation. *Cryobiology* 21: 407-426
- 20) 葛西孫三郎 (1996) 受精卵の急速凍結法 (vitrification 法). *低温医学* 22: 137-145

(受付: 2000 年 7 月 25 日)

(受理: 2000 年 9 月 27 日)

Survival and Pregnancy Rates Following Vitrification of Human Blastocysts

Setsuko Sato, Mikako Yokota, Hidemi Yokota
Yasuhisa Araki* and Yosimasa Yokota

Yokota Obstetrics and Gynecology Clinic, 1-16-5, Shimokoide, Maebashi 371-0031, Japan

*The Institute for ARMT, 2-39-3, Kamikoide, Maebashi 371-0037, Japan

We discuss herein the clinical effectiveness of vitrification to successfully cryopreserve human blastocysts in comparison with that of the slow freezing method previously used for Day1 or Day2 embryos. We used a modification of Ishimori's vitrification solution of ethylene glycol and dimethyl sulfoxide (VSED) to vitrify blastocysts developed from Day3 or Day4 supernumerary embryos. The survival rate of blastocysts was 80.0% (36/45) and implantation were 21.9% (7/32) and pregnancy rates were 33.3% (6/18) for blastocysts. These results compare relatively well with those reported for the previously used slow freezing method. In the slow freezing method group, the survival, implantation and pregnancy rates were 69.5% (41/59), 22.2% (6/27) and 33.3% (3/9), respectively. Following implantation of the vitrified blastocysts in the present study, 1 of 6 pregnant women recently delivered a healthy baby with normal 46, XY karyotype. These clinical results suggest that this rapid and successful vitrification procedure might replace convenient cryopreservation in the near future.

Key words : VSED, vitrification, slow freezing

(Jpn J Fertil Steril 46 : 63-68 2001)

精子受精能と各種血中ホルモン値との関連性

Relationship between Sperm Fertilizing Ability and Serum Hormone Levels

香月孝史 原 鐵 晃 大濱 紘 三
Takafumi KATSUKI Tetsuaki HARA Koso OHAMA
上田 克 憲¹⁾ 岡野 真一郎²⁾
Katsunori UEDA Sinichiro OKANO

広島大学医学部産科婦人科学教室

Department of Obstetrics and Gynecology,

Hiroshima University Faculty of Medicine,

Hiroshima 734-8551, Japan

¹⁾ 県立広島病院産科

Department of Obstetrics, Hiroshima Prefectural Hospital,

Hiroshima 734-8530, Japan

²⁾ 呉共済病院産婦人科

Department of Obstetrics and Gynecology, Kure Kyousai Hospital,

Hiroshima 737-0134, Japan

ゴナドトロピンをはじめとする血中ホルモン値が精液パラメーター（精子濃度および運動率）とよく相関することは知られているが、精子受精能との関連性を検討した報告は少ない。そこで、受精能の有用な指標である精子先体反応率（% of Acrosome Reaction；%AR）を用いて両者の関連を解析すると共に%AR測定の臨床的意義を検討した。対象は平成9年6月から10年5月までに不妊を主訴として当科を受診した男性105例で、うち51例が正常精液群（精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上かつ運動率50%以上）54例異常精液群であった。検討の結果精子濃度に関しては異常例は正常例に比較して、FSH、LH、testosteroneが有意に高値であるのに対し、運動率についてはFSHのみが有意な高値を示した。一方%ARは精子濃度および運動率との間に正の相関が認められたが血中ホルモン値との間には関連はみられなかった。以上より、精子受精能は男性の内分泌パラメーターとは独立したものであり、血中ホルモン値から先体反応の良否を予測することができないことが判明した。したがって、精子受精能検査は男性不妊に対する必要不可欠な検査の一つとして実施すべきものであると思われた。

キーワード：精子先体反応，受精，血中ホルモン，精液パラメーター

（日不妊会誌 46：69-77, 2001）

緒 言

従来より男性の妊孕性の評価法として精子濃度や運動率などの精液パラメーター検査が行われてきたが、最近ではより妊孕性を反映する指標として種々の精子

受精能検査が実施されるようになった。著者らはCa ionophoreにより誘起される精子先体反応率（以下、% of Acrosome Reaction；%AR）について検討し、%ARが精子受精能の有用な指標として臨床応用できることを報告してきた¹⁾。しかし、精子受精能検査は精液

パラメーター検査に比べると手技的に複雑でしかも時間を要するものであるため、必ずしもルーチン検査として普及するには至っていない現状であるが、もし測定の容易な血中ホルモン値などから精子受精能がある程度評価できれば臨床上有用と考える。

そこで今回、精子受精能の指標として%ARと精子濃度、運動率などの精液パラメーターとの関連、および血中FSH、LH、testosterone、PRL値などの内分泌学的パラメーターとの関連を解析し、血中ホルモン値から先体反応の良否が予測できるか否かについて検討した。

対象および方法

平成9年5月から10年6月の間に当科不妊外来を

受診した男性105名(以前に妊娠させた経歴がない)を対象とした。対象者の年齢は25歳から48歳で、平均33.6歳であった。

用手的に採精された精液精子の濃度と運動率(前進する精子の比率)をMakler計算盤により測定した。%ARの測定は当教室の方法によったが¹⁾、簡単に示すと精液からswim-up法(1時間)で運動性の良好な精子を回収後、mBWW培養液中で5時間培養(37℃、5%CO₂ in Air)し、その後Ca ionophore A23187(10μM)で1時間処理して先体反応を誘起した。精子をスライドガラス上に固定した後、Crossら²⁾の方法に準じて2重蛍光染色(fluorescein isothiocyanate-conjugated Pisum sativum agglutinin, FITC-PSAとHoechst 33258)を行い、生存かつ先体反応完了直後と判定され

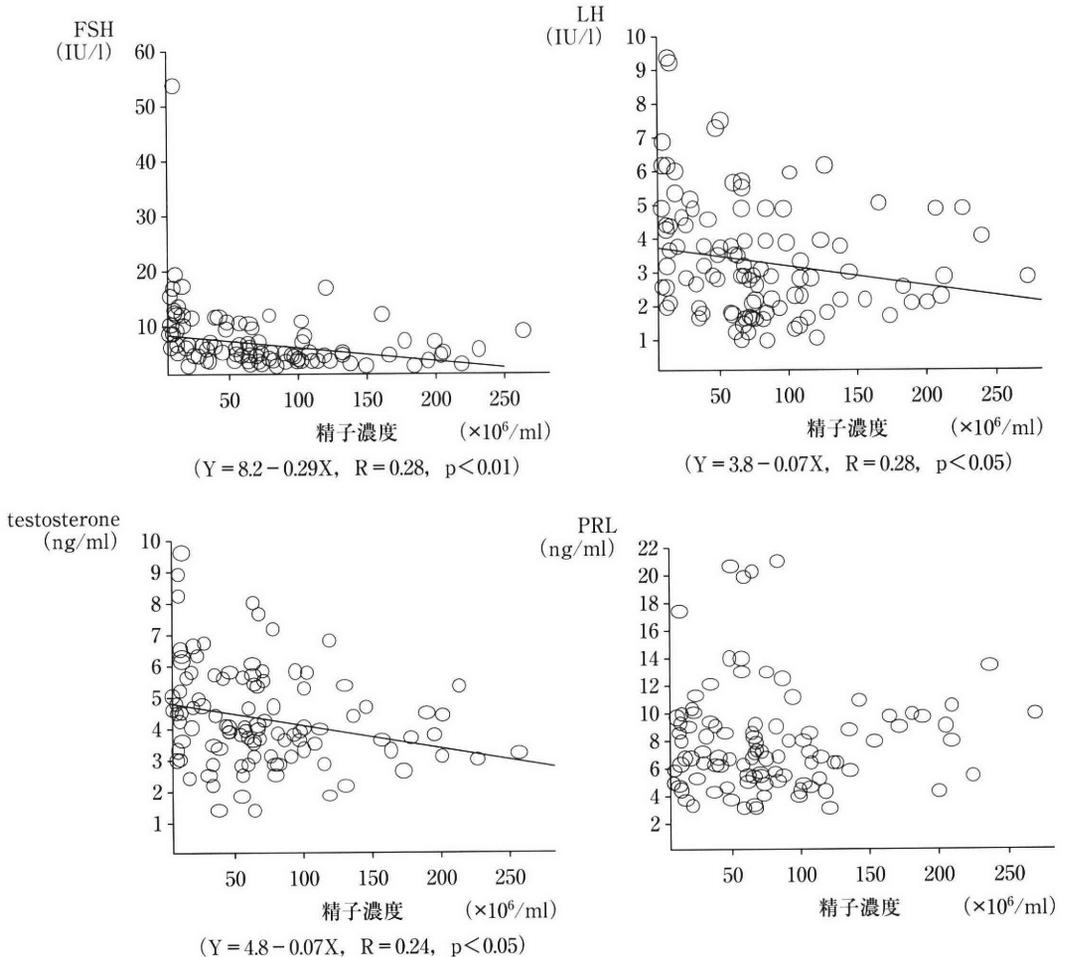


図1. 精子濃度と各種血中ホルモン値との相関

る精子の比率を2種類の励起フィルターを内臓する蛍光顕微鏡 (NIKON, X2F-EFD2, 1,000 倍, 油浸) を用い求めこれを%ARとした。血中ホルモン値は採精の約1時間後に末梢静脈血を採取し, FSH, LH, PRL は CLIA 法で, testosterone は EIA 法で測定した。

これらの測定値を基に精子濃度, 運動率と血中ホルモン値との相関を検討し, 次いで精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の正常群 (80 例) と $20 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の異常群 (25 例) との間の血中 FSH, LH, testosterone, PRL 値を比較検討した。また精子運動率が 50% 以上の正常群 (58 例) と 50% 未満の異常群 (47 例) に分けて同様な検討を行った。

%AR についても血中ホルモン値との関連性を検討し, また%AR を当教室のこれまでの成績に基づいて

受精能正常群 (17% 以上), 境界群 (10% 以上 17% 未満) および異常群 (10% 未満) の 3 群に区分し, 各群間の血中 FSH, LH, PRL, testosterone 値を比較した。血中 FSH, LH, testosterone, PRL 値のそれぞれの相関についても検討した。

結 果

1. 精液所見と血中ホルモン値の関連性

105 例の精液所見は, 精子濃度 $67.7 \pm 5.6 \times 10^6/\text{ml}$ (mean \pm SE, 以下同じ), 運動率 $49.3 \pm 2.2\%$, 血中ホルモン値は FSH $6.2 \pm 0.6\text{IU/l}$, LH $3.3 \pm 0.2\text{IU/l}$, PRL $7.4 \pm 0.4\text{ng/ml}$, testosterone $4.36 \pm 0.15\text{ng/ml}$ であった。

精子濃度と FSH, LH, testosterone との間には有意な負の相関が認められたが, PRL とは無関係であった

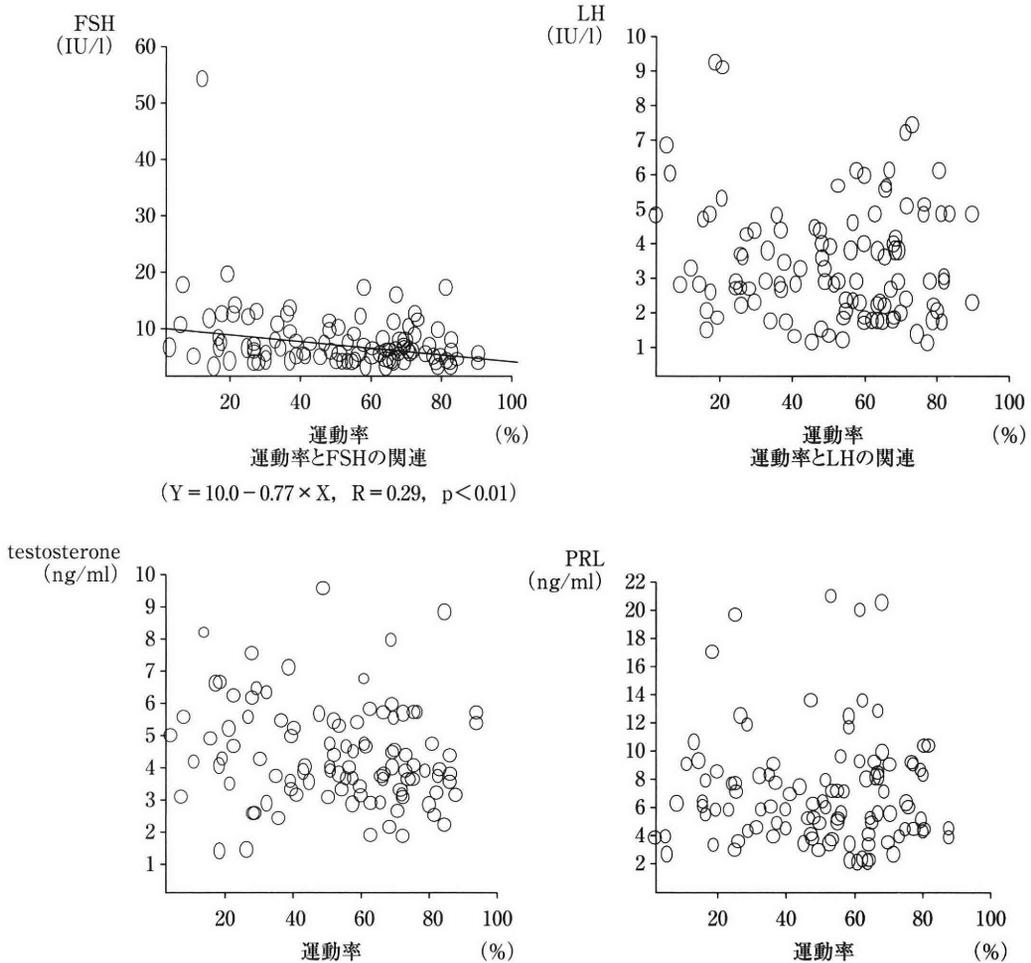


図 2. 運動率と各種血中ホルモン値との相関

表 1. 精液パラメーターと血中ホルモン値

	FSH	LH	testosterone	PRL
精子濃度				
正常群 (N=80)	4.8±0.3 IU/l	3.0±0.2 IU/l	4.1±0.2 ng/ml	7.6±0.4 ng/ml
異常群 (N=25)	10.7±0.3 IU/l	4.8±0.3 IU/l	5.3±0.3 ng/ml	7.0±0.6 ng/ml
精子運動率				
正常群 (N=58)	5.1±0.5 IU/l	3.3±0.2 IU/l	4.1±0.2 ng/ml	7.6±0.5 ng/ml
異常群 (N=47)	7.6±1.2 IU/l	3.4±0.3 IU/l	4.7±0.2 ng/ml	7.3±0.5 ng/ml

* p < 0.05

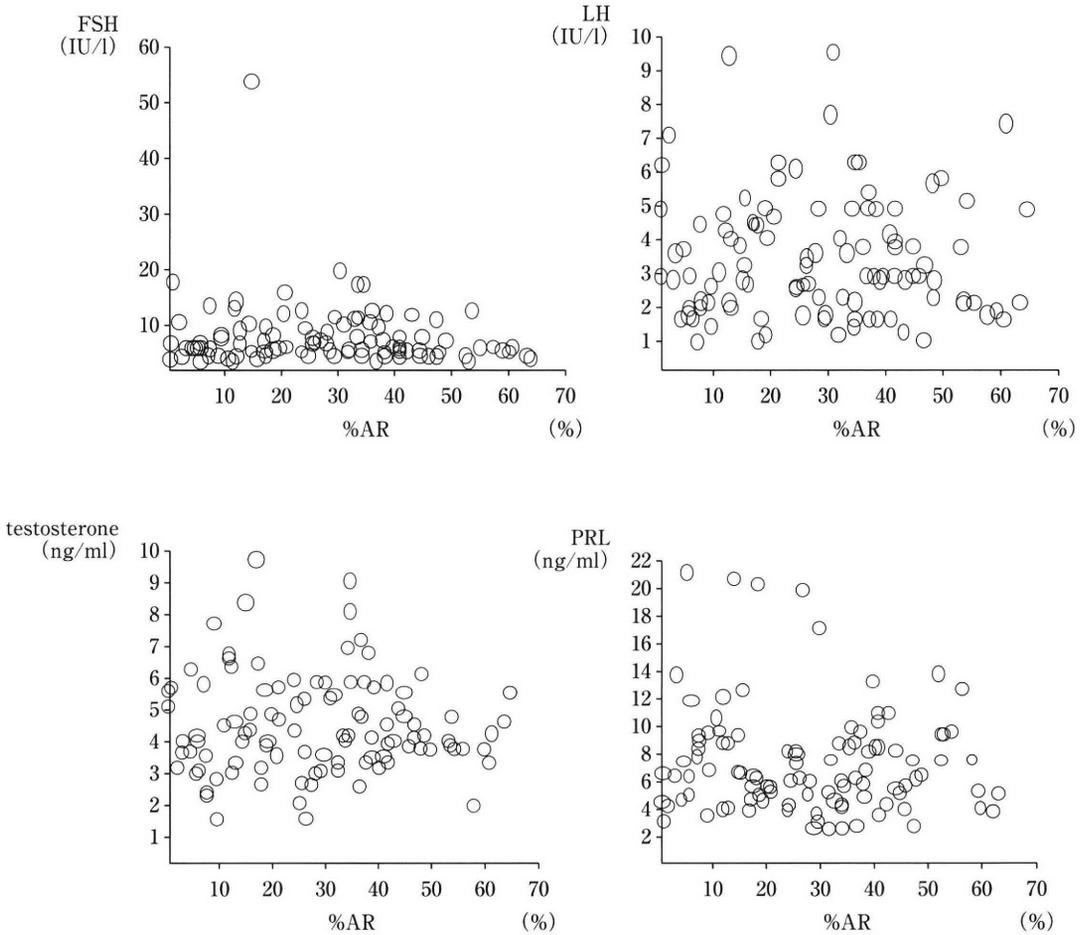


図 3. %AR と各種血中ホルモン値との相関

(図 1). FSH は、精子濃度正常群と異常群の間で比較すると異常群で有意に高値を示し、この差が他のホルモンの中で最も大きかった。FSH 10IU/l 以上の 17 例中 9 例は精子濃度 1,000 万/ml 以下であった。また、運

動率についても FSH が異常群でより高値を示したが (図 2)、その差は精子濃度における差より少なかった (表 1)。

2. %AR と血中ホルモン値の関連性

表 2. %AR と血中ホルモン値

	FSH	LH	testosterone	PRL
正常群 (N=68)	6.1±0.5 IU/l	3.4±0.2 IU/l	4.3±0.2 ng/ml	7.2±0.4 ng/ml
境界群 (N=13)	9.3±3.9 IU/l	3.9±0.5 IU/l	5.3±0.6 ng/ml	9.1±1.2 ng/ml
異常群 (N=24)	5.1±0.7 IU/l	2.9±0.3 IU/l	4.1±0.3 ng/ml	7.3±0.8 ng/ml

* p < 0.05

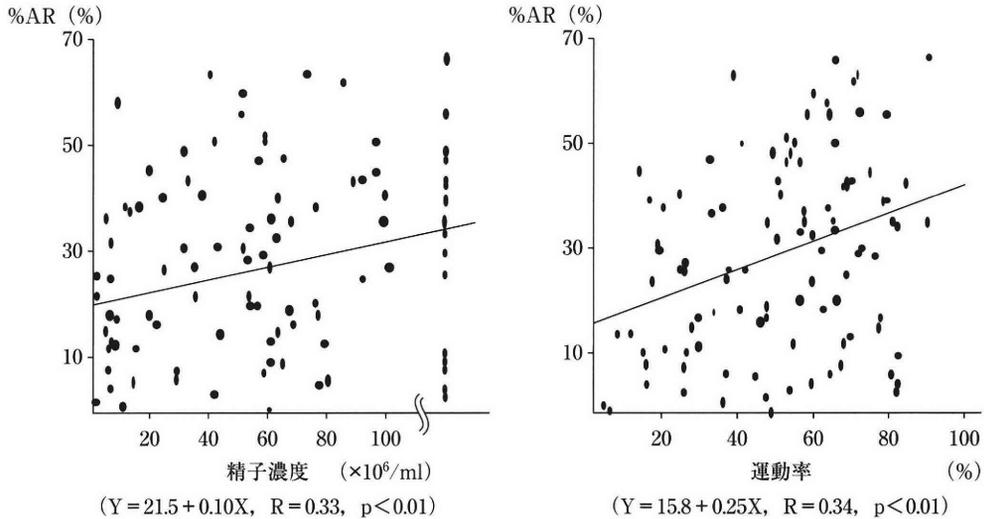


図 4. 精液パラメーターと%AR の相関

105 例の%AR は 28.3±1.7% で、血中 FSH, LH, PRL との間に相関を認めず (図 3), また正常群, 境界群, 異常群の 3 群間の比較でも有意差を認めなかった (表 2). 一方, %AR と testosterone との相関は認めなかったが、境界群は正常群あるいは異常群に比較して testosterone が若干ながら有意に高値であった。

3. 精液パラメーターと%AR の関連性

%AR は精子濃度および運動率との間にいずれも正の相関が認められた。(%AR = 21.5 + 0.10 × 精子濃度, R = 0.330, P < 0.01, %AR = 15.8 + 0.25 × 運動率, R = 0.338, P < 0.01) (図 4).

4. 血中ホルモン値相互の関連

PRL, FSH, LH, testosterone の各種ホルモン値の間の相関性を検討したところ, FSH, LH, testosterone の相互間は各々正の相関を示し, PRL と testosterone との間に負の相関を認めた (図 5).

考 察

不妊症の約 40~75% は男性因子が占めており³⁾, 男性不妊の原因検索を行うには精液パラメーターとともに精子受精能の評価が重要とされる。また、近年の ART の改良, 普及は多くの不妊患者に光明をもたらした。しかし ART の中心をなす conventional IVF と ICSI のいずれを選択するかは個別の検討により決定されるが、その際にも精子受精能が重要な判別要因となる。

Yanagimachi ら⁴⁾は先体反応は受精過程における重要なイベントであると報告しており、Avrech ら⁵⁾は ionophore-induced AR は精子の受精能を評価するすぐれた指標であると報告している。不妊治療特に conventional IVF の実施に際しては受精能にかかわる先体反応を正しく把握しておくことは重要である。一方 ICSI は受精能が低い重症男性不妊に対する画期的な治療法となっているが、採卵後の酵素処理や穿刺針に

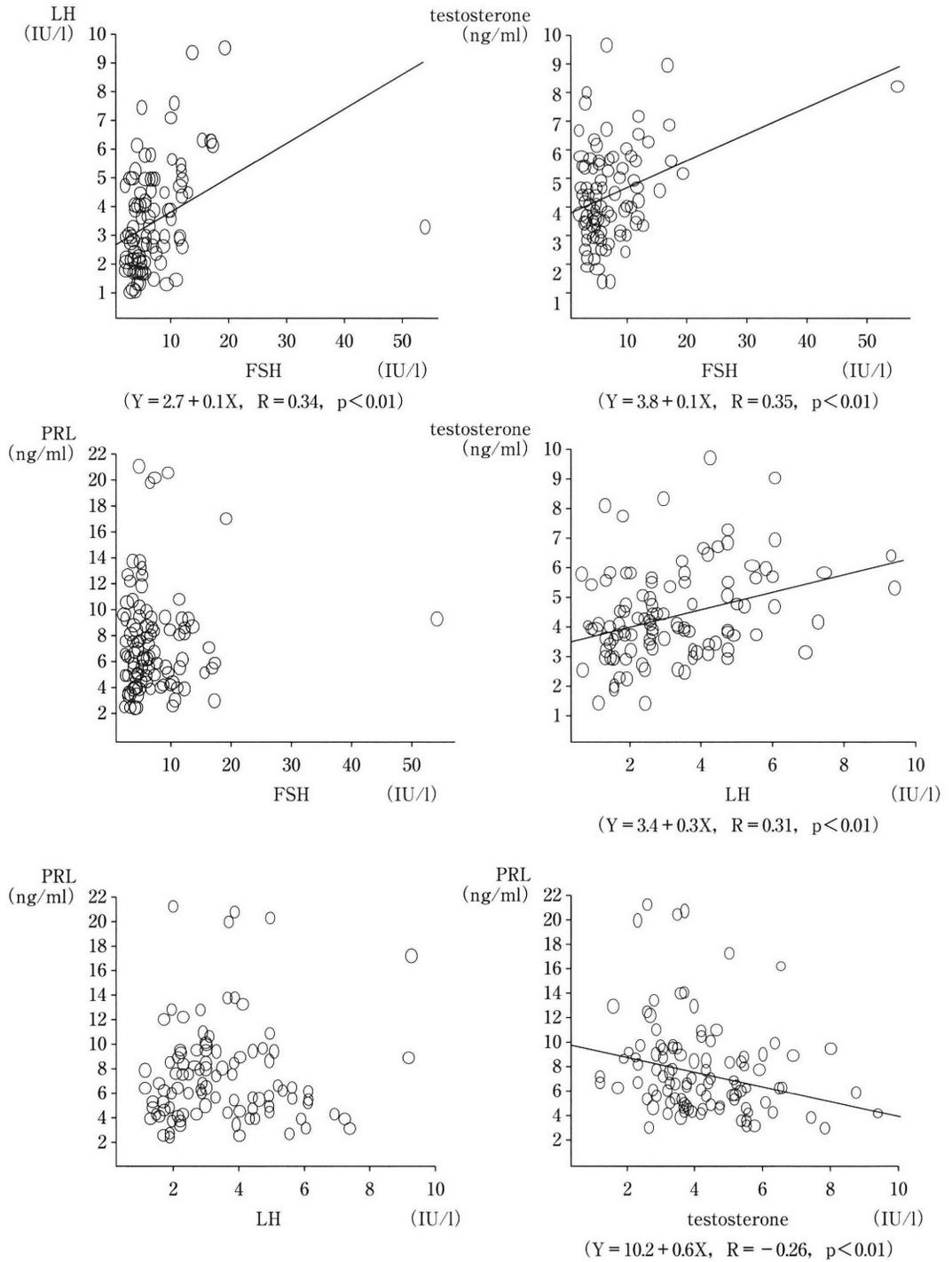


図5. 各種血中ホルモン値間の相関

よる卵子細胞膜穿孔などの問題が指摘されている。そのため多くの施設では先ず conventional IVF を行い、その結果受精卵が得られなかったり受精率が極めて低い場合に受精能に異常があるとして ICSI に変更している。しかし体外受精を受ける例は一般に年齢が高く、また経済性の面からも出来るだけ早期に最適な方法を決定することが望まれる。さらに精液検査も医療従事者が考える以上に患者側の精神的負担が大きく、また精子受精能検査には、多くの時間と手間を必要とする。一方、男性不妊患者の多くは血中ホルモン値が異常となることが知られており⁶⁾、もし血中ホルモン値から精液パラメーターや精子受精能の良否を予測することができれば、男性不妊のスクリーニングが簡便となり臨床的意義は高い。精子受精能と血中ホルモン値との関連性については十分な検討が行われていないが、精子の受精能獲得には精巣上皮で testosterone の作用が関わっていることや、progesterone や卵胞液が先体反応の誘起に使われていること^{7,8)}などから、先体反応と内分泌環境には何らかの関連が存在する可能性は否定できない。そこで今回、血中ホルモン値と精液パラメーターおよび先体反応(%AR)の関連を検討したところ、精液パラメーターの検討では、血中ホルモン値は運動率よりも精子濃度とより密接に関連していた。FSH は精細管内に作用し精巣上皮の保持や造精への関与を介して、精子濃度や運動率などの精液パラメーターと強く関わっている^{9,10)}とされ、無精子症患者では高値をとり、精巣生検による精子回収の可能性の判断を FSH 値からある程度判断できるという見解もある。今回の検討でも精子濃度あるいは運動率の異常群で FSH は有意な高値を示した。一方、LH も異常高値を示す男性では無精子症や重度の乏精子症が多いとの報告もあるが⁶⁾、一般的には FSH に比べると LH の変動は少なく、精液パラメーターとの関連性もより低いとされる。PRL と男性不妊との関連性は一定の見解がないが^{12,13)}、高 PRL 血症が性欲の低下や勃起不全、精子減少など精巣機能不全の原因となること、PRL 値と FSH、LH 値の相関が認められる¹¹⁾こと、低 testosterone 血症との関連が認められること、などから注目されている¹⁴⁾。今回の検討では PRL 値は精液パラメーターと相関を認めず、FSH、LH 値とも関連性はなかったが、testosterone 値との間に軽度の負の相関を認めた。このような高プロラクチン、低 testosterone の検出により異常精液例のスクリーニングが可能であるという報告⁶⁾もあるが、PRL および testosterone は正常範囲

内がほとんどであり、今回の検討でもそのような異常な血中ホルモンのパターンを示す例はみられなかった。Testosterone は LH 刺激により Leydig 細胞から分泌され、FSH 刺激により Sertoli 細胞が蛋白結合型にする。その産生は FSH、LH 以外にもマクロファージ¹⁵⁾やサイトカイン¹⁶⁾などによっても制御されている。今回の検討でも testosterone 値は精子濃度異常群において有意に高値を示したが、文献的には無精子症や高度な乏精子症では testosterone は低値を示す^{6,17)}、無精子症は低値を示すが乏精子症では有意差がない¹⁸⁾、精子濃度正常例では無精子症に比較して testosterone は高値を示す¹⁷⁾、精索静脈瘤では低下する^{19,20)}、精索捻転症の術後では testosterone が高値の傾向を示す²¹⁾など、さまざまな報告が見られる。

男性不妊の検査には、精子濃度や運動率などの精液検査がスクリーニング検査の最も基本的な検査である。現在、不妊患者に対して IUI、HIT、conventional IVF、ICSI などが広く行われている。女性の立場から不妊原因をみれば卵の Quality が最も問題となるが、男性側からみると乏精子症や精子無力症以外に受精能力異常や受精能力障害による原因が問題となる。受精率や妊娠率に関しては精液パラメーターと関連しない²²⁾という報告がある。そのため不妊治療を開始する前に精子受精能力を評価し無駄な治療を回避することが望まれる。

精子が受精能力を得るためには雌性生殖管を通過し、capacitation, acrosome reaction, hyper-activation といういわゆる受精能を獲得しなければならない。ヒト精子の先体反応は、精子が卵子の透明体を通過し卵細胞と融合するという受精過程に必須である。つまり、精子の受精能力は先体反応が正常に機能しているかに大きく関わってくる。精子の先体反応を検査する方法には、Zona-free hamster egg sperm penetration test (ZSPT) や Acrobeads test (ABT)、Triple stain 法などがある。高橋²³⁾らは、精子受精能検査の一つであるハムスターテストを用いて精子受精能と FSH 値に弱い負の相関を認める (n=37) 報告をしている。今回の検討では%AR と血中ホルモンとの関係は、testosterone 値が%AR 異常群で正常群と境界群より有意に低値となった以外、明らかな関連性は認められなかった。また%AR は精子濃度及び精子運動率とは正の相関を示すが相関性はそれほど高いものではないことが示された。著者らはこれまでに%AR は精子受精能の有用な指標であると報告してきたが²¹⁾、今回の検討から精液

パラメーターや血中ホルモン値から%ARの値を推測することは困難であることが明らかとなった。

以上の検討より%ARで評価される精子受精能は、精液パラメーターと異なり、血中ホルモン値と相関を示さず、血中ホルモン値から先体反応の良否を予測することは困難であることが明らかとなった。

文 献

- 1) 熊谷正俊, 上田克憲, 絹谷正之, 他(1993)先体反応率による精子受精能の評価—精液所見正常例における検討—, 産婦中四会誌 42:115-120
- 2) Cross NL, Morales P, Overstreet JW, et al. (1986) Two simple methods for detecting acrosome-reacted human sperm. Gamete Res 15: 213-226
- 3) 三浦一陽, 白井将文(1996)男性不妊症. からだの科学 189:61-65
- 4) Yanagimachi R (1994) Mammalian fertilization. In Knobil E, Neill J(eds), 2nd ed: The Physiology of Reproduction. Raven Press, New York, pp189-317
- 5) Avrech O, Fisch B and Shalgi R (1996) Acrosome status of human spermatozoa after follicular fluid or calcium ionophore challenge in relation to semen parameters and fertilizing capacity in vitro. Andrologia 29:79-101
- 6) Kuku SF and Akinyanju PA (1988) Serum levels of gonadotropins, prolactin and testosterone in oligo/azoospermic nigerian males. Int J Fertil 33: 40-44
- 7) Tesarik J (1985) Comparison of acrosome reaction-inducing activities of human cumulus oophorus, follicular fluid and ionophore A23187 in human sperm populations of proven fertilizing ability in vitro. J Reprod Fertil 74: 383-388
- 8) Tesarik J, Carrears A and Mendoza C (1996) Signal cell analysis of tyrosin kinase dependent and independent Ca^{2+} fluxes in progesterone induced acrosome reaction. Mol Hum Reprod 2: 225-232
- 9) Main SJ, Davies RV, Young MG, et al. (1976) Serum and pituitary gonadotropins after destruction of germinal cells in the testis by x-irradiation or heart. J Endocrinol 69: 23
- 10) Giagulli VA and Vermeulen A (1988) Leydig cell function on infertile men with idiopathic oligospermic infertility. J Clin Endocrinol Metab 66: 62-67
- 11) 大橋輝久, 森岡政明(1982)男子不妊症の内分環境. 西日泌尿 44:545-549
- 12) Segal S, Polishuk WZ and Ben-David M (1976) Hyperprolactinemic male infertility. Fertil Steril 27: 1425-1427
- 13) Hargreave TB (1977) Prolactin and gonadotropin in 208 men presenting with infertility. Br J Urol 49: 747-750
- 14) 皆川秀夫, 布施秀樹, 片海善吾, 他(1987)男子における高プロラクチン血症. 日不妊会誌 32: 195-199
- 15) 伊藤正裕 (2000) 精巣と免疫. 産婦実際 49: 309-319
- 16) 高榮 哲, 並木幹夫(2000)精巣機能と成長因子. 産婦世界 52: 167-175
- 17) Ishikawa H, Yoshii S, Kaneko S, et al (1985) Clinico-Statistical study on male infertility. Nisihon J Urol 47: 721-725
- 18) 吉井慎一, 真鍋文雄, 友 政宏, 他 (1989) 過去5年間の男子不妊症の臨床統計. 日不妊会誌 34: 455-459
- 19) Raboch J and Starka L (1971) Hormonal testicular activity in men with a valicocele. Fertil Steril 22: 152-155
- 20) 石田 章, 友吉唯夫(1995)男子不妊症における精索静脈瘤の手術成績. 日不妊会誌 40: 76-79
- 21) 角谷秀典, 高原正信, 石井弘之, 他(1988)精索捻転症の術後造精機能. 日不妊会誌 33: 798-802
- 22) Svalander P, Jakobsson AH, et al. (1996) The outcome of intracytoplasmic sperm injection is unrelated to strict criteria' sperm morphology. Hum Reprod 11: 1019-1022
- 23) 高橋健太郎, 内田昭宏, 吉野和男, 他(1989)男性不妊患者におけるハムスターテストと各種血中ホルモン値との関連性. 日受着会誌 6: 66-69

(受付: 2000年7月31日)

(受理: 2000年10月2日)

Relationship between Fertilizing Ability of Sperm and Serum Hormonal LevelsTakafumi Katsuki, Tetsuaki Hara, Koso Ohama, Katsunori Ueda¹⁾, Shinichiro Okano²⁾Department of Obstetrics and Gynecology,
Hiroshima University School of medicine,
Hiroshima 734 - 8551, Japan¹⁾Department of Obstetrics, Hiroshima Prefectural Hospital,
Hiroshima 734 - 8530, Japan²⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Kure Kyou Sai Hospital,
Kure 737 - 0134, Japan

The study was aimed to analyze the relationship between serum levels of FSH, LH, testosterone and PRL and the percentage of acrosome reaction (%AR) which is considered as one of the most useful index of fertilizing ability. A total of 105 male patients who visited our reproductive center were examined and 51 of them had normal sperm parameters (sperm concentration $>20 \times 10^6$ and sperm motility $>50\%$) and the remaining 54 had abnormal ones. The serum levels of FSH, LH and testosterone in the group of normal sperm concentration were significantly higher than those in abnormal group. In terms of sperm motility only FSH was higher in normal group than in abnormal group. %AR was significantly low correlation with sperm concentration and motility. The value of %AR was not related to the serum hormonal levels. These data suggest that %AR is an independent index from the serum hormonal levels and that it is difficult to estimate the fertilization ability of sperm by serum hormone levels. We conclude that %AR is one of the routine examinations for male infertility.

Key word : acrosome reaction, fertilization, serum hormone, sperm parameter

(Jpn J Fertil Steril 46 : 69-77, 2001)

新 FSH 製剤「ヒュメゴン 100 単位」の臨床的有用性の検討

Clinical Evaluation of a New FSH Product of "Humegon 100 Unit"

永 吉 基 田 中 温 栗 田 松一郎
Motoi NAGAYOSHI Atsushi TANAKA Shoichiro AWATA
馬 渡 善 文 田 中 威づみ
Yoshifumi MAWATARI Izumi TANAKA

セントマザー産婦人科医院

Saint Mother Clinic for OB & GY, Fukuoka 807-0825, Japan

体外受精・胚移植や顕微授精などの生殖補助技術による妊娠率の向上は、いかに良質の卵子を得るかが基本的要素と考えられ、そのために卵巣刺激法が重要な鍵を担っているといえる。一般的に GnRH α と FSH ならびに hMG 製剤の投与が試みられてきているが、今回は FSH 製剤である「ヒュメゴン 100 単位」を使用し、従来からある「フェルティノーム P」との比較において、臨床的有用性の検討を試みた。卵巣刺激法は、GnRH α の short protocol 法を用い、月経周期 3 日目よりヒュメゴン (100) を 3 アンプル 2 日間投与後、ヒュメゴン (150) 1 アンプルに切り替え、さらに最大卵胞径 20mm が 2 個以上認められた時点で hCG を投与した (I 群)。対象は最初の 2 日間をフェルティノーム P (75) 4 アンプル 2 日間に置き換えたものとした (II 群)。対象は無作為に選別し両群とも各 20 例 20 周期で体外受精・胚移植法を施行した。総投与量は 1,328iu, 1,365iu, 投与日数 6.9 日, 7.1 日と両群間に有意な差はみられなかった。発育卵胞数, 採卵数, 分割卵数はそれぞれ 11.5, 9.2, 5.1 個であり, II 群のそれは 11.7, 9.1, 5.0 と有意な差はみられなかった。妊娠率と多胎率は 30.0%, 33.3% と 25.0%, 40.0% であり, 臨床的には両群間において有意な差は認められず, 同等の製剤であることが判明した。両者間での違いはヒュメゴンが 100 単位の製剤であることから, 従来からある 75 単位, 150 単位製剤との組み合わせを考えると, よりきめのこまかな用量設定と FSH/LH 比を考慮した投与方法が可能であることが示唆された。

キーワード：体外受精・胚移植法, 卵巣刺激法, ヒュメゴン 100 単位製剤

(日不妊会誌 46:79-85, 2001)

緒 言

不妊症領域において体外受精・胚移植法をはじめ、今日では TESE (testicular sperm extraction) の手法により閉塞性無精子症などの重度の男性不妊症に対し、直接精巣上体より精子を回収し顕微授精にて挙児を得ることを可能ならしめるほど、その生殖補助技術 (ART) の革新には目覚ましいものがある。しかしながら ART による妊娠率の向上の大きな要因として、これら技術のスキルアップはもとより、いかに良質の卵子を多く得るかが本療法の基本的要素といえよう。

体外受精・胚移植のための排卵誘発法には、クロミフェン, hMG (human menopausal gonadotropin), クロミフェン+hMG (orFSH) などの方法がある。最近では、GnRH アナログ (GnRH-a) +hMG (orFSH) 法は、質および数の上で良好な卵が得られ、また排卵時期をコントロールしやすいという点を併せ、主たる排卵誘発法の座を占めているのが現状である。さらに、hMG (orFSH) 製剤の投与に際しても、FSH と LH 比の異なる製剤が導入され、ヒュメゴン 75 単位やパゴナル 75, 150 単位にみられる 1:1 の製剤、ヒュメゴン 150 単位の 3:1、フェルティノーム P の LH 活性を

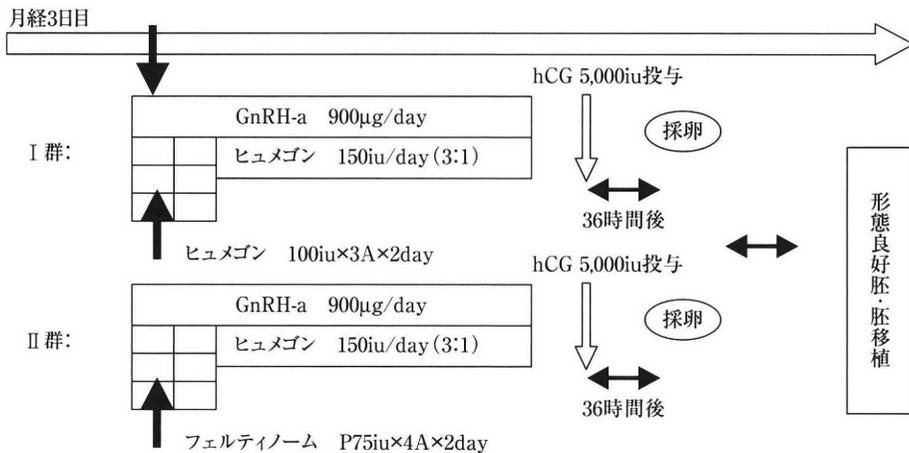


図1 排卵誘発法

ほとんど持たない尿由来のFSH製剤があり、よりきめの細かい投与方法が可能となってきた。

このようにして卵巣刺激法には種々の工夫がされ、特にOHSS(卵巣過剰刺激症候群)を回避する意味でも、GnRH-aの併用と同時にStep-up法やStep-down法などによるhMG製薬の用量設定に工夫がされている。一方では、卵胞期の初期、中期に必要なLHがあるとアンドロゲン過剰の環境となり卵胞の質に悪影響をもたらす可能性がありLHをできるだけ少なくしたFSH製剤が望ましいとの報告¹⁻³⁾もある。

今回、新たに使用が可能となった「ヒュメゴン100単位製剤」はFSH/LH比が1:0.016と極めてpure FSHに近い製剤であると同時に、その規格が100単位であることから、従来の75,150単位との組み合わせによる用量設定時の調節性においてもその有用性が期待されるものと思われる。そこで我々は「ヒュメゴン100単位製剤」の臨床的検討を行ったので報告する。

目 的

ARTにおける卵巣刺激法について、ヒュメゴン100単位製剤(FSH/LH比1:0.016)と従来からあるFSH/LH比が1:0.001以下といわれる尿由来のFSH製剤「フェルティノームP」とにおいて臨床的有用性の比較検討を目的とした。

対象および方法

日本産科婦人科学会の定める体外受精・胚移植法の医学的適応に合致する不妊症例で、年齢が40歳未満の

女性を対象とした。但し、不妊原因が男性因子によるものは本研究の対象から除外し、また治療歴としては3周期以内の症例とした。

GnRH-a(プセレリン)900µg/日をshort法により月経周期3日目より連日投与し、同時にFSHないしhMG製剤を以下のごとく2群に分け比較検討を行った。

I群:ヒュメゴン(100)を月経周期3日目より300単位×2日間、その後ヒュメゴン150単位(1A)に減量する。

II群:フェルティノームP(75)を月経周期3日目より300単位×2日間、その後ヒュメゴン150単位(1A)に減量する(図1)。

I群、II群の投与方法にて、本研究の該当症例に対し無作為に順次交互に振り分け各20症例20周期に実施した。

本療法実施中の卵胞発育のモニタリングは、超音波断層法計測により最大卵胞径が15mmを越えた段階で連日測定し、平均最大卵胞径が20mmの卵胞が2個以上確認された時点でhMG製剤を中止し、翌日hCG 5,000単位を投与した。但し、15mm以上の発育卵胞数が20個以上で卵巣過剰刺激症候群(OHSS)となることが予測される場合⁴⁾に、hCGの投与を控えキャンセル症例とした。

hCG投与後、約36時間後にジアゼパム+塩酸ケタミン麻酔下にて経腔的に採卵を行い、採取した卵は、4~6時間の前培養をほどこし、swim up法またはpercoll法で選別した良好精子浮遊液(30~100万/ml)で

媒精を行った。媒精約 6 時間後に 10% 非働化母体血清添加の HTF 培養液に移し、37°C、5%O₂、5%CO₂、90%N₂の培養器内へ静置した。採卵 2 日後、受精卵の分割状況や形態などを観察し、2 細胞期以上に發育した良好胚を 10% 非働化母体血清添加 HTF とともに子宮腔に移植した。

なお、移植胚数は Veeck のグレード分類による良好

胚 3 個までとし、余剰胚は凍結保存を行った。移植後 5~6 時間で帰宅させ、Luteal support としてプラノバル 1 錠/日、14 日間で服投与した。

結 果

対象症例 I 群 (ヒュメゴン 100 単位製剤) は 25 歳から 39 歳までの 20 例で、平均年齢は 31.6 ± 4.0 歳であった。比較対象 II 群 (フェルティノーム P) は 28 歳から 38 歳までの 20 例、平均年齢 32.7 ± 2.9 歳であり、両群の間に有意な差は認めなかった (表 1)。

hMG 総投与量について、ヒュメゴン 100 (I 群) では 1,328 ± 166iu (平均 ± SE) で、フェルティノーム P (II 群) 1,365 ± 222iu であった。投与日数は I 群 6.9 ± 1.1 日、II 群 7.1 ± 1.5 日と両群の間に有意な差は認められなかった。

hCG 切り替え時の血中 E₂ 値は、I 群 1,675 ± 767pg/ml、II 群 1,728 ± 659pg/ml で、發育卵胞数は、I 群で 11.5 ± 5.3 個、II 群 11.7 ± 3.9 個となり、両群間においていずれも有意な差は認められなかった。この E₂ 値と發育卵胞数の関係を見ると図 2 のごとくで、I 群では $y = 100.31x + 525.94$ の一次式が得られ、 $R^2 = 0.4879$ の寄与率であり、II 群では $y = 131.14x + 199.75$ 、 $R^2 = 0.6113$ となり、II 群により強い正の相関関係を認めた。

表 1 臨床成績

	ヒュメゴン 100	フェルティノーム P
年齢	31.6 ± 4.0	32.7 ± 2.9
hMG 総投与量	1,328 ± 168	1,365 ± 222
hMG 投与日数 (日)	6.9 ± 1.1	7.1 ± 1.5
hCG 切り替え時 E ₂ (pg/ml)	1,675 ± 767	1,728 ± 659
卵胞数	11.5 ± 5.3	11.7 ± 3.9
採卵数	9.2 ± 3.9	9.1 ± 3.3
採卵率 (%)	81.4 ± 13.5	78.5 ± 15.0
分割数	5.1 ± 2.5	5.0 ± 1.9
分割率 (%)	58.7 ± 18.1	57.8 ± 16.0
妊娠率 (%)	30.0 (6/20)	25.0 (5/20)
多胎率 (%)	33.3 (2/6)	40.0 (2/5)
流産率 (%)	0 (0/6)	0 (0/5)

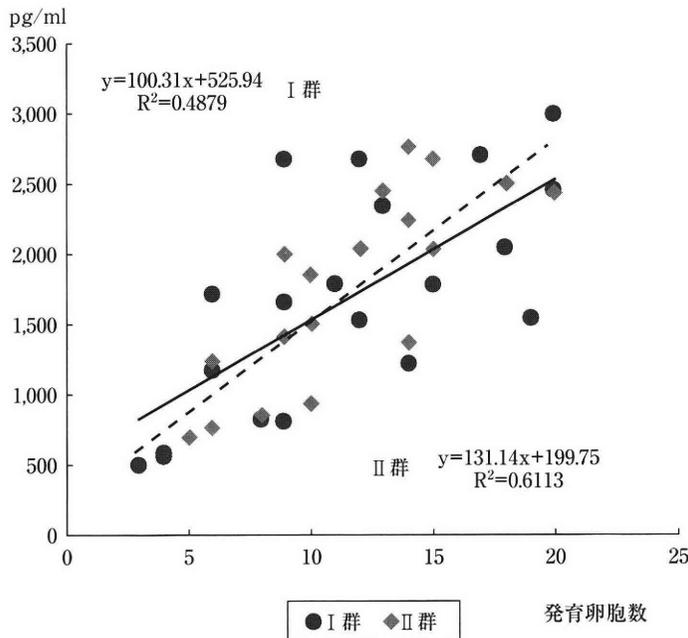


図 2 E₂ 値と發育卵胞数の関係

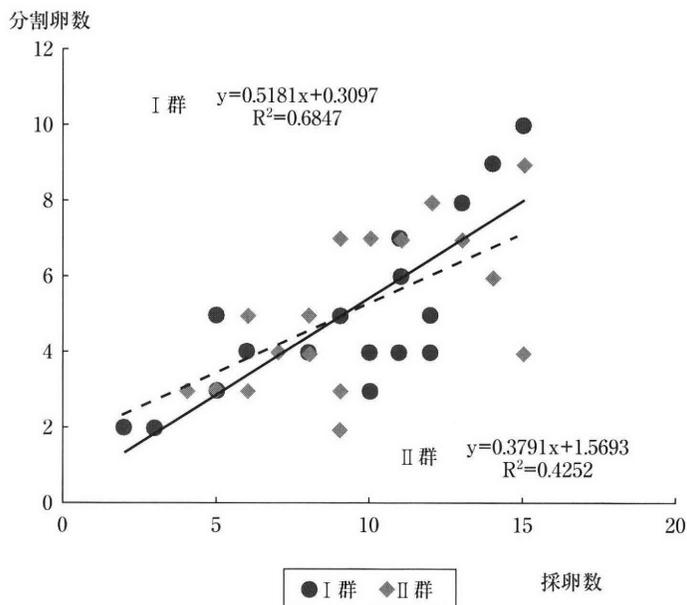


図3 採卵数と分割卵数の関係

15mm以上の発育卵胞1個あたりの E_2 値でみても、I群で 156.3 ± 59.2 pg/ml, II群 149.6 ± 38.5 pg/mlであり、両群の間に有意な差は認めなかった。

採卵数はI群 9.2 ± 3.9 個, 採卵率 $81.4 \pm 13.5\%$ で、II群では 9.1 ± 3.3 個, $78.5 \pm 15.0\%$ と前者にやや採卵率が高いものの両群間に有意な差を認めることはなかった。分割卵数においてもI群 5.1 ± 2.5 個 ($58.7 \pm 18.1\%$)、II群 5.0 ± 1.9 個 ($57.8 \pm 16.0\%$)であり、両群間において有意な差はなかった。また、採卵数と分割卵数の関係を見るとI群 $y=0.5181x+0.3097$, $R^2=0.6847$, II群 $y=0.3791x+1.5693$, $R^2=0.4252$ の式が求められ、前者により強い正の相関関係が認められた(図3)。

妊娠率では、I群20例中6症例(30.0%)に妊娠が確認され、うち2例が双胎(33.3%)であり、II群20例中5例(25.0%)の妊娠、2例(40.0%)が双胎であった。いずれも両群の間に有意な差は認められなかった。

卵巣刺激法において最も危惧される副作用としてOHSSがあるが、今回の両群における40症例40周期においては、そのような症例は認めなかった。また、発育最多卵胞数は20個でI群2例、II群1例あり、採卵し得た数は前者で15, 11個、後者11個で、ともにOHSSを想起するような症状はみられなかった。

以上、総ての項目でI群およびII群間において有意な差の認められない結果が得られた。

考 察

体外受精を中心とした補助生殖医療技術(ART)では、GnRH-a+hMG製剤によるcontrolled ovarian hyperstimulation(COH)が主流をなしている。その中でも妊娠率の向上を目的として、良好で適切な数の卵子を得ることに様々な試みがなされてきている。このCOHにおいてはhMG製剤が一般的に用いられているが、最近ではFSH/LH比の異なる製剤がありパーゴナル75, 150単位、およびヒュメゴン75単位のFSH/LH比は1対1, パーゴグリーンは2対1, ヒュメゴン150単位は3対1, さらにはLH活性を少なくしたフェルティノームPやHMG日研などがある。これらFSH/LH比の異なる製剤の用量を設定して、卵巣刺激をリクルート期、セレクション期に合わせ均一な複数の卵胞を発育させ良質な卵を採取するであろう。

さらにCOHにおいて、GnRH-aの使用法にも基本的にshort protocolとlong protocol法に大別される⁵⁻⁹⁾が、当院では後者の場合、卵巣嚢腫を形成しやすいこと、hMGやGnRH-aの使用量が増え、患者の負担が増えること¹⁰⁾、またshort protocol法にて良好な成績を得ており両者間に臨床的有意な差異がないことを報告¹¹⁾している。そこで今回我々は、ヒュメゴン100単位製剤による排卵誘発法(I群)をFSH/LH比が似か

よったフェルティノーム P (II 群) との比較において short 法を用いた。すなわち、GnRH-a の short protocol 法を用い内因性の flare up を期待しながら pure FSH 製剤 300IU を 2 日間投与し、以降 FSH 比 3 対 1 の ヒュメゴン 150IU で維持しながら卵胞の発育を促す方法である。

結果は、従来よりのフェルティノーム P を用いた方法と hMG の総投与量および日数において全く異なることなく同じで、hCG に切り替えた時点での E_2 値も I 群 $1,675 \pm 767 \text{ pg/ml}$ 、II 群 $1,728 \pm 659 \text{ pg/ml}$ と両群の間において有意の差を認めることはなかった。また、 E_2 値と発育卵胞数が図 2 に示す如く両群ともに相関にあり、さらに卵胞 1 個あたりの E_2 値にても差は認めなかった。このようにリクルート期に用いた両剤による違いの影響は発育卵胞から産生する E_2 からみてもなかったと思われる。

採卵数 I 群 9.2 ± 3.9 個、採卵率 $81.4 \pm 13.5\%$ 、II 群 9.1 ± 3.3 個、 $78.5 \pm 15.0\%$ と両群間に差はなく、胚の分割数および率においても I 群 5.1 ± 2.5 個、 $58.7 \pm 18.1\%$ 、II 群 5.0 ± 1.9 個、 $57.8 \pm 16.0\%$ と差はなく、しかも妊娠においても I 群 20 例中 6 例 (30.0%)、II 群 20 例中 5 例 (40.0%) と差はなく、得られた卵の質において及ぼす影響についても両群の間に違いは見られなかったといえよう。

また、採取した卵と分割していく胚の関係についてみても、図 3 に示す如く I 群で寄与率 0.6847、II 群 0.4252 と前者にやや高いものの両群共に強い正の相関が得られたことは、FSH 製剤をリクルート期での使用に際し均一な卵の発育を促し、セレクション期での hMG (3 対 1) 製剤の使用が良好な胚への進展をもたらしたものと思われる。

今回の我々の検討結果から、ヒュメゴン 100 単位製剤が従来からの FSH 製剤であるフェルティノーム P とにおいて得られた臨床評価からは同等のものであることが示唆された。今後の課題として、FSH 製剤 100 単位という 75 単位とは異なる点での臨床的意義、リクルート期以降のセレクション期などを含めての FSH/LH 比などのバリエーションを考慮し、各 ART 適応患者の内分泌動態に合わせたテーラーメイドの用量設定が考えられる。①non-PCO②PCO に分けて述べたい。

①において、月経周期 3 日目の FSH/LH 比 ≥ 3.6 、血清 FSH/ $<15 \text{ mIU/ml}$ の症例では、FSH/LH 比 <3.6 に比べ有意にキャンセル率が高いという報告がある¹²⁾。このような症例に対しては、ヒュメゴンの 100

単位、75 単位、150 単位のコンビネーションにより、たとえば、250 単位、200 単位、175 単位などを用いた排卵誘発法を考慮すべきである。

②においては、排卵刺激の際に、FSH や hMG の至適使用量の幅が狭く、少し量が多いと、OHSS となり、その対応に苦慮する。安藤らは、低用量 FSH 療法 (step down 法) の有用性とその限界について述べており、OHSS を必ずしも 100% 防ぐことができないと結論づけている¹³⁾。また、PCO に対する単一排卵を目的に① pure FSH75iu より開始し、10mm 以上の卵胞が認められない場合、7 日ごとに 37.5iu ずつ増量する low dose 法や②hMG150iu/day を 90 分間に 1 回の割合で投与する pulsatile 法などがあり、良好な結果が得られているが、一方では OHSS の報告もある¹⁴⁾。今後 PCO に対する排卵誘発法として、ヒュメゴン 100 を使った short 法 (たとえば、a. 月経周期 3 日目よりヒュメゴン 50 単位 (ヒュメゴンの半分) より開始し、10mm 以上の卵胞が認められない場合、7 日ごとに 25iu ずつ増量する新 low dose 法や、b. 月経周期 3 日目よりヒュメゴン 175 単位 [ヒュメゴン 100+ヒュメゴン 75] 2 日間以後ヒュメゴン 100 を使用する方法など) を検討していきたい。

結 論

hMG 総投与量、投与日数において、ヒュメゴン 100 単位群 (I 群) とフェルティノーム P 群 (II 群) 間に、有意な差は認められなかった。また、卵胞数、採卵数、分割率においても両群間に有意な差は認められなかった。妊娠率、多胎率においても両群間に有意差は認められず、ヒュメゴン 100 単位製剤はフェルティノーム P と同等の臨床成績が得られた。

ヒュメゴン 100 単位製剤の特徴は、75、150 単位の組み合わせることにより卵胞期の初期、中期、後期における適切な内分泌環境に合わせた用量の設定が可能となり、卵胞発育に、よりよき環境条件を作ることができるとと思われる。また、PCO (多嚢胞性卵巣) などの卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) 発症のリスクの高い症例には、卵胞期の LH 濃度を抑え、各症例に応じた投与量、投与方法を検討し、重症の OHSS を作り上げないことも可能と思われる。

以上、ヒュメゴン 100 単位製剤は、フェルティノーム P と同等の臨床成績が得られ、今後、従来の 75、150 単位の組み合わせによる用量設定をし、より調節性のあるきめ細かな投与と、質の高い良好な卵の採取に向

けた臨床応用が期待されるものと思われた。

文 献

- 1) Mori T, Fuhita Y, Suzuki A, et al. (1978) Functional and structural relationships in steroidgenesis *in vitro* by human ovarian follicles during maturation and ovulation. J Clin Endocrinol Metab 47: 955-966
- 2) McNatney KP, Smith DM, Mavis A, et al. (1979) The microenvironment of the human antral follicle: interrelationships among the steroid levels in antral fluid, the population of granulosa cells and the status of the oocyte *in vivo* and *in vitro*. J Clin Endocrinol Metab 49: 851-860
- 3) Tsang BK, Armstrong DT and Whitfield JF (1980) Steroid biosynthesis by isolated human ovarian follicular cells *in vitro*. J Clin Endocrinol Metab 51: 1407-1411
- 4) 永吉 基, 田中 温, 田中威づみ, 他(1999)私はどうしている—重症 OHSS における全胚凍結の試み. 産婦人科治療 78: 426-429
- 5) Frydman R, Belaisch-Allart J, Parnei XI, et al. (1988) Comparison between flare up and down regulation effects of luteinizing hormone-releasing hormone agonists in an *in-vitro* fertilization program. Fertil Steril 50: 471-475
- 6) Loumaye E, Vankrieken L, Depreesten S, et al. (1989) Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist ovarian hyperstimulation for *in vitro* geryilizayion and their consequences for rmbryos development. Fertil Steril 51: 105-111
- 7) 井上正人, 小林善宗, 本田育子, 他 (1994) IVF で私の行っている卵胞刺激法. 産婦の世界 46: 509-512
- 8) 斎藤英和, 野原 理, 河内谷敏, 他 (1994) IVF で私の行っている卵胞刺激法. 産婦の世界 46: 521-526
- 9) 石川元春, 星合 昊 (1995) 卵巣刺激法 GnRHa 併用 (short と long) 臨婦産 49: 1041-1045
- 10) 永吉 基, 田中 温, 粟田松一郎, 他 (1997) 生殖補助医療 (ART) における卵胞刺激-2. 一般病院における医療現場から. 産と婦 64: 213-217
- 11) 田中 温, 永吉 基, 粟田松一郎, 他 (1995) 多嚢胞性卵巣症候群 (PCO) の現状と問題点—PCOS における体外受精・胚移植の成績. 日産婦学九州連合部会誌 : 51-60
- 12) Tanmoy M, Benjamin S, Alan BC, et al. (1996) An elevated day three follicle- stimulating hormone : luteinizing hormone ratio (FSH : LH) in the presence of a normal day 3 FSH predicts a poor response to controlled ovarian hyperstimulation. Fertil Steril 60: 588-593
- 13) 安藤一道, 水沼英樹, 劉 曉偉, 他 (1996) 多嚢胞性卵巣症候群に対する低用量 FSH 療法 (step down 法) の有用性と限界. 日受着会誌 13: 1-4
- 14) 鈴木秋悦, 北井啓勝, 中居光生, 他 (1996) OHSS. Organon Reproductive Medicine Sevies 1: 45
(受付: 2000 年 8 月 16 日)
(受理: 2000 年 10 月 18 日)

Clinical Evaluation of a New FSH Product of "Humegon 100 Unit"

Motoi Nagayoshi, Atsushi Tanaka, Shoichiro Awata
Yoshifumi Mawatari and Izumi Tanaka

St. Mother Hospital for Ob. & Gyn.

Obtaining high quality oocytes is considered to be the fundamental factor to increase the pregnancy rate by Assisted Reproductive Technology (ART) like IVF-ET and Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI). In this regard, the way of ovarian stimulation can be a key factor. As a general rule, administration of GnRHa and FSH/hMG has been used, however we used a nearly pure FSH preparation "Humegon 100IU" in this trial, and analyzed its clinical benefit compared to "Fertinorm-P" which is a conventional preparation.

For ovarian stimulation we used the GnRHa short protocol. From day3 onwards, 3 ampoules of Humegon 100IU (300IU) we administrated for 2days, followed by Humegon 150IU until at least 2 follicles with a diameter of 20mm could be recognized, after which we switched to hCG (group 1). We compared this with 4 ampoules of Fertinorm-P 75IU for 2days (group 2). The number of cases evaluated was 20 (20cycles) for each group, and IVF-ET was performed.

The total administrated dose was 1,328IU (group 1), 1,365IU (group 2) and duration of administration was 6.9days (group 1), 7.1days (group 2). There were no significant differences between group 1 and group 2. The number of matured follicles, oocytes retrieved and oocyte cleavage of group1 was 11.5, 9.2 and 5.1. Those numbers of group 2 were 11.7, 9.1 and 5.0. There were hardly any differences between groups. The pregnancy rate and multiple pregnancy rate were 30.0% and 33.3% (group 1), and 25.0% and 40.0% (group 2). There were no clinically relevant differences. It was proved that both preparations were equally effective.

The only difference is that Humegon has 100IU. By combining it with other existing doses of 75IU and 150IU, it can be expected that more flexible dose regimens, and more flexible FSH/LH ratio are possible.

Key words : IVF/ET, Ovarian stimulation, Humegon 100IU

(Jpn J Fertil Steril 46 : 79-85 2001)

Establishment of a Successful Pregnancy Following Frozen-thawed Embryo Transfer after Exogenous Hormonal Replacement Therapy with GnRHa for a Woman with a Thin Endometrium

Shigeto TAKEUCHI^{1,2)}, Hiroyuki MINOURA¹⁾, Hiroaki KAWATO¹⁾,
Noritaka FUTAMURA¹⁾ and Nagayasu TOYODA¹⁾

¹⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Mie University School of Medicine, Mie, Japan

²⁾To whom correspondence should be addressed at Department of Obstetrics and Gynecology,

Mie University School of Medicine, 2-174 Edobashi, Tsu, Mie 514-0001, Japan

Abstract : A 37-year-old Japanese woman with a 17-year history of infertility underwent in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET). The patient's husband demonstrated oligoasthenozoospermia. On the day of human chorionic gonadotropin (hCG) injection the endometrium was 6.0mm in thickness with a homogeneous hyperechogenic pattern on ultrasonography. Therefore, Three pronuclear stage embryos obtained were cryopreserved. When the endometrial thickness reached 9.6mm after exogenous hormonal replacement therapy, the frozen-thawed embryos were transferred to the uterus, resulting in development of a singleton. The patient delivered a healthy female infant at 37 weeks gestation. The present findings suggest that cryoembryo transfer following exogenous hormonal replacement therapy might contribute to the establishment of pregnancy in cases with a thin endometrium.

Key words : endometrial thickness, cryopreserved embryo, *in vitro* fertilization, hormone replacement
(Jpn J Fertil Steril 46 : 87-90 2001)

Introduction

Pelvic sonography using transvaginal transducers makes it possible to measure the endometrial thickness and to evaluate the endometrial texture during the process of follicular maturation¹⁾. This approach has also been employed to monitor the endometrium in women receiving controlled ovarian hyperstimulation (COH) therapy in preparation for in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET). Successful implantation may be related to the thickness of the endometrium at the time of injection of human chorionic gonadotropin (hCG) during IVF-ET cycles. Although pregnancy can occur at any endometrial thickness, successful implantation is rare when the thickness is

< 6mm^{2,3)}. If the uterine conditions are suboptimal, embryos can be cryopreserved for transfer in a subsequent cycle with optimum uterine receptivity, with either unstimulated natural or controlled endometrial cycles⁴⁾. We here report our experience of cryopreservation and transplantation of thawed embryos after exogenous hormone replacement for an IVF-ET attempt in a woman with a thin endometrium.

Case report

The patient was a 37-year-old woman with a 17-year history of infertility. She had undergone partial resection of a right ovarian cyst at the age of 30 years. A physical examination and diagnostic infertility work-up including hormonal assays and hys-

terosonography revealed no abnormalities. When the leading follicles reached a mean diameter of 18 mm and the serum estradiol level was 245pg/ml in the natural cycle, transvaginal ultrasonography showed the endometrium to be 6.0mm thick, with the same echogenicity as the myometrium and a poorly defined central echogenic line. The patient's husband was 43years old without medical problems. His sperm count was 65×10^6 /ml with a motility of 24%. This couple had undergone 13 trials of intrauterine insemination with controlled ovarian hyperstimulation in another hospital (Further details were not available.). The first IVF trial was by a short protocol with a gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa, Suprecur; buserelin acetate, Hoechst, Frankfurt, Germany). Ovulation was induced using follicle-stimulating hormone (FSH; Serono, Geneva, Switzerland) and human menopausal gonadotropin (hMG, Pergogreen; Serono) over seven days. When the leading follicles reached a mean diameter of 18mm and the serum estradiol level was 1,620pg/ml and the serum progesterone level was 1.3ng/ml, 10,000IU of human chorionic gonadotropin (hCG) were administered. Endometrial thickness was measured on the frozen US image. The maximum thickness of endometrium of both sides of the midline was measured in the plane through the central longitudinal axis of the uterus. Transvaginal ultrasonography showed the endometrium to be 6.0 mm thick, with same echogenicity as the myometrium and a poorly defined central echogenic line. Oocyte retrieval was performed 35hr later through the vagina under sonographic guidance, and 3 oocytes were recovered in July 1996. Semen was produced by masturbation, and motile spermatozoa were prepared using the swim-up procedure. Three oocytes were inseminated 6hr after collection, and 3 pronucleate oocytes were identified 18hr later. Pronucleate oocytes was cryopreserved because endometrial thickness was 6.0mm. Cryopreservation was performed with the pronucleate oocytes using a slow freeze, slow thaw protocol, according to Veeck et al.⁵⁾, with a programmed biological freezer (Planer Kryo 10-1.7; T.S. Scientific, Perkasi, PA). The embryos were transferred to the endometrium after the patient had re-

ceived a course of hormone replacement therapy. She received daily 900µg of GnRHa from day 21 of the previous cycle. Estradiol was administered as a transdermal E₂ patches (Estraderm; Ciba Pharmaceuticals, Summit, NJ) during the follicular phase in increasing dose to mimic the natural cycle. Beginning the onset of menses as follows: a 0.1mg patch in the morning was replaced every 2days through day 8, 0.2mg from day9 to day10, 0.3mg on days11 and 12, and 0.4mg on day13. A constant 0.2mg dose was used every 2days for the entire luteal phase starting on the day before day2 of embryo transfer. On day8, transvaginal ultrasonography showed that the endometrium was 7.6 mm thick, with a triple-line pattern. The serum estradiol level was 116pg/ml and the serum progesterone level was 0.2ng/ml. The endometrial thickness and ultrasonographic appearance were assessed daily from day 13. On day 15, transvaginal ultrasonography showed that the endometrium was 9.6mm thick, with a triple-line pattern, the serum estradiol level was 494 pg/ml and the serum progesterone level was 1.83ng/ml. A progesterone vaginal suppo (400mg) was administered daily beginning on day15 and GnRHa was discontinued. Thawed pronucleate oocytes were incubated at 37°C in 5% CO₂ in air until the cleavage pattern was established. Three pre-embryos showing 2 cell Grade 2, 4 cell Grade 2 and 4 cell Grade 4, according to Veeck, s embryo quality classification, were transferred on day 17. At 7 weeks, ultrasonography revealed a single gestational sac with fetal echoes and fetal heart activity. Transdermal E₂ patches were administered until 12 and progesterone vaginal suppos until 13weeks of gestation. The serum estradiol level was 983pg/ml and the serum progesterone level was 36ng/ml at this latter time point. A viable female infant weighing 2,237g was delivered by Caesarean section after 37weeks gestation, complicated by severe toxemia.

Discussion

The use of endometrial thickness and echo patterns to predict the rate of pregnancy has yielded variable results. Gonen et al.⁶⁾ observed a positive correlation between the endometrial thickness and the preg-

nancy rate, whereas Rabinowitz et al.⁷⁾ found no such correlation. Dickey et al.⁸⁾ reported that the endometrial ultrasonographic appearance and thickness were positively correlated with the pregnancy rate, but Oliveira et al.⁹⁾ did not confirm these findings. Bergh et al.¹⁰⁾ found that the ultrasonographic appearance of the endometrium but not other endometrial variables was positively correlated with the pregnancy rate. An endometrium <6mm or 7mm thick at the time of ovulation or administration of hCG progesterone is associated with failed IVF-ET attempts^{2,3,11)}. An endometrium >6mm thickness and a triple-line ultrasonographic pattern on the day of hCG administration may be considered optimum endometrial characteristics for successful implantation.

Although no relationship between endometrial thickness and either the treatment dose or serum concentration of estradiol was found¹²⁾, artificial agonadism and hormone replacement have been shown to contribute to successful oocyte donation¹³⁾. Schmidt et al.¹⁴⁾ used a GnRHa and a steroid replacement regimen for transfer of thawed embryos in women with ovarian dysfunction. If uterine conditions are suboptimal, the embryos can be cryopreserved for transfer in a subsequent cycle in which the uterus may be more receptive. It is unclear why the endometrial thickness and appearance can be improved in GnRHa/exogenous hormone replacement cycle, in spite of lower estradiol levels in HRT than in IVF cycles. There is no relationship between endometrial thickness and serum concentration of estradiol¹²⁾. Sher et al. found that women with a "poor" endometrium in their natural cycles who fail to improve to "optimal" ones with subsequent COH have a 44% chance of developing optimal endometrial conditions with cycles of exogenous estrogen replacement¹⁵⁾. It can be speculated that time for follicular growth is not significant with ovarian stimulation in IVF, natural cycles. In the present case, the timing of an ovulatory dose of hCG was planned according to the follicular growth, and the endometrium could not reach optimal conditions. GnRHa/exogenous hormone replacement cycle allowed us to decide the timing to start luteal phase according to the endometrial thickness and ap-

pearance¹⁶⁾.

It is unclear why the serum progesterone level was 1.83 ng/ml, despite pituitary desensitization with GnRHa. An excessive sensitivity of the granulosa cells to LH might induce untimely progesterone production even with low concentrations of serum LH. We transferred cryopreserved-thawed embryos into the patient in a GnRHa/exogenous hormone replacement cycle, because of reports that the progesterone level on the day hCG does not predict success of IVF-ET^{17,18)}.

There are differences in the GnRHa protocol between IVF and HRT cycles, short in the first case and long in latter case. Prolonged "down-regulation" of premenopausal recipients with GnRHa may improve pregnancy rate over short-term "down-regulation", making it similar to menopausal recipients¹⁹⁾, and therefore the difference in GnRHa protocols may have a positive influence on pregnancy and implantation outcome.

The present findings suggest that when endometrial thickness or appearance is suboptimal, embryos can be cryopreserved for transfer in another cycle in which the endometrium has been primed with estrogen and progesterone after down regulation with GnRHa.

References

- 1) Fleischer AC, Kalameris G and Entman S (1986) Sonographic depiction of the endometrium during normal cycles. *Ultrasound Med Biol* 12 : 271
- 2) Abdalla HI, Brooks AA, Johnson MR, et al. (1994) Endometrial thickness: a predictor of implantation in ovum recipients? *Hum Reprod* 9 : 363-365
- 3) Strohmer H, Obruca A, Radner KM, et al. (1994) Relationship of the individual uterine size and the endometrial thickness in stimulated cycles. *Fertil Steril* 61 : 972-975
- 4) Steer VC, Campbell S, Tan SL, et al. (1992) The use of transvaginal color flow imaging after *in vitro* fertilization to identify optimum uterine conditions before embryo transfer. *Fertil Steril* 57 : 372-376
- 5) Veeck LL, Maloney MK, Amundson CH, et al. (1993) Significantly enhanced pregnancy rates per cycle through cryopreservation and thaw of

- pronuclear stage oocytes. Fertil Steril 59 : 1202-1207
- 6) Gonen Y, Casper RF, Jacobson W, et al. (1989) Endometrial thickness and growth during ovarian stimulation : a possible predictor of implantation in *in vitro* fertilization. Fertil Steril 52 : 446-450
 - 7) Rabinowitz R, Laufer N, Lewin A, et al. (1986) The value of ultrasonographic endometrial measurement in the prediction of pregnancy following *in vitro* fertilization. Fertil Steril 45 : 824-828
 - 8) Dickey RP, Olar TT, Curole DN, et al. (1992) Endometrial pattern and thickness associated with pregnancy outcome after assisted reproduction technologies. Hum Reprod 7 : 418-421
 - 9) Oliveira JBA, Baruffi RLL, Mauri AL, et al. (1993) Endometrial ultrasonography as a predictor of pregnancy in an *in vitro* fertilization programme. Hum Reprod 8 : 1312-1315
 - 10) Bergh C, Hillensjo T and Nilsson L (1992) Sonographic evaluation of the endometrium in *in vitro* fertilization IVF cycles. Acta Obstet Gynecol Scand 71 : 624-628
 - 11) Isaacs JD, Odem RR, Wells CS, et al. (1996) Endometrial thickness is a valid monitoring parameter in cycles of ovulation induction with menotropins alone. Fertil Steril 65 : 262-266
 - 12) Brooks AA, Johnson MR, Pawson ME, et al. (1996) Endometrial thickness : individual and mean growth profiles for different hormone replacement regimens. Hum Reprod 11 : 2724-2731
 - 13) Meldrum DR, Wisot A, Hamilton F, et al. (1989) Artificial agonadism and hormone replacement for oocyte donation. Fertil Steril 52 : 509-511
 - 14) Schmidt CL, Gagliardi CL and Mellon RW (1989) Transfer of cryopreserved-thawed embryos : the natural cycle versus controlled preparation of the endometrium with gonadotropin-releasing hormone agonist and exogenous estradiol and progesterone (GEEP). Fertil Steril 52 : 609-616
 - 15) Sher G, Herbert C, Jacobs MH, et al. (1991) Assessment of the late proliferative phase endometrium by ultrasonography in patients undergoing *in vitro* fertilization and embryo transfer (IVF/ET). Hum Reprod 6 : 232-237
 - 16) Shapiro H, Cowell C and Casper RF (1993) The use of vaginal ultrasound for monitoring endometrial preparation in a donor oocyte program. Fertil Steril 59 : 1055-1058
 - 17) Hofmann GE, Thie J, Khoury J, et al. (1996) Premature luteinization during controlled ovarian hyperstimulation for *in vitro* fertilization-embryo transfer has no impact on pregnancy outcome. Fertil Steril 66 : 980-986
 - 18) Moffitt DV, Queenan JT, Muasher SJ, et al. (1997) Progesterone levels on the day of human chorionic gonadotropin do not predict pregnancy outcome from the transfer of fresh or cryopreserved embryos from the same cohort. Fertil Steril 67 : 296-301
 - 19) Borini A, Violini F, Bianchi L, et al. (1995) Improvement of pregnancy and implantation rates in cyclic women undergoing oocyte donation after long-term down-regulation. Hum Reprod 10 : 3018-3021

(Received ; July 14, 2000)

(Accepted ; September 28, 2000)

子宮内膜の薄い症例に対するホルモン補充周期法による凍結胚移植後の妊娠例

竹内 茂人, 箕浦 博之, 川戸 浩明, 二村 典孝, 豊田 長康

三重大学産科婦人科学教室

妻は37歳で、不妊期間は17年間、子宮内膜厚は薄く、一方夫は乏精子無力症がみられ、体外受精胚移植を施行した。hCG投与時の経陰超音波検査にて子宮内膜が、厚さ6mm、形状momogeneous hyperechoicパターンであったので、3個の受精卵は凍結保存された。ホルモン補充周期法にて子宮内膜厚9.6mmとなったので、融解された3個の分割胚は、子宮内に移植され妊娠(単胎)が成立し、妻は妊娠37週で健康な女兒を出産した。今回の例から子宮内膜厚が6mm以下の症例は胚を凍結保存し、ホルモン補充周期法での胚移植を試みるのも1つの治療法であることが示唆された。

キーワード：子宮内膜、凍結保存胚、体外受精、ホルモン補充

(日不妊会誌 46:87-90, 2001)

地方部会講演抄録

第122回 日本不妊学会関東地方部会

日時：平成12年6月24日(土) 午後2時～6時30分
場所：古名屋ホテル (山梨県)

1. 生殖補助医療技術に対する医師および国民の意識に関する研究

○岩崎信爾, 田原隆三, 藤間芳郎
矢ノ原巧, 岡井 崇 (昭和大産婦)
山縣然太郎 (山梨医大第2保健)

【目的】生殖医療技術に対する意識を調査することを目的とした。【対象および対法】一般国民, 患者, 日母・日産婦登録医師および生殖医療登録機関, 日本小児科学会登録医師を対象としアンケート調査を行った。【結果】総数5,651名中3,492名(61.8%)の回答を得た。AID, 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。条件付きで認めてよい(以下両群あわせて“認める”とする)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“認める”と答えたのは患者が最も多くそれぞれ53.4%, 54.1%, 65.5%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。【考察】患者においては半数以上がその使用においては肯定的であるが自分で行いたいと考えるのは数%であり, 血のつながった子供がほしいことが明らかとなった。

2. 当院における Transport ART の検討

○塩川素子, 安部裕司, 渋井幸裕
伊藤嘉奈子, 橋田 英, 中野由起子
雀部 豊, 池永秀幸, 間崎和夫
久保春海, 平川 舜 (東邦大第1産婦)

【目的】ART治療では大きな施設に患者が集中し, 遠距離通院や予約の困難さなどの問題点がある。我々は患者の社会的負担を軽減する為に, サテライト施設で卵胞刺激と採卵を行い, センター施設にてARTを施行する Transport ART を行っている。胚移植をセンター施設で行う従来の One-way transport ART (OT-ART) と, 胚移植をサテライト施設で行う Round-trip transport ART (RT-ART) の臨床成績を比較検討し

た。【方法】1996年1月～1999年12月に施行したART症例, OT-IVF 63症例72周期, RT-IVF 12症例14周期およびOT-ICSI 116症例146周期, RT-ICSI 42症例67周期を比較検討した。【結果】対周期および対症例妊娠率はOT-IVF vs. RT-IVF: 27.8% (20/72), 31.7% (20/63) vs. 28.6% (4/14), 33.3% (4/12), OT-ICSI vs. RT-ICSI: 22.6% (33/146), 28.4 (33/116) vs. 11.9% (8/67), 19.0 (8/42) とIVF, ICSI共にOT-ARTとRT-ARTで有意差は認められず, RT-ARTの有用性が示唆された。

3. 年齢因子による ART の成績

○間崎和夫, 伊藤嘉奈子, 安部裕司
塩川素子, 渋井幸裕, 橋田 英
中野由起子, 雀部 豊, 池永秀幸
久保春海, 平川 舜 (東邦大第1産婦)

年齢のARTに与える影響を調べるために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95症例127周期, 顕微授精217症例342周期を対象とし, 年齢を30歳未満, 30～34歳, 35～39歳, 40歳以上に分け, 後方視的に採卵数や妊娠率を検討した。平均採卵数は年齢別にそれぞれ13.3, 10.4, 8.0, 6.5と有意に減少, 平均受精卵数も7.7, 6.4, 4.8, 4.0と減少した。IVFの受精率はそれぞれ50.9%, 69.0%, 59.4%, 74.1%であった。IVFの胚移植当たりの妊娠率は44.4%, 39.5%, 20.9%, 14.3%, 着床率は30.4%, 19.4%, 9.8%, 6.4%と減少した。ICSIの受精率はそれぞれ75.9%, 82.2%, 79.3%, 72.1%であった。ICSIの胚移植当たりの妊娠率は55.6%, 38.1%, 35.3%, 11.9%, 着床率は27.5%, 18.4%, 18.2%, 5.0%と減少し, 40歳以上の群はその他の群と比べ有意 ($p < 0.01$) に低下していた。流産率はそれぞれ24.1%, 22.6%, 36.0%, 62.5%と増加した。ARTにおける年齢因子は妊娠率に影響をおよぼす事が示唆された。これらの要因について今後さらに検討を加えたい。

4. ARTによる妊娠成立例の予後

○高見澤聡, 柴原浩章, 田中寧子
種市明代, 小原ひろみ, 藤原寛行
小川修一, 出居貞義, 佐藤郁夫
(自治医大産婦)

ART による妊娠成立例の予後を明らかにすることを目的に、1995 年 5 月～1999 年 12 月までの間に当院において施行した 226 人、416 周期の ART により妊娠が成立した 110 例について、その予後を調査した。治療症例あたりの妊娠率は 47.8%，治療周期あたりの妊娠率は 26.4% であり、妊娠形態は単胎妊娠 65.5%，多胎妊娠 31.8%，子宮外妊娠 2.7% であった。妊娠 12 週未満の早期流産例は、単胎妊娠で 27.9% あり自然妊娠によるものよりも高率であった。多胎妊娠での早期流産例は 9.1% で単胎妊娠例より少なかったが、胎囊あたりの流産率は 22.4% と差はみられなかった。ART 妊娠例の生児獲得率は全体で 73.1% であり、単胎妊娠 69.1%，多胎妊娠 87.9% と多胎妊娠で高率であったが、多胎（双胎）出産例は単胎出産例より早産・未熟児が多く、単胎例にはみられなかった新生児死亡または脳性麻痺の予後不良例がみられた。

5. 極度の oligoasthenozoospermia の 2 症例に対する ICSI の経験

○片山恵利子，北村誠司，竹原祐志

田島敏秀，杉山 武，飯田悦郎

矢澤聡美，岩川真子，伊藤久美子

(荻窪病院産婦)

採卵当日の精液より運動精子を回収できない可能性のある oligoasthenozoospermia の 2 症例について、頻りに精子を凍結保存後、ICSI を施行した。症例 1 は、精液所見：精子数：2～60 万/ml，運動率：0～75%。採卵日には、当日の精液より運動精子を回収可能（受精成立），凍結精子からは運動精子は回収不能であった。症例 2 は、精子数：0～10 万/ml，運動率：0～80%（特に無精子症）。採卵日には当日の精液からわずかに運動精子を回収，凍結精子からも運動精子を回収。（fresh・凍結ともに受精成立）。

2 例とも幸い ICSI 当日に運動精子が得られ、受精・妊娠に至ったが、このような症例では fresh・凍結ともに運動精子を回収できない場合の予後も、あらかじめ患者に十分説明しておく必要があると考えられた。

6. 精子受精能に関する検討

○末永昭彦，小笠原綾子，藤原敏博

大須賀稔，矢野 哲，武谷雄二

(東京大産婦)

堤 治 (東京大分院産婦)

【目的】精子受精能を評価する手技として、精子形態に

よるものやアクロゾームの状態から評価するものがある。これらの 2 種類の検査を行い、その評価と受精率の関連について検討した。【方法】対象は、99 年 10 月から 2000 年 4 月における採卵数 5 個以上の IVF 症例 30 例で、媒精後の余剰精子を用いてアクロビーズテストを施行した。MH 61 抗体結合ビーズを精子懸濁液 4×10^6 ml (1, 2, 4, 8 倍希釈液) に添加し、陽性の有無を 5 段階で評価した。同時に精子を染色し Kruger strict criteria 改変型に従い Type 分類とアクロビーズテストの評価との関連を解析した。【成績】アクロビーズテストの受精に関する感受性は 95%，特異度は 80% であった。アクロビーズテストの評価に対して Kruger strict criteria Type 1 の含有率の平均値は、1：8.0%，2：17.4%，3：18.3%，4：21.2% であった。【結論】アクロビーズテストは、精子受精能を評価するうえで有用な検査であると考えられた。また、アクロビーズテストの評価が高いほど Kruger strict criteria Type 1 の含有率が高い傾向が認められた。

7. Sperm Quality Analyzer IIC (SQA IIC) の使用経験

○鈴木達也，柴原浩章，田村奈津子

小原ひろみ，高見澤聡，小川修一

出居貞義，佐藤郁夫 (自治医大産婦)

角田啓道 (同付属病院臨床)

【目的】CASA と比し安価で簡便な精液自動分析装置 (SQA) の改良器である SQA IIC を使用する機会を得たので、その診断的価値に関して検討を行った。【方法】同意を得た 71 症例 (精液検査 26 症例、AIH 39 症例、IVF-ET6 症例) の新鮮射出精液 71 検体を用い、SQA IIC および CASA による精液分析を同時に施行した。【成績】SQA IIC で測定した精子の運動能力を表す指数である SMI (sperm motility index) 値は 230.6 ± 148.5 unit、(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 $105.7 \pm 80.8 \times 10^6$ /ml、 $51.4 \pm 27.3\%$ 、 $70.1 \pm 72.3 \times 10^6$ /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 値は 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 IIC 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。

8. 精子不動化抗体を保有する不妊婦人の治療成績

○種市明代, 柴原浩章, 小原ひろみ
 大野貴史, 藤原寛行, 高見澤聡
 小川修一, 出居貞義, 佐藤郁夫

(自治医大産婦)

【目的と対象】不妊症1次検査として精子不動化試験(SIT)を行い, その治療成績を検討した。【結果】SIT陽性婦人は原発性不妊症の2.7%(6/221), 続発性不妊症の1.0%(1/98), 合計2.2%(7/319)に認めた。不妊原因別は排卵障害4.2%, 男性因子2.4%, 原因不明2.3%にみられた。PCTがabnormalの4.8%(3/62), satisfactoryの1%(1/107)にSIT陽性例を認めた。妊娠が成立した4人の治療はIVF-ET2例, 重症OHSS回避のため全胚凍結後の凍結胚移植2人であった。IVFの際にアルブミン添加培養液を用いた場合の受精率(89%)が, SIT導入前に患者血清を添加した場合の受精率(13~44%)と比べ明らかに上昇した1例を経験した。【結論】不妊症婦人に対しスクリーニングとしてSITを測定し, その陽性例にはSI50値を測定し, 治療方針を決定すること, SIT陽性例の培養では, 患者血清を添加しない培養液を用いて施行することの重要性が示唆された。

9. 不妊を主訴としたY染色体腕間逆位の症例

○足立陽一, 友政 宏, 岩渕正之
 押尾 茂, 梅田 隆 (帝京大泌尿)
 飯野好明 (上尾中央総合病院産婦)
 高野貴子 (帝京大公衆衛生)
 中堀 豊 (徳島大公衆衛生)

症例は38歳で8年間の不妊を主訴に来院。既往歴に特記すべきことはなく, 精巣容量, 血液生化学, 尿検査には異常を認めなかった。3回繰り返し行った精液検査の結果は, いずれも精子無力症・死滅症であった。染色体検査で, 常染色体, X染色体には異常を認めなかったが, Y染色体でp11, q11での腕間逆位が認められた。さらに, PCR法でRBM1, DYZ3, DYS139の3遺伝子が欠失していた。18番染色体, X染色体, Y染色体に対する精子の蛍光in situハイブリダイゼーション分析を行ったが, 染色体の異数性頻度については健常人対照群との間に差は認めなかった。自験例での欠失遺伝子にはazoospermia factorの候補のひとつとされるRBM1が含まれているが, 本症例は運動

率と生存率の低下を認めるものの精子は5,000万/ml程度と存在し, RBM1の欠失が無精子症の原因とはならない可能性が考えられた。

10. 男子不妊を主訴としたXXmaleの2例

○湯村 寧, 菅野ひとみ, 小川毅彦
 斎藤和男, 佐藤和彦, 穂坂正彦

(横浜市立大泌尿)

岩崎 皓, 沢田卓人

(横浜赤十字病院泌尿)

患者1:42歳男性, 1991年5月結婚後妊娠せず。10月17日当科初診。患者2:29歳男性, 1年3カ月の不妊で7月16日当科初診。両者とも性欲は認められ, 性交も可能であるとのことだった。来院時現症:患者1は身長160cm, 体重58kg。患者2も身長167cm, 体重61kgと小柄。体型は男性型で精巣容積は左3~5mlと小さかった。両者とも内分泌検査はhypergonadotrophic hypogonadismであり精液検査は無精子症。末梢血白血球培養では46XXと女性の核型でSRYは陽性となった。精巣組織では両者ともspermatogenesis, 精子細胞は認められなかった。以上よりXXmaleと診断し患者に結果を伝え, 症例1は挙児はこれ以上望まず診療を終了, 症例2の患者はAIDを施行。妻は翌1999年5月妊娠した。

11. 精巣腫瘍に対する化学療法の造精機能におよぼす影響について

○小宮 顕, 鈴木啓悦, 清水亮行
 今本 敬, 市川智彦, 伊藤晴夫

(千葉大泌尿)

川名庸子, 始関吉生

(川崎製鉄千葉病院泌尿)

【目的】精巣腫瘍に対する化学療法の妊孕性におよぼす影響について検討した。【対象】腫瘍摘除後化学療法を行った非再発生存中の片側性胚細胞性精巣腫瘍38症に対し精液検査, LH, FSH, テストステロン(T)値で妊孕性を評価した。化学療法はPVB, BEP, 大量化学療法を行った。【結果】化学療法前の精液所見は $20 \times 10^6/ml$ 未満15例, 正常13例であった。化学療法後約2年で13症例は精液所見を回復したが, 化学療法は2・3・4・5コース施行が各々6・5・1・1例であった。非回復例は4・7コースの各々1例および大量化学療法の2例であった。回復例のLH・FSHは5例で正常化, 5例で高値を持続していた。非回復例ではFSH

の有意な上昇を持続した。T はいずれも正常値を維持した。治療後の妊娠例は挙児希望 13 例中 5 例であった。【考察】精巣腫瘍に対する化学療法では 3 コース以下の症例は約 2 年で妊孕性が回復すると思われた。

12. 子宮腺筋症合併不妊症例の 3 例

○内田雄三, 笠井 剛, 小川恵吾
水野薫子, 永井聖一郎, 大田昌治
山中智成, 星 和彦 (山梨医大産婦)

不妊治療にあたって、その精査の過程で子宮腺筋症を認めることがある。重度の月経困難を呈するような症例では、不妊治療以前に月経困難症の管理に直面する。今回我々は重度の月経困難を伴った不妊症例を 3 例経験したので報告する。1 例は Gn-RH analogue の ultra-long 法による IVF-ET により妊娠したが流産し、その後は子宮腺筋症が増悪し、IVF-ET を行ったが ついには子宮全摘となった症例。もう 1 例は ultra-long 法による IVF-ET により妊娠、分娩したが、その後は子宮腺筋症が増悪し、IVF-ET を行ったが ついには子宮全摘となった症例。もう 1 例は ultra-long 法による IVF-ET により妊娠継続中の症例である。子宮腺筋症による不妊症は不妊治療以前に重度の月経困難を呈し、まずその管理に直面する。その治療としては ultra-long 法による GnRN analogue 投与後に体外受精を行い、早期に妊娠を図ることが効果的であると考えられた。

13. 腹腔鏡施行不妊症例における子宮内膜症症例と治療成績

○齋藤智博, 木下俊彦, 大高 究
伊藤元博 (東邦大佐倉病院産婦)

【目的】子宮内膜症を有する不妊症患者に腹腔鏡下手術を行い、その後の妊娠率に対する影響を検討した。【対象】1996 年 4 月より 1998 年 12 月までに東邦大学佐倉病院産婦人科学教室にて不妊症精査目的で腹腔鏡を施行した 56 例のうち病理学的に子宮内膜症と診断された 21 例、そのうち経過を追えた 16 例について検討した。【結果】revised-AFS 分類における患者数は I 期 4 例、III 期 8 例、IV 期 4 例で、それぞれの平均年齢は 30.5, 31.9, 32.3 歳であった。I 期例には洗浄剥離のみで、III, IV 期にはチョコレート嚢腫の Cystectomy もしくはレーザーによる内壁照射をそれぞれ 6 例ずつ行った。術後は I 期例を除いて 8 例に GnRH アナログを 4~6 カ月投与し、その後症例に応じて待機療法あ

るいは外来不妊治療を行い、また、既に不妊治療が行なわれていた例や、長期間の不妊例では積極的に IVF を行った。各進行度別の妊娠率は I 期 75%, III 期 37.5%, IV 期 0% で全体的な妊娠率は 37.5% であった。またチョコレート嚢腫に対する術式別の妊娠率では、腹腔内洗浄剥離が 75%, Cystectomy が 50%, レーザーによる内壁照射が 0% となり、レーザーによる内壁照射より、Cystectomy の方が高い妊娠率を示した。妊娠した 6 例のうち自然妊娠が 4 例、(内訳は I 期 2 例、III 期 2 例)、IVF 妊娠が 2 例(内訳は I 期 1 例、III 期 1 例)となり、I 期の妊娠例と III 期の妊娠例の妊娠方法は同数となった。各妊娠方法に費やした期間は、自然妊娠が 1~30 カ月、IVF が 3~17 カ月で IVF が平均 5 カ月程、妊娠成立に要した期間が短かった結果となった。【結語】子宮内膜症は重症例に近づくに従って妊娠率が低下する傾向を認める為、何らかの治療が求められるが不妊症例には個々の症例に対応した治療が望まれると思われた。

14. クラミジア感染の不妊への影響と腹腔鏡検査の有用性について

○飯野好明, 大江英一, 岡本雅善
堀 祐子 (上尾中央総合病院産婦)
相田圭子, 森 宏之 (帝京大産婦)
井尾祐子 (井上レディースクリニック)

Chlamydia trachomatis は、近年蔓延化している STD であり、女性側では卵管性不妊の原因、男性側でも精液所見に異常を認める。同症を合併する不妊症症例において腹腔鏡治療後妊娠を認めた 2 例について検討した。症例 1 の不妊原因は OHP とクラミジア IgA (+) IgG (+) で、不妊治療 9 周期行ったが妊娠せず、腹腔鏡にて、両側卵管周囲の癒着と卵管采部の小水胞、癒合を認めた。卵管鏡は正常。腹腔内精子回収試験は運動精子を認めた。テルグリド+クロミフェン+hCG にて妊娠を認めた。症例 2 は、不妊期間 3 年、不妊原因は OHP とクラミジア IgA (+) IgG (+), HSG にて両側卵管狭窄が疑われ、腹腔鏡にて左側卵管采部のこん棒状癒合と右側卵管采部の癒合、卵管鏡では正常。腹腔内精子回収試験は運動精子を認めた。テルグリド+クロミフェン+hCG にて妊娠した。Chlamydia trachomatis による卵管障害は、卵管腔内の所見が正常であれば腹腔鏡下による剥離や癒着の解放が有効である。クラミジア抗体陽性例では卵管障害が重症化する前に腹腔鏡による症状の改善を計る必要がある。

15. 腹腔鏡下に治療し得た子宮内外同時妊娠の 1 例

○桜井明弘, 佐藤雄一, 武内裕之
(順天堂大産婦)

子宮内外同時妊娠は自熟妊娠では稀であるが, 複数胚を子宮内移植する ART で成立した妊娠では, その発生に留意しなければならない。しかし ART 後の妊娠では過排卵刺激による OHSS が同時に存在することが多く, 診断に苦慮する。症例は IVF-ET で妊娠が成立, 採卵後より軽度の両側卵巣腫大を呈していた。妊娠 7 週, 急性腹症を来し, 疼痛管理を行ったが除痛効果が得られず, 貧血も進行し, 超音波断層法で腹腔内に高輝度エコーが存在したことより, 子宮内外同時妊娠または腫大卵巣の茎捻転と診断した。腹腔鏡で破裂した卵管膨大部妊娠を認め, 卵管切除術を施行し, 術後・妊娠経過は順調である。子宮内外同時妊娠では, 子宮外妊娠にみられる典型的な症状を欠き, 超音波でも腫大した卵巣で外妊部が式見えにくい。一方腫大卵巣の茎捻転とも共通所見があり, ART 後では両者の鑑別が困難である。本症例でも確定診断が困難であったが, 腹腔鏡下に治療し得た 1 例であった。

16. 子宮内膜 VEGF と着床—子宮内膜 VEGF の内分泌制御—

○酒井 謙, 神野正雄, 尾崎恒男
菅原新博, 星合敏久, 小野寺潤子
岩下光利, 中村幸雄 (杏林大産婦)

子宮内膜の VEGF の着床での役割とそのうち内分泌制御を検討した。自然周期高温 4 日に, 子宮内膜組織を採取, 免疫蛍光染色にて VEGF 発現量を測定した。また内膜日付診, 種々血清ホルモン値を測定した。その後体外受精を施行し, 妊娠との関連を検討した。マウス前核期胚と胞胚を体外培養し, VEGF 添加の効果を調べた。内膜の VEGF 発現は腺上皮細胞質内に認められた。VEGF 発現量は妊娠群で有意に高かった。内膜日付診と血清ホルモン値は妊娠/非妊娠群で差がなかった。内膜 VEGF 発現量は, 血清 LH 値と正の相関が示唆されたが, 他のホルモン値とは相関がなかった。マウス胚の胞胚形成率と spreading 面積は VEGF 添加で増加した。子宮内膜 VEGF 発現は LH により直接/間接的制御を受け, 着床で重要な役割を果たしていると示唆された。

17. メラトニン分泌に対する LH の影響

○保坂 猛, 三室卓久, 浜田直美
石塚文平 (聖マリアンナ医大産婦)
伊藤正則 (同化学)

【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, ゴナドトロピンなどの生殖にかか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およぼす可能性が高いことを示唆されている。そこで, 脳下垂体から分泌されるゴナドトロピンのひと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か否かを検討した。【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, メラトニン放出量およびメラトニン合成において律速段階を触媒する酵素であると主張されている 2 種類の酵素のうちの一つであるアリルアルキルアミン N-アセチル転移酵素 (NAT) を測定した。メラトニン放出量は RIA, NAT は高速液体クロマトグラフィーで測定した。【結果】LH サ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およ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 および 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。【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。

18. 遠赤外線治療が有効であった 3 不妊症例

○児島孝久 (アモルクリニック)

遠赤外線は 8~15 ミクロンの波長を有し人体の波長と同じため身体深部まで到達できる特徴があり, その結果血流の改善や細胞の活性化がおり卵巣 (とくに卵胞発育) の機能改善が期待される。不妊症に対して遠赤外線治療の効果を試みた。2000 年 1 月より遠赤外線治療器 (サンビーマー/サンマツト) を貸し出し自宅で朝晩照射してもらい, 希望の 20 症例に実施し, 3 症例が妊娠に至った。3 症例は 29~31 歳, 不妊期間 1.5~3 年, 検査上は精液所見を含め正常で, 既往に 3 例と

もクロミド5周期, hMG1~2周期, 2症例はAIHを実施しており, 遠赤外線治療期間は19日~65日間であった。遠赤外線治療後発育卵胞数や排卵日数などに変化はなかったが, 卵胞径がやや大きくなる傾向がみられた。妊娠に至った周期はクロミド投与下のAIH1例, 排卵頃のhCG投与2例であった。これらの3症例を検討した結果, 遠赤外線治療単独での妊娠例はなく, 従来の不妊治療に併用した症例が妊娠に至り, この治療法の適応や実施方法, 使用期間など今後症例を増やして検討する必要がある。

第37回日本不妊学会中国四国支部

日時:平成12年8月26日(土)午後1時~

場所:松山全日空ホテル(愛媛県)

1. ヒト子宮内膜における血小板活性化因子とヒト絨毛性ゴナドトロピンによる mitogen-activated protein kinase (MAP キナーゼ) 活性化反応と cyclooxygenase-2 の発現調節

○米原利栄, 宮崎康二(島根医大産婦人科)

ムニル・イクバル, 岡村 均

(熊本大産婦人科)

福永浩司, 宮本英七(熊本大第一薬理)

【目的】子宮内膜の脱落膜変化には複数のプロスタグランジン(PG)が関与しているが, その産生誘導機構の詳細については不明な点が多い。我々は, ヒト子宮内膜上皮細胞由来の腺癌細胞であるHEC-1B細胞を用い, PG産生酵素cyclooxygenase-2(COX-2)の誘導におけるmitogen-activated protein kinase(MAPキナーゼ)の関与について検討した。【方法】HEC-1B細胞を, 10nMエストロゲン及び1 μ Mプロゲステロンを培養液に添加して3~5日間培養した。MAPキナーゼ活性は, ゲル内リン酸化法で行った。COX-2発現はイムノプロットを行い定量化した。細胞刺激因子として血小板活性化因子(PAF)とhCGを用いた。【成績】1) MAPキナーゼ活性化とCOX-2発現の増強は, エストロゲン, プロゲステロン両ホルモンによる前処理を3~5日間必要とした。2) PAF及びhCGによる細胞刺激により, MAPキナーゼ活性化反応, COX-2発現共に増強効果が認められた。3) PAFによるMAPキナーゼ活性化は, MAPキナーゼキナーゼ阻害薬PD098059及びホスファチジルイノシトール3キナーゼ(PI3K)阻害薬ウオルトマニンによって阻害された。

4) PAFによるCOX-2発現増強は, PDにより阻害されず, ウオルトマニンにより阻害された。5) hCGによるMAPキナーゼ活性化反応とCOX-2発現増強は, PDにより阻害され, ウオルトマニンでは阻害されなかった。【結論】HEC-1B細胞では, PAF及びhCGによりMAPキナーゼ活性化が惹起され, COX-2発現が増強した。しかし, PAFはPI3K経路を, hCGはMAPキナーゼ経路を介しており, 両刺激因子間で情報伝達機構が異なることが示唆された。

2. 黄体期, 妊娠初期における脱落膜NK細胞のLFA-1発現性の解析

○福井敬介, 吉本 勲, 堀 玲子

松原圭一, 越智 博, 伊藤昌春

(愛媛大学医学部産科婦人科学教室)

【目的】黄体期~妊娠初期の脱落膜においてCD56^{bright}CD16⁻NK細胞が増加していることが知られているが, その意義は十分解明されていない。最近, 末梢血Natural Killer(NK)細胞の細胞障害性発現においてleucocyte function associated antigen-1(LFA-1; CD11a/CD18)が必須の接着因子であることが報告されている。本研究は黄体後期~妊娠初期の脱落膜NK細胞上のLFA-1発現性を解析し, 月経発来や初期流産の免疫学的機構に対する脱落膜NKの細胞障害性亢進の関与を解明することを目的とした。【方法】黄体後期(n=12), 妊娠6週~9週にて人工流産(対照群:n=30)及び自然流産(流産群:n=40)に至った症例より患者同意の上, 得られた脱落膜を研究に供じた。脱落膜組織小片からリンパ球を抽出し, これにanti-CD56-PE(NCAM), anti-CD16-FITC(Fc γ RIII), anti-CD11a-FITC(LFA-1: α 鎖)を用いてflow-cytometry法を施行。CD56^{bright}CD16⁻NK細胞の全リンパ球比率及びCD56^{bright}CD16⁻NK細胞の全リンパ球比率及びCD56^{bright}NK細胞のLFA-1発現率を解析した。更に, 流産群を絨毛染色体分析結果から正常群(n=7)と異常群(n=13)に分け上記のsubpopulationを比較した。【成績】黄体期/対照群/流産群のCD56^{bright}CD16⁻NK細胞比率及びCD56^{bright}NK細胞のLFA-1発現率は26.6 \pm 15.4%/35.8 \pm 20.5%/47.1 \pm 18.5%及び88.0 \pm 9.2%/62.7 \pm 18.4%/88.4 \pm 14.8%であり, CD56^{bright}CD16⁻NK細胞比率は流産群で有意な高値を示し(p<0.05), LFA-1発現率は黄体期, 流産群共に有意な高値を示した(p<0.01)。また染色体の正常群/異常群では50.6 \pm 17.1%/45.4 \pm 20.1%及び87.8 \pm 7.3%/88.7 \pm 6.4%であり有

意差はなかった。【結論】初期流産の脱落膜において絨毛染色体異常の有無に関係なく、CD56^{bright}NK 細胞は増殖し、細胞障害性を亢進させ embryo を免疫学的排除に関与していることが示された。また黄体後期にも細胞障害性が亢進し、月経発来に関与している可能性が示唆された。

3. 子宮内膜症腹膜病変における Nitric Oxide 産生酵素発現の検討

○野口聡一, 中塚幹也, 羽原俊宏
浅桐和男, 高田雅代, 小西秀樹
工藤尚文 (岡山大学医学部産科婦人科)

演者らは、子宮内膜症症例の腹水中で、Nitric oxide (NO) の安定代謝産物である Nitrite/Nitrate が高値であることを報告してきた。増殖する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にはマクロファージ、線維芽細胞、血管内皮細胞などが存在する。また、腹水中にはマクロファージを主体とした免疫細胞が活性化されている。そこで、演者らは、これらの細胞が、NO の産生源となりうるかを検討した。

【方法】腹腔鏡検査施行時に生検された子宮内膜症腹膜組織、採取された腹水を同意のもと使用した。免疫組織染色、immunoblotting にて NO 産生酵素の発現を検討した。【成績】免疫組織染色にて誘導型 NO 産生酵素は子宮内膜症腹膜病変の間質部のマクロファージ様細胞に発現していた。血管内皮型 NO 産生酵素は内膜症腺上皮に発現が認められた。また、腹水中の細胞はマクロファージが主体であったが、やはり、NO 産生酵素の発現が認められた。【考察】子宮内膜症症例の腹水中の NO 産生亢進には、内膜症腺上皮に加え、それととりまく間質細胞、腹水細胞は、NO の産生源となると考えられた。この NO は Vascular endothelial growth factors や Matrix metalloproteinase などと深く関連し、血管新生や癒着などの病変形成に関与すると考えられる。

4. 子宮内膜症由来間質細胞における TNF α の IL-8 誘導と細胞増殖促進作用

○岩部富夫, 藤井亜希子, 坂本靖子
山内延広, 伊藤雅之, 大島順恵
谷口文紀, 吉田壮一, 原田 省
寺川直樹 (鳥取大学医学部産科婦人科)

【目的】子宮内膜症患者腹水中には高濃度の Tumor necrosis factor α (TNF α) と Interleukin-8 (IL-8) が有

意な相関をもって存在することを報告した。TNF α はサイトカイン誘導能を有することが知られている。本研究では子宮内膜症由来間質細胞における TNF α の IL-8 誘導能を検索し、TNF α の細胞増殖に及ぼす影響を検討した。【方法】患者の同意のもと、手術時に採取した卵巣チョコレート嚢胞壁 (n=10) から間質細胞を分離培養した。内膜症由来間質細胞の TNF α 受容体と IL-8 遺伝子の発現を RT-PCR と Northern blot 法で検索した。TNF α 添加後の間質細胞における IL-8 蛋白発現については、マウス抗ヒト IL-8 抗体を用いた免疫染色を行い、培養上清中の IL-8 濃度を ELISA 法で測定した。間質細胞の増殖能は MTT assay により評価した。【成績】内膜症由来間質細胞において TNF α 受容体 type II 遺伝子の発現を認めた。免疫染色により、間質細胞での IL-8 蛋白の発現が観察された。TNF α の添加は IL-8 遺伝子の発現を増強し、培養上清中の IL-8 濃度を添加濃度および時間依存性に増加させた。TNF α (20~100pg/ml) は細胞増殖を有意に促進し、その促進作用は抗 IL-8 抗体の併用添加で中和された。【結論】子宮内膜症由来間質細胞において TNF α は IL-8 の遺伝子発現と産生を誘導した。IL-8 を介する TNF α の間質細胞増殖促進作用は子宮内膜症の進展に関与する可能性が示された。

5. 不妊男性における精漿中の secretory leukocyte protease inhibitor と精液所見

○前川正彦, 吉川修司, 鎌田正晴
青野敏博 (徳島大学医学部産科婦人科)
儀間裕典 (儀間クリニック)

【目的】昨年の本学会で、精漿中には十分量の secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) が存在しており、内性器の炎症によって遊走活性化された白血球が放出する elastase を抑制し、精子や粘膜上皮を防御していることを報告した。本研究では不妊男性の精液所見と精漿中 SLPI 濃度の関係について検討を加えた。

【方法】3施設(当科、沖縄、ドイツ: Dr. Thaler 提供)の不妊外来を受診した患者 164 名から精液を採取し、精液検査の後、精漿を遠心分離し、精漿中の SLPI 濃度および elastase 濃度を ELISA 法で測定した。また Jochum (1986) らの方法に従い、精漿を elastase 濃度によって正常群 (<250ng/ml)、中等度炎症群 (250~999 ng/ml)、高度炎症群 ($\geq 1,000$ ng/ml) の 3 群に分類し、さらに高度炎症群を膿精液症群とした。【結果】精液所見は正常精子群 (n=79)、無精子症 (n=7)、乏精子症

(n=17), 乏精子症・精子無力症(n=22), 精子無力症(n=20), 膿精液症(n=19)であった。精漿中 SLPI 濃度の中央値は, 正常群: 14.6 μ g/ml, 中等度炎症群: 17.8 μ g/ml, 高度炎症群: 19.9 μ g/ml であり, 高度炎症群は正常群に比べて有意に高値であった(p<0.05)。また膿精液症群と精子無力症群(21.1 μ g/ml)の精漿中 SLPI 濃度は正常精子群(13.7 μ g/ml)に比べて有意に高値を示したが(p<0.01), 精子運動率と SLPI 濃度との間には相関関係を認めなかった。【結論】膿精液症では精漿中 SLPI が増加していることが明らかとなった。これは SLPI 産生が炎症刺激によって増加することを示唆しており, 感染による生体の防禦機転と考えられる。また精子無力症における SLPI の意義については今後の検討を要する。

6. 摂食促進物質オレキシンの LH パルス状分泌抑制作用における内因性オピオイドの関与

○田村貴央, 清川麻知子, 手束典子
桑原 章, 井川 洋, 斎藤誠一郎
松崎利也, 安井敏之, 苛原 稔
青野敏博 (徳島大学医学部産科婦人科)

【目的】我々は, 新たに発見された摂食促進物質オレキシンの下垂体からの LH パルス状分泌を抑制することを明らかにした。今回はその作用機序を明らかにするために, 内因性オピオイドの関与について検討した。【方法】両側卵巣摘出後の成熟雌ラットを用い, 第3脳室内にオレキシシン A (A 群), オレキシシン B (B 群) を 3nmol, 対照として生理食塩水 (C 群) を単独投与した群, およびオピオイド拮抗剤であるナロキソン (0.5 mg/kg/h) を併用した群 (A+N 群, B+N 群) において, 脳室内投与後 2 時間における LH パルス状分泌の変化を検討した。【成績】オレキシシン A では, 平均 LH 値 (A 群: 4.81 \pm 0.56 μ g/l, A+N 群: 7.47 \pm 0.71 μ g/l, C 群: 8.45 \pm 0.75 μ g/l) とパルス頻度 (A 群: 2.71 \pm 0.42 回/2h, A+N 群: 3.71 \pm 0.18 回/2h, C 群: 5.29 \pm 0.36 回/2h) は, オレキシシン A の投与により有意 (p<0.01) に減少したが, ナロキシソンの併用により有意 (p<0.01, 0.05) に増加し, 回復した。一方オレキシシン B では, 平均 LH 値 (B 群: 6.57 \pm 0.44 μ g/l, B+N 群: 6.71 \pm 0.29 μ g/l, C 群: 8.45 \pm 0.75 μ g/l) とパルス頻度 (B 群: 3.75 \pm 0.56 回/2h, B+N 群: 4.00 \pm 0.33 回/2h, C 群: 5.29 \pm 0.36 回/2h) は, オレキシシン B の投与により有意 (p<0.05) に減少し, ナロキシソンを併用しても回復しなかった。【結論】オレキシシンによる LH パル

ス状分泌の抑制には, オレキシシン A では内因性オピオイドが関与しているが, オレキシシン B ではその可能性が少ないことが示唆された。

7. プロラクチン, 成長ホルモンの分泌・合成に関する細胞内情報伝達系について

○金崎春彦, 高橋健太郎, 尾崎智哉
宮崎康二 (島根医大産科婦人科)
福永浩司, 宮本英七 (熊本大第一薬理)

【目的】下垂体ホルモンの分泌・合成はそれぞれ異なった細胞内情報伝達機構により制御されている可能性が高い。我々はラット下垂体腫瘍由来の GH3 細胞を用い, thyrotropin-releasing hormone (TRH) 刺激によるプロラクチン, 及び成長ホルモン分泌機序, 及び遺伝子発現機構を調べることを目的とし, 主として Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II (CaM キナーゼ II), 及び Mitogen-activated protein kinase (MAP キナーゼ) の役割について検討した。【方法】GH3 細胞を TRH 刺激し, 分泌されるプロラクチン, 成長ホルモン量を RIA にて測定し, 各遺伝子発現量は定量的 PCR にて測定した。TRH 刺激後の CaM キナーゼ II 活性は syntide II を基質として測定し, MAP キナーゼ活性は myelin basic protein を基質としたゲル内リン酸化法にて行った。【成績】TRH 刺激によりプロラクチン及び成長ホルモンの分泌量は上昇したが, 遺伝子発現においてはプロラクチン mRNA 量は著明に上昇するものの, 成長ホルモン mRNA 量は有意に減少した。TRH 刺激により CaM キナーゼ II, MAP キナーゼ活性共に有意に上昇した。TRH 刺激によるホルモン分泌量は CaM キナーゼ II 阻害剤, ミオシン軽鎖キナーゼ阻害剤で完全に抑制されたが, MAP キナーゼ阻害剤で阻害されなかった。一方, プロラクチン産生量の増加は MAP キナーゼ阻害剤で著明に抑制された。【結論】TRH 刺激によるホルモン分泌とホルモン合成は異なる細胞内情報伝達系により調節されることが示された。プロラクチン分泌反応には CaM キナーゼ II, ミオシン軽鎖キナーゼが関与し, 合成には MAP キナーゼが関与することが示された。

8. 排卵誘発治療におけるゴナドトロピン療法の投与方法の工夫

○山田正代, 牛越賢治郎, 清川麻知子
手束典子, 田村貴央, 上村浩一
桑原 章, 井川 洋, 斎藤誠一郎

植田敏弘, 安井敏之, 苜原 稔
青野敏博 (徳島大学産婦人科)

【目的】ゴナドトロピン療法は強力な排卵誘発法であり, 優れた臨床効果が報告されているが, 多胎妊娠の増加や, 卵巢過剰刺激症候群などの発生頻度が高いことが報告されている。我々は, 従来のゴナドトロピン療法の副作用である多胎妊娠や OHSS を軽減する方法を検討する目的で, FSH 低用量持続療法と FSH-GnRH パルス療法の有効性について検討した。【方法】視床下部性排卵障害または PCOS 症例をそれぞれ FSH 通常法, FSH 低用量持続療法, FSH-GnRH パルス療法の三群に分けて, 排卵障害に対する治療効果を比較検討した。【結果】FSH 低用量持続療法と FSH-GnRH パルス療法の排卵率と妊娠率は通常法と比較して差は認められなかった。通常法の視床下部性排卵障害および PCOS 症例における多胎妊娠率はそれぞれ 12.5%, 30.3% であったのに対し, FSH 低用量持続療法と FSH-GnRH パルス療法では多胎妊娠が認められなかった。また通常法の OHSS 発生率は視床下部性排卵障害で 43.2%, PCOS で 40.9% であるのに対し, FSH 低用量持続療法ではそれぞれ 12.0%, 25.0%, FSH-GnRH パルス療法ではそれぞれ 0.0%, 13.4% と有意に低く, その発生率は FSH-GnRH パルス療法で特に低かった。【結論】FSH 低用量持続療法および FSH-GnRH パルス療法は通常法による排卵率, 妊娠率を保ったまま多胎妊娠や OHSS の発生が予防できた。特に PCOS などの OHSS のハイリスク患者に対しては FSH-GnRH パルス療法が有用であることが示唆された。

9. LH receptor の発現異常が疑われた fertile eunuchoidism の 1 例

○白石晃司, 内藤克輔 (山口大学泌尿器科)

【目的】fertile eunuchoidism は従来 LH 単独欠損 (低下) 症と捉えられていたが, 血中 LH が正常値を示す症例も散見される。今回, 血中 LH が正常値を示した fertile eunuchoidism の 1 例を経験し, LH-Leydig 細胞系の異常について検討した。【方法】患者および血縁者の末梢血リンパ球より DNA を抽出し, PCR 法により LH-β 遺伝子の exon 2 および 3 を増幅し, direct sequence を施行した。精巣生検時に得られた精巣組織をホモジネートし SDS-PAGE および LH receptor 抗体による Western blotting を施行した。【結果】LH-β 遺伝子の Gly⁷⁵ (GGC) → Gly⁷⁵ (GGT) の silent polymorphism を認めたものの, Trp⁸ → Arg⁸, Ile¹⁵ → Thr¹⁵, Glu⁵⁴

→ Arg⁵⁴ の mutation は認められなかった。Western blotting にて LH receptor の発現低下を認めた。病理組織学的には全体的に hypospermatogenesis であったが, 一部精子形成を有する精細管を認めた。Leydig cell hypoplasia は認められなかった。【考察】本症例は LH 自体には異常を認めないが高濃度の LH (hCG) により良好な血中 testosterone の上昇, 男性化を認めたことより, LH-β 鎖の構造異常症や loss of function を来す LH receptor 遺伝子の mutation また androgen receptor の異常は否定的であり, Western blotting の結果からも LH receptor の発現異常が疑われた。hCG 刺激により LH receptor の up-regulation が生じたと考えられた。また, LH receptor の発現異常は fertile eunuchoidism の病態に関係していると考えられた。

10. 腹水中 HGF 濃度と子宮内膜症進行期

○吉田壮一, 原田 省, 月原 悟
山内延広, 坂本靖子, 藤井亜希子
大島順恵, 伊藤雅之, 谷口文紀
岩部富夫, 寺川直樹

(鳥取大学医学部産科婦人科)

【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, 子宮内膜症の有無と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者で観察された。【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。

11. 成長ホルモン (GH) および Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) 併用療法にて妊娠し得た poor responder の症例

○高崎彰久, 田村博史, 石松正也
森岡 均

(済生会下関総合病院産婦人科)

近年, poor responder に対する GH や M-CSF の投与が試みられ, その効果が期待されている. 今回, 通常の排卵誘発法で十分な受精卵が得られず妊娠に至らなかった症例に対し, 十分なインフォームドコンセントのもと hMG に GH および M-CSF を併用し, 妊娠し得た症例を経験したので報告する. 【症例】症例は 32 歳. 27 歳時, 夫が閉塞性無精子症と診断され当院初診し, 以後当院にて今回を含め 14 回の顕微授精を試みた. 精子は初回に顕微鏡下精巢上体精子回収法にて採取し, 2 回目から 10 回目まではその凍結精子を用いた. 11 回目には精巢精子回収法を施行, 12 回目以降はその凍結精子を用いた. 排卵誘発法は 1 回目から 4 回目までは LH-RHa の long または short 法を用い, 6 回目から 12 回目までは clomid-hMG 療法を用いた. 1 回目から 12 回目までの間で発育卵胞数は 3.7 ± 2.3 個 (mean \pm SD) で 2 周期で血中 estradiol 値が減少したため採卵をキャンセルした. 10 回の採卵で得られた成熟卵は 1.1 ± 0.9 個であった. 受精卵が得られたのは 4 周期のみでそのうち 3 周期は 2 前核期で発育が停止した. GH releasing factor 負荷試験をおこなったところ GH の超値が 10.7 ng/ml と低値を示したため, 13 日目は long 法に GH (4 単位 5 日間隔日投与) を併用した. しかしながら, 成熟卵が得られなかったため 14 回目には GH とともに M-CSF を併用した (GH 4 単位, M-CSF 800 万単位 4 日間隔日投与). その結果, 発育卵胞数 7 個, 採卵数 5 個, 成熟卵 3 個が得られ, 2 個が受精した. 2 個の受精卵を胚移植し妊娠に至り, 現在妊娠 10 週で経過は順調である. 【結論】GH 分泌不全症例で GH 併用療法無効例に対し, GH および M-CSF 併用療法は試みる価値のある治療法である.

12. Bromocriptine-rebound 法は併用することで胚の quality が向上するのか?

○森出直子, 中川浩次, 梶ゆかり
山下瑞穂, 松本光弘, 小松淳子
山野修司, 青野敏博

(徳島大学医学部産婦人科)

【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を検討した. 【対象】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. 【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 内服し, 内服終了後 7 日目から GnRHa 併用 long 法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 E_2 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】 E_2 ピーク値は通常周期で $1,758 \text{ pg/ml}$, BR 周期で $2,201 \text{ pg/ml}$ であった. 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. 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. BR 周期では 3 例が妊娠した (妊娠率 = 16.6%). 【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.

13. MESA, TESE を用いた ICSI の臨床成績

○香月孝史, 原 鐵見, 大濱紘三

(広島大学産科婦人科学教室)

【目的】我々は無精子症例に対して MESA あるいは TESE を用い ICSI を施行したのでその臨床成績を報告する. 【方法】平成 7 年 2 月より平成 11 年 12 月まで行った MESA 9 症例 18 周期, TESE 4 症例 4 周期. 精子の採取は脊椎麻酔下に精巢, 精巢上体を露出し, 精巢上体にエラスター針を穿刺し精液を吸引し精子回収を試みた. 運動精子が存在しなかった場合は眼科用曲穿刀を用い精巢を切開し組織を採取した. 精巢組織は細切, 圧座後運動精子を確認した. 採取された精子は過排卵された卵胞から採取された卵子と 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った. その症例を除く 21 周期すべてより成熟卵を摂取することができ計 131 個であった. 3 症例 3 周期以外は受精卵得られ, 計 70 個で受精率は 53.4% であった. そのうち分割卵は 64 あり分割率 91.4% であった. 受精卵を得られなかった 3 周期と, 2PN で移植した 1 周期以外は, すくなく

とも形態優良胞胚を 1 個以上得られた。移植は受精卵を得られなかった症例以外すべてに行われ 47 個(平均 2.6 個)であり, 6 症例(対象者あたり 46%, 対周期あたり 27.3%, 対移植あたり 33.3%)に妊娠が成立した。妊娠症例中 3 例は継続中, 3 例は健常児を娩出, 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】MESA, TESE による ICSI を行った結果良好な妊娠成績を得た。

14. 胚盤胞移植術のキャンセル例の解析

○堀 玲子, 福井敬介, 吉本 勲
越智 博, 伊藤昌春

(愛媛大学産科婦人科学教室)

【目的】最近, 着床率の改善や多胎妊娠の予防を目的として, 胚盤胞移植術が施行されている。我々は Day2 余剰胚を用いた胚盤胞培養の基礎的検討において G3 以下の形態不良胚の胞胚形成率は低いことを報告した。今回, 胚盤胞移植術における胞胚移植率に及ぼす因子について検討を加えた。【対象と方法】平成 11 年 7 月から平成 12 年 4 月までに当科において 2 回以上の ART 反復不成功を適応として胚盤胞移植術を施行した 36 症例(36 周期)を対象とした。Day2 以後の胚培養は α MEM 培地, 5%CO₂, in air, 37°C の条件下で行い, Day5 あるいは Day6 に移植(2 個以内)を行った。症例を胚移植の有無により移植群(n=22)とキャンセル群(n=14)の 2 群に分けて年齢, 不妊期間, 既往 ART 回数, 発育卵胞数, 採卵数, Day2 良好胚数(G1+G2)について両群を比較した。【成績】年齢, 不妊期間, 既往 ART 回数において両群間に有意差を認めなかった。平均発育卵胞数及び平均採卵数はそれぞれ $12.2 \pm 6.5/6.4 \pm 3.4$ および $9.2 \pm 4.2/5.1 \pm 2.5$ とキャンセル群が有意に低値であった($p < 0.05$)。また Day2 良好胚数は $3.2 \pm 2.3/1.4 \pm 1.5$ であり, キャンセル群は有意に低値であった($p < 0.05$)。【結論】ART 反復不成功例に対する胚盤胞移植において採卵数が比較的少数で, Day2 にて良好胚が複数個得られない症例では胚移植率が低く, 胚盤胞移植術の適応となりにくいことが明らかとなった。

15. 当科不妊外来の現状

○高山尚子, 中村康彦, 原田綾子
山縣芳明, 杉野法広, 加藤 紘
(山口大学医学部産科婦人科)

【目的】最近 5 年間の当科不妊外来の現状につき, 特に妊娠率の低かった不妊因子を中心に解析した。【対象】1995 年 1 月から 1999 年 12 月の 5 年間に当科不妊外来を受診し治療を受けた原発性不妊 192 例, 続発性不妊 163 例の計 355 症例を対象とした。不妊原因別にみると内分泌因子 38.6%, 男性因子 19.1%, 卵管因子 18.4%, 子宮因子 6.9%, 子宮内膜症 6.1%, 黄体化未破裂卵胞(LUF)症候群 4.6%の順であった。【結果】355 例中妊娠に至ったものは 133 例(37.5%)で不妊因子別の妊娠率は子宮因子 39.5%, 内分泌因子 38.2%, 男性因子 26.3%, LUF 31.0%であった。男性因子を有する症例 118 例中妊娠に至った 31 例の治療法は配偶者間人工授精が 12 例(38.7%), 体外受精胚移植(IVF-ET)が 9 例(29.0%)であった。LUF の 29 例のうち 9 例に IVF-ET を行ったが妊娠に至ったのは 2 例(22.2%)のみであった。【結論】以上当科の不妊治療の成績をみるに, 今後は特に男性因子と LUF に対する治療法を改善させる必要があると考えられた。また, LUF については IVF-ET を行っても予想していたほどの妊娠率が得られておらず, 単に排卵の障害にとどまらない不妊原因が存在している可能性が示唆された。

16. 三次元超音波法による子宮奇形の診断

○久野 敦, 柳原敏宏, 花岡有為子
山城千珠, 田中宏和, 原 量宏
秦 利之

(香川医科大学母子科学講座周産(生)期学)

習慣性流産, 不育症の原因検索として子宮奇形の診断は重要と考えられる。従来より, 子宮奇形の診断はおもに子宮卵管造影法や帝王切開時に診断されてきたが, 最近超音波診断法, MRI の導入により比較的容易に診断されるようになった。しかしながら, 時にその診断に苦慮する症例に遭遇する場合も存在することがある。そこで今回我々は, 三次元超音波診断装置(Voluson 530D Medison 社製)を用いて子宮奇形の診断を試みたので報告する。症例 1 は 31 歳, 3 回経妊 0 回経産で, 他医より習慣性流産及び不育症の診断で当科紹介となった。初診時の経膈三次元超音波法により不全型双角子宮の診断を得た。症例 2 は 40 歳, 3 回経妊 2 回経産で, 自然流産の既往がある。当科初診時より双頸双角子宮が疑われていたが, 今回帝王切開時の所見で完全型中隔子宮および膈中隔の診断を得て, 産褥期の経膈三次元超音波法により同様の診断を得ることができた。経膈二次元超音波法においては子宮の矢状断像

と冠状断像のみが描出可能であるが、経膈三次元超音波法はさらに横断面像及びその他の任意の断面を描出できる。子宮の外形並びに子宮内膜の形状をより鮮明に描出できるため、経膈三次元超音波法は子宮奇形の診断に非常に有用であることが示唆された。

17. 子宮筋腫および子宮腺筋症の GnRH analogue 療法—MRI での評価は可能か?—

○大西雄一, 高橋健太郎, 尾崎智哉
金崎春彦, 宮崎康二

(鳥根医大産科婦人科)

【目的】MRI は子宮筋腫および子宮腺筋症の非侵襲的検査法として有用であるが、GnRH analogue 治療における効果判定・治療方針決定に関する報告は少ない。今回、本治療における MR 像の変化について検討し、その役割について考察する。【方法】臨床的に子宮筋腫と診断した 40 症例 85 検体およびびまん性子宮腺筋症と診断した 31 例を対象とし、GnRH analogue 療法を 6 カ月間行い、治療前後の MRI 像を検討した。【成績】子宮筋腫において T2 強調画像の輝度にかかわらず Gd-DTPA 造影画像で造影される Type の子宮筋腫の平均縮小率は 51.5% であり、造影されない Type の平均縮小率 (21.9%) との間に有意差が認められた。子宮腺筋症では junctional zone (JZ) の部分的・非対称性肥厚の認められる II 型は JZ の全周性・対称性肥厚が認められる I 型より JZ が厚く、点状高信号領域を含む割合が高かった。治療後には平均して JZ 厚および子宮体積は減少し、67% で点状高信号領域の消失があった。II 型の 44% に病巣の縮小と境界が明瞭化し、核出術が可能となった。【結論】子宮筋腫では GnRH analogue 治療に対する治療効果の予測が治療前の MRI で可能と思われる。また、子宮腺筋症では治療前後の客観的評価や治療方針決定に役立つと考えられた。

18. イオトロラン 240mgI/ml (イソビスト 240) による子宮卵管造影法の試み

○南條和也, 大塚恭一, 宮内文久

(愛媛労災病院産婦人科)

【目的】従来、子宮卵管造影 (HSG) にイオトロラン 300 mgI/ml を使用していたが、中等症以上のアレルギー反応が 4 例続いた。そこで今回、使用造影剤をイオトロラン 240mgI/ml (240 群) に変更し、Digital Radiography (DR) にて撮影を行ない、その造影能と副作用を従来のイオトロラン 300mgI/ml (300 群) と比較検討

した。【方法】1999 年 7 月から 2000 年 5 月までに挙児希望にて来院された患者 64 例 (300 群 36 例, 240 群 28 例) を対象とした。なお、イオトロラン 240mgI/ml は患者の同意をえて使用した。【成績】造影効果では、両群とも全例、造影効果判定 (++) 以上で、診断上十分な造影効果を認めた。従来、240 群では劣るとされていたコントラストも DR にて撮影を行なうことにより、ほとんど差は認められなかった。副作用では 300 群において 1999 年 7 月から 1999 年 11 月までの 5 カ月間に 36 例中 4 例 (11.1%) に、呼吸困難を伴いステロイド投与を必要とした中等症以上のアレルギー反応がみられた。一方、240 群では今のところそのような副作用は認めていない。中等症以上の腹痛は 240 群では 3 例 (10.7%)、300 群では 4 例 (11.1%) に認められ両群に差はなかった。【結論】イオトロラン 240mgI/ml は従来の 300mgI/ml と比較し、造影能も DR にて撮影した場合差がなく、副作用発現の可能性も低いと考えられ、またコストの面からも有用であると考えられた。

19. Flowcytometry を用いた子宮内膜症腹腔内環境の解析

○山本寄人, 泉谷知明, 木元正和
石元志保, 林 和俊, 前田長正
森岡信之, 深谷孝夫

(高知医大産科婦人科)

【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と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), CD158 (抑制性 NK ; killer inhibitory receptor) を用い、内膜症群、非内膜症群について比較検討した。【結果】1) CD 3, 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) 腹水中の CD16 に占める CD 158 の割合は内膜症群で有意に増加していた。4) 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 細胞, B 細胞, 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、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。また、この抑制性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。

20. 不妊専門クリニックにおける男性不妊症の臨床的検討

○永井 敦, 渡部昌実, 井口裕樹
公文裕巳

(岡山大学医学部泌尿器科学教室)

林 伸旨, 名越一介

(岡山二人クリニック)

【目的】不妊専門クリニックにおける男性不妊症の現状につい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、精索静脈瘤触診所見、妊娠率等につき検討した。【結果】患者の年齢は24~44歳、平均33.3歳、妻の年齢は24~44歳、平均31.1歳であった。不妊期間は1~304カ月、平均48.6カ月であった。避妊歴は40名にあり、平均29カ月であった。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10~26ml、平均21.2ml、左精巣は8~26ml、平均20.4mlであった。触診上、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Group1(G1)が8名、G2が16名、G3が21名、G4が30名であった。sub-clinical症例は5名、3.5%に認められた。手術は低位結紮術を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。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。

21. 子宮内膜の薄い症例に関する検討

○新谷忠司 (国立岩国病院産婦人科)

妊娠成立周期の子宮内膜は排卵時に一般的に10mm前後であるといわれており、子宮内膜の薄い周期や厚い周期は妊娠成立が困難であったり、流産の原因になるといわれている。また、排卵を認めるが排卵時の子宮内膜の薄い症例では、子宮内膜が薄い周期が多く、

その治療に苦慮することがある。今回、排卵を認めるが排卵時の子宮内膜が薄い周期があった症例について子宮内膜の厚さや治療法、妊娠などの関連を検討してみた。【対象】当科不妊外来を受診し、排卵を認めるも排卵時の子宮内膜が7mm以下の周期があった症例12例76周期を対象とした。【結果】子宮内膜の薄い周期は排卵誘発なしの周期では50%、クロミッド使用周期では28%であった。また対象の12例中の7例に妊娠が成立した。妊娠例では子宮内膜が薄かった周期は37%であり、非妊娠例では40%であった。【結語】排卵時期に子宮内膜が薄い症例でも、子宮内膜が適切な厚みになる周期があり、また妊娠成立する可能性もあることがわかった。子宮内膜が薄い周期を繰り返す症例も排卵を誘発できれば子宮内膜に関しては経過を観察していればよいと思われた。

22. 不妊者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

○小林正幸, 手山知行, 平川 修
伊東武久

(社会保険徳山中央病院産婦人科)

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よいと思われた。

23. 卵管鏡下卵管形成術(FTカテーテル法)の治療成績

○中堀 隆, 小泉幸司, 藤井 剛

梅岡弘一郎, 由良泰一郎, 本田徹郎

長谷川雅明, 高橋 晃

(倉敷中央病院産婦人科)

玉井彦明

(彦根市民病院産婦人科)

【緒言】卵管因子による不妊症治療として従来は通気通水法, マイクロサージェリー, 体外受精-胚移植(以下 IVF-ET)が行われてきた。近年侵襲性の低い卵管疎通術として卵管鏡下卵管形成術(以下 FT カテーテル法)が注目されてきている。当科では 1998 年 5 月より FT カテーテル法による治療を開始し現在まで 12 例に施行した。今回 6 カ月以上の術後観察期間のあった症例の治療成績を検討した。【方法】対象は 1998 年 5 月より 1999 年 12 月までに FT カテーテル法による卵管疎通術を施行した 9 例である。内訳は術前子宮卵管造影にて両側卵管閉塞を認めたもの 6 例, 片側卵管閉塞を認めた後に一般不妊治療にて妊娠に至らなかった 3 例の 15 卵管であった。全例で全身麻酔下に腹腔鏡併用のもと FT カテーテル法を施行した。【成績】卵管疎通率は 9 症例中 9 例(100%), 15 卵管中 12 卵管(80%)であった。予後は一般不妊治療(排卵日タイミング法, AIH など)による妊娠が 5 例(分娩 1 例, 妊娠継続中 2 例, 流産 2 例), 一般不妊治療を断念し IVF-ET による妊娠が 1 例(妊娠継続中)であった。【結論】卵管因子による不妊症治療において IVF-ET の前段階として FT カテーテル法による卵管疎通術を施行することは有意義であると思われた。

24. 原発性無月経, 高身長を呈した X 染色体異常

○原田綾子, 中村康彦, 高山尚子

山縣芳明, 杉野法広, 加藤 紘

(山口大学医学部産科婦人科)

【症例】20 歳, 女性。17 歳になっても月経発来がなく近医にて kaufmann 療法を施行されていたが, 二次性徴の発現不良および著明な身長増加を理由に 1 月当科外来に紹介された。【臨床所見】初診時所見: 身長 176cm, 体重 53kg。乳房発育 Turner 分類第 2 期。血中エストラジオール < 10pg/ml, LH 15.7mU/ml, FSH 61.2mU/ml, GH 3.2ng/ml。エストロゲンとプロゲステロンを併用投与したところ消腿性出血を認めた。G-banding および SKY では, 一方の X 染色体長腕遠位端欠損, CGH では Xp21-pter の gain と Xq22-qter の loss が確認された。FISH の結果とあわせて最終的に 46 X der(X) (pter→q21::p21→pter) と診断された。腹腔鏡検査では両側の索状性腺および blue berry spot を認め, 組織学的に原子卵胞の欠如と endometriosis が確認された。【考察】原発性無月経および高身長を呈する症例に対し染色体解析を行い Xp duplication および Xq deletion を有するまれな症例を経験した。本症例で認められた高身長は近年同定された Xp22 にある SHOX 遺伝子が 3 つ存在する事が原因であると考えられる。さらに本症例では子宮内膜症の存在が認められ, 原発性無月経患者においても kaufmann 療法の際には注意すべき疾患と考えられた。

関連学会のお知らせ

第42回 日本哺乳動物卵子学会開催のご案内

下記の要領で第42回日本哺乳動物卵子学会および総会を開催致します。多数の参加をお願いいたします。

第42回 日本哺乳動物学会卵子学会

大会長 井上 正人

記

期 日：2001年5月31日（木）・6月1日（金）

会 場：日本都市センター

〒102-0093 東京都千代田区平河町2-4-1（代表TEL）03-3265-8211

連絡先：国際医療福祉大学臨床医学センター 山王病院リプロダクションセンター

〒107-0052 東京都港区赤坂8-10-17

（代表TEL）03-3402-3151（FAX）03-3404-3652

担当者：小林善宗，本田育子

学会参加申し込み：学会当日会場にて受け付けます。参加費は次の通りです。

・学会参加費 7,000円・懇親会参加費 7,000円

1. 学術集会：5月31日（木）・6月1日（金）の両日，一般講演とシンポジウムをおこないます。

・シンポジウム：「IVMの臨床応用」「卵子：研究と倫理」

・一般講演：講演の形式は口演とポスターです。

〔演題申し込み〕

演題の申し込みは、本誌17巻3号綴じ込みの原稿用紙にタイプまたはワープロで印字した講演要旨、およびそのコピー2部を、申込用紙、通知用はがきと共に上記連絡先宛に書留郵便にてお送り下さい。原稿はそのまま写真印刷して、本誌18巻2号に講演要旨として掲載されます。なお会員1人1題とさせて頂く場合がありますのでご了承下さい。

・奨励賞を設けています。

申し込み締切日：2001年2月10日（必着）

〔発表要領〕

口演時間は1題につき10分、討論3分の予定です。各会場には35mmスライドプロジェクター1台を用意いたします。

2. 理事会・評議員会・編集委員会・懇親会：次の通り開催する予定です。

・理事会：5月31日（木）12:00より

・評議員会：6月1日（金）12:00より

・編集委員会：6月1日（金）8:00より

・総会：6月1日（金）12:45より

・懇親会：5月31日（木）18:30より

編集委員会からのお知らせ

45巻1号から46巻1号(平成12年度)に掲載された論文は、以下の先生方に審査をご担当いただきました。誌上にご氏名を掲載し、謝辞に代えさせていただきます。

明安伊岩遠岡葛川久香坂関田丹福星松安吉	楽藤本藤田西内慈山元守辺羽井合宮水田	重一元晃俊詔孫博直浩秀守清皓敬清洗英	夫道博明子三郎人昭二樹利男二介昊美彦機	東石苛植太岡片神久斎柴高玉野福間水山吉	敬次郎陸稔次博弘進秀春浩芳輝昌芳さよ英修泰	安達知子	石原崎宮橋田藤村保田森坂本岡川本	宇都大荻加北久齊鈴田塚馬舟正宮山	隆正幸征史哉郎一薰司寛薫男久	安部裕司	伊藤光直紘三茂智彦久和夫温勉雄彦平英淳	部藤下咲濱尾子俊博英久中地寿和講光
---------------------	--------------------	--------------------	---------------------	---------------------	-----------------------	------	------------------	------------------	----------------	------	---------------------	-------------------

(敬省略)

平成12年12月

日本不妊学会編集委員会

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、引用順に末尾一括記載する。著者、編者名は3名までとし、以下は他(et al.)とする。
 - a) 雑誌の場合
著者名(年次)題名 誌名 巻数:頁-頁とする。
和文誌名は該当誌の規定または慣用に略名に従い、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. *日本不妊誌* 40: 104-109
 - b) 単行本の場合
著者名(年次)題名. 書名. 編者名, 発行所, 発行地, pp 頁-頁とする。(英文の場合は編者名, 書名. 順)
英文例) Collins JA (1995) Unexplained infertility. In: Keye WR Jr., Chang RJ, Rebar RW, et al. (eds), 1st ed, *infertility: Evaluation and Treatment*. WB Saunders Co, Philadelphia, pp249-262
和文例) 三浦一陽(1994) 男性不妊症. *アンドロロジーマニュアル*. 白井將文編, 第1版, 新興医学出版, 東京, pp152-166
12. 投稿論文の著作権は、掲載が決定した時点で日本不妊学会に譲渡される。投稿原稿、図表、写真は返却しない。
13. 同一著者による論文の掲載は同一号に1編のみとする。
14. 著者校正は原則として初校のみとする。なお、校正は字句の訂正にとどめる。校正の責任は全面的に著者に帰す。
15. 特別掲載を希望する論文は、受付順序によらず、速やかに掲載される。この場合は掲載に要する実費を全額著者負担とし、かつ特別掲載料を納付する。
16. 別刷は著者負担とし、50部を単位とする。原稿表紙に別刷総部数を朱記する。
17. 項目5.15.16にある掲載に要した経費などは、学会から著者に直接請求書を送付する。諸費用は速やかに下記口座に送金する。
郵便振替口座: 00170-3-93207
銀行預金口座: 三和銀行麹町支店 普: 3706039
社団法人日本不妊学会宛
18. 投稿原稿には、巻末に綴じ込みの投稿申込み票を添付し、簡易書留にて下記へ送付する。
(送付先) 〒102-0083
東京都千代田区麹町5-3 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

英文

掲載希望：[特別掲載：普通掲載]

種別：[原著：総説：論説：症例報告：その他]

著者名：(6名以上の場合は、別紙に同様の様式でご記入下さい)

フリガナ 氏名	会員番号 [所属機関名]	フリガナ 氏名	会員番号 [所属機関名]
	No. []		No. []
1.		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： 個

図： 個

写真： 枚

[カラー印刷：白黒印刷] 希望

ランニングタイトル：

(和文 25 字以内、英文 40 letters 以内)

キーワード： 和文

(各 5 語以内) 英文

別刷希望数： 部 50 部単位とし、希望部数を記入(別刷は有料です)。

フロッピーの添付→機種名：

ソフト名：

※フロッピー(あるいは他メディア)への文書登録はできるだけ MS-DOS テキストファイル形式で行なってください。

※図・表組のデータは編集変換時にくずれますので、必ずクリアなプリントを添付してください。

投稿者の資格：本誌への投稿は、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)：

TEL：

FAX：

E-mail

編集後記

日本不妊学会雑誌の第46巻1号をお届けいたします。2001年を迎えられ21世紀への新たなステップを踏み出されたことと存じます。21世紀への歩みだしとともに本会誌の果たす役割も大きく変わろうとしております。その一つとして本学会が中心となり Reproduction 関係の学会が協力して International Journal を作り、世界に向けて日本の Reproduction 関係の Report を発進するべく検討が進んでおり、この背景には多くの要因が存在しております。このような状況の中、本誌の果たす役割がどこに移っていくのか不透明な部分がありますので、当面のあいだは英文誌と和文誌のダブル発刊が続くものとおもわれます。その間に和文誌の役割が見付かった時点で今後の対応が決定されるものと考えられます。

このような状況の中で、編集に関するご意見がご座居ましたら事務局の方へお寄せ頂けましたら幸いに存じます。

(編集委員長 遠藤 克)

編集委員

遠藤 克 (委員長)

安部 裕司
石塚 文平
田原 隆三
新村 末雄

安藤 索
押尾 茂
中村 幸雄
三浦 一陽

石川 博通
末岡 浩
永尾 光一

Editorial Board

Tuyoshi ENDO (Editor-in-Chief)

Yuji ABE
Bunpei ISHIZUKA
Ryuzo TAHARA
Sueo NIIMURA

Motomu ANDO
Shigeru OSHIO
Yukio NAKAMURA
Kazukiyo MIURA

Hiromichi ISHIKAWA
Kou SUEOKA
Koichi NAGAO

日本不妊学会雑誌 第46巻第1号

編集発行所 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
E-mail: macc@pop17.odn.ne.jp
郵便振替 00170-3-93207

印刷・製本 株式会社 杏林舎
〒114-0024
東京都北区西ヶ原 3-46-10
TEL: 03-3910-4311
FAX: 03-3949-0230
E-mail: info@kyorin.co.jp

2000年12月25日印刷

2001年1月1日発行