

ISSN 0029-0629 CODEN:NFGZAD

Japanese Journal of Fertility and Sterility

日本不妊学会雑誌

Vol.46 No.2 April 2001

第46巻 第2号 平成13年4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3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の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 陸男（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関学助教授）

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与する局所因子

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 (蔵本ウイ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) 霊長類での顕微授精

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. 一般演題募集要項

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。時代の趨勢を鑑みインターネットを利用したオンラインによる演題応募に御理解のほどをお願いいたします。

1. 申込締切日および申込先

第46回学術講演会ホームページからお申し込み下さい。

応募期間：平成13年5月7日（月）10:00～平成13年6月5日（火）正午

練習期間：平成13年4月10日（火）10:00～平成13年6月5日（火）正午

—第46回学術講演会ホームページ URL—

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

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

申込者のコンピュータ環境が原因で演題の登録に不備をきたしても事務局では一切責任を負えません。練習期間をご利用になりできるだけ早めに確認されることをお奨めいたします。

2. 演題の申込上の注意

1) 演題内容

申込時点の結論が明確であり、かつ未発表のものに限ります。倫理面を十分に考慮した研究について応募して下さい。倫理的な内容も採否の審査対象となります。

2) 演者、共同演者

演者、共同演者ともに申込の時点で本学会会員であることが必要です。連名で申込む場合に注意して下さい。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。なお、筆頭演者を発表演者とします。

3) 会員コード番号について

(1) 会員コード番号（5桁）は必須です。

(2) 申請中の場合

仮会員番号として99999と入力して下さい。

(3) 会員コード番号は日本不妊学会会員名簿を御参照下さい。

4) 所属機関名表示方法

インターネット画面の応募要項に従って下さい。

(1) 機関名(大学, 病医院, 診療所, センター, 研究所など)は, 可能な限り略式に表示し, 機関ごとに表示法を統一して下さい。

(2) 固有の機関名は原則としてそのまま記しますが, 略称が慣用化されている場合は略称を用いて下さい。ただし, 機関名に含まれる都道府県名や都市名は短縮しないで正式名を用いて下さい。

(3) 財団法人, 社会福祉法人, 医療法人などの名称は, それを付記しなければ他の機関と区

別し難い場合などのほかは省略して下さい。

5) 演題分類の選択

発表を希望する主題群（演題分類）を1つ選択して下さい。

演題分類はプログラム作成上の都合で希望項目から変更される場合があります。

演題発表形式は口演発表のみといたします。

6) 演題名

全角 90 文字（半角 180 文字）以内でタイトル（副題を含む）を付けて下さい。

7) 抄録本文について

(1) 抄録本文の欄には抄録本文のみを記入して下さい(演題名, 所属機関名, 演者名等はここに書かず所定の欄に記入して下さい)。

(2) 抄録本文の先頭行は1マスあけずに左詰めで記入して下さい。

(3) 本文は800字以内にまとめて下さい。800字を越えた場合は登録をすることができません。

(4) 漢字, ひらがな, カタカナは1文字として, 数字, 欧単語のアルファベット, 記号, スペースなどは1/2文字として数えます。

(5) 本文中に図表, 写真を入れないで下さい。

(6) 所属機関, 演者名を伏せて選考しますので, 演題あるいは本文中に具体的な機関名, 演者名を記入したり, それらを明らかに想定できるような内容を記述してはなりません。

8) 応募方法

入力画面へのアクセス方法

第46回学術講演会ホームページ <http://funin46.umin.ac.jp/> または <http://square.umin.ac.jp/funin46> から演題登録画面（練習画面）を選択し, 入力画面に進んで下さい。

なお, 主な注意事項は以下の通りです。

(1) 入力画面で申し込んでいただいた内容は送信ごとに登録確認画面を返送しますので, 入力した内容をご確認下さい。この登録確認画面送付をもって受領のご連絡となります。

(2) 登録時には演題受付番号が自動発行されます。またご自分で演題パスワードを設定していただきます。この演題受付番号とご自分で設定した演題パスワードにより応募期間内に限り登録した内容(抄録本文, 未入会の場合の仮会員番号, いろいろなチェック欄等)の修正が何度でも可能です。

(3) セキュリティーの関係から演題受付番号とご自分で設定した演題パスワードの問い合わせには応じられませんのでご注意下さい。

(4) 登録時にお送りする登録確認画面には演題受付番号とご自分で設定した演題パスワードが掲載されていますので, プリントアウトし, 紛失しないようにご注意下さい。

(5) 事務局では一切原稿訂正の対応はできませんので充分にご確認ください。

(6) 特殊文字を使用する際には, 使用方法をよくご確認ください。

9) 演題採否と通知

(1) 一般演題の採否は会長に御一任下さい。

(2) 演題の採否結果は演題受付番号を, 第46回学術講演会ホームページを通じて発表します。

(3) 発表日時・会場は, 抄録号, 第46回学術講演会ホームページでご覧下さい。

10) 特殊文字について

●上付き文字が必要なときは、文字の前後を〈SUP〉と〈/SUP〉で囲って下さい。

(例) Na 〈SUP〉 + 〈/SUP〉 は Na⁺ となります。

$A^{12} \rightarrow A \langle \text{SUP} \rangle 12 \langle / \text{SUP} \rangle$

$A^{+-} \rightarrow A \langle \text{SUP} \rangle +- \langle / \text{SUP} \rangle$

$A^{ab} \rightarrow A \langle \text{SUP} \rangle ab \langle / \text{SUP} \rangle$

●下付文字が必要なときは、文字の前後を〈SUB〉と〈/SUB〉で囲って下さい。

(例) H 〈SUB〉 2 〈/SUB〉 O は H₂O となります。

$A_{12} \rightarrow A \langle \text{SUB} \rangle 12 \langle / \text{SUB} \rangle$

$A_{+-} \rightarrow A \langle \text{SUB} \rangle +- \langle / \text{SUB} \rangle$

$A_{ab} \rightarrow A \langle \text{SUB} \rangle ab \langle / \text{SUB} \rangle$

●イタリック文字が必要なときは、文字の前後を〈I〉と〈/I〉で囲って下さい。

(例) 〈I〉 c-fos 〈/I〉 は *c-fos* となります。

●太文字が必要なときは、文字の前後を〈B〉と〈/B〉で囲って下さい。

(例) 〈B〉 太文字 〈/B〉 は 太文字 となります。

●アンダーラインが必要なときは、文字の前後を〈U〉と〈/U〉で囲って下さい。

(例) 〈U〉 アンダーライン 〈/U〉 は アンダーライン となります。

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

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。

VI. 宿泊案内・宿泊申込書は本号巻末に掲載してあります。

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4月1日

第46回日本不妊学会
会長 中村 幸雄

支 部 評 議 員

下記 435 名の会員の皆様に、平成 13 年 1 月 1 日より平成 14 年 12 月 31 日まで支部評議員を委嘱いたします。本紙面をもって委嘱状といたします。

北海道支部 支部評議員 (39 名)

| | | | |
|------|------|-------|-------|
| 東口篤司 | 石島芳郎 | 伊藤直樹 | 伊藤雅夫 |
| 遠藤俊明 | 岡部泰樹 | 片桐成二 | 上口勇次郎 |
| 神谷博文 | 工藤正尊 | 工藤隆一 | 小柳知彦 |
| 小山久一 | 櫻木範明 | 佐藤邦忠 | 澤向豊 |
| 千石一雄 | 高岡康男 | 高橋芳幸 | 田熊直之 |
| 武田哲男 | 立木仁 | 立野裕幸 | 田中昭一 |
| 玉手健一 | 丹田均 | 野々村克也 | 芳賀宏光 |
| 藤井美穂 | 松崎重範 | 真名瀬賢吾 | 三國雅人 |
| 宮澤清志 | 森好政 | 山下幸紀 | 山本 |
| 吉田俊明 | 吉田博 | 和田真一郎 | |

東北支部 支部評議員 (32 名)

| | | | |
|-------|-------|-------|------|
| 市川文隆 | 梅津元昭 | 太田博孝 | 岡村州博 |
| 小田隆晴 | 利部輝雄 | 鍵谷昭文 | 片寄治男 |
| 金杉浩 | 川越慎之介 | 木村正一 | 木村行雄 |
| 倉智博久 | 児玉英也 | 斉藤一晃 | 斉藤隆和 |
| 笹川五十次 | 佐藤和宏 | 鈴木唯一 | 東藤久俊 |
| 永井宏夫 | 中田瑛浩 | 中谷沢之弘 | 藤井田策 |
| 前原郁陽 | 光川史郎 | 矢吉 | 柳和薫 |
| 吉崎 | 吉田威 | 吉松宣 | 和田裕一 |

関東支部 支部評議員 (139 名)

| | | | |
|-------|-------|-------|-------|
| 合阪幸三 | 味香勝也 | 麻生武志 | 安池達知子 |
| 安部裕司 | 荒木重雄 | 荒井延久 | 池内川隆博 |
| 池本庸肇 | 井坂橋一晃 | 石井川智正 | 石伊茨木 |
| 石田元博 | 稲葉憲之 | 井上正次 | 茨上山高 |
| 伊岩崎皓 | 上野精隆 | 植村田亨 | 上大岡 |
| 内島豊和 | 梅岡詔子 | 太岡野 | 岡小片 |
| 大冲永津夫 | 冲永莊高 | 荻貝 | 小片山 |
| 長田尚夫 | 小田高 | | 山 |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------|---------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------|--------------------------|
| 金木久小近佐始杉関高田田土中西畑樋古正水宮森安吉 | 山下保山藤賀藤関村谷山島辺橋野田口畑岡沼崎水田 | 喜英基芳正孝吉和宗雅政忠一眞正俊泰哲英豊宏洸 | 一親武昭仁彦道生男英臣晴夫慶男入夫彦彦薰樹彦之彦淳 | 兼木久保小斉坂佐白鈴多竹辰田中野島平古松三村森矢吉 | 子下田寺藤本藤須木賀内巳村居山口原屋島橋井田野田 | 智三郎行一樹昭裕悦吉彌一貴生一美亮樹英浩樹郎人哲郎 | 裕俊重眞秀芳和啓理久賢光孝和史清正直一峰謙 | 河久黒小斉佐々澤神須高竹田徳永新野林広古松峯目柳山我 | 村慈島林藤木村野藤木田中江尾村澤川谷田岸崎沼中妻 | 信直淳善良正寛耕一憲章光末志和健兆英 | 夫昭子宗博茂勝雄人郎省一彦一雄朗彦信一史敬登恣寿克 | 木楠公小斎佐塩末関高田田柄永西野原福正松箕持矢吉 | 下原平宮藤藤塚岡波島中木田島嶽谷井本田丸崎沢 | 俊浩昭郁幸守眞佐忠明一正幸惠基英文恒 | 彦二男顕裕夫彦浩利治惇夫人郎博正啓子之重滋雄忠緑 |
|--------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------|---------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------|--------------------------|

中部支部 支部評議員 (24名)

| | | | | | | | | | | | | | |
|-----------|------------|-------|-------|-----|---|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 浅井光興朝比奈俊彦 | 宇田川康博大金菅堀山 | 金倉洋昌公 | 々々木昌公 | 藤田月 | 望 | 生小郡鈴正余 | 田倉木橋語 | 克啓健正鉄郁 | 夫二郎利夫夫 | 今小小花箕吉 | 井谷西田浦川 | 篤俊郁征博文 | 志一生治之彦 |
|-----------|------------|-------|-------|-----|---|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|

北陸支部 支部評議員 (20名)

| | | | | | | | | | | | | |
|---------|--------|----|----|---|------|------|-----|-------|------|------|------|------|
| 赤祖一知新居隆 | 打林忠雄修滋 | 藤藤 | 加藤 | 斎 | 荒岡越千 | 木田田鳥 | 克謙哲 | 已一郎潔也 | 岩風小原 | 崎間辻田 | 雅泰文丈 | 志藏和典 |
|---------|--------|----|----|---|------|------|-----|-------|------|------|------|------|

牧野田 知 村上弘一 山崎洋 山本宝

関西支部 支部評議員 (94名)

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------|---------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|--------------------|-------------------------|
| 足井梅岡荻片亀木古眞杉竹塚西羽樋藤堀松三森矢山渡 | 高上咲田山村並内本川間澤井本宅川野辺 | 善卓直伸幸和俊将俊秀克吉壽正泰正樹晋栄 | 彦也彦俊雄明隆雄康吾洋雄美伸稔宏人樹修史肇里吾三 | 石岩歐岡奥勝岸越近繁泰竹辻野々村岡野越本崎本崎元辺 | 田浅田岡本田藤田井中村岡野越本崎本崎元辺 | 章彦東弘司治利伸幸実造章幸生幸恒司彦也典晴行雄彦 | 義政喜代洋武光宣俊芳光孝正祐順和義則貴浩 | 市植大岡奥加北後佐七高竹富野長福藤本三六安山矢 | 川木谷田野藤村藤伯里倉林山村川田原庄橋車田下本 | 文徹裕征史雅和泰賢浩達紘昭愛英洋光勝正希 | 雄実郎作博郎哉荣弘正二一大一子作浩雄治英彦紀夫 | 稻後大小笕假北小佐島高玉中野濱藤細松三村安山脇 | 葉山橋川野脇森治崎田山村田井井宮宅田本田本 | 俊尚一善隆慎文博尋貴哲和信美清雄亮雅 | 夫久友修行司城二隆基登通博哉孝吾彦美侃二二保博 |
|--------------------------|--------------------|---------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|--------------------|-------------------------|

中国四国支部 支部評議員 (43名)

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|----------|--------------|------------|----------|----------|------------|------------|------------|----------|------------|------------|------------|----------|------------|
| 東伊上鎌栗高永中堀森 | 藤田岡橋井村内岡 | 敬次郎春憲晴子壽敦彦孝均 | 井稲碓川己瀧中秦見森 | 川井田斐原尾尾岡 | 幹清秀博敏利保政 | 夫徹亞彌豊史彦之幸明 | 池今越工河内中原宮山 | 谷橋智藤野藤塚田川野 | 東経尚一克幹征修 | 彦任博文郎輔也省男司 | 伊上香公高奈中福宮山 | 藤田川文橋賀原井崎本 | 武一裕健太敬康泰 | 久之征巳郎脩満介二久 |
|------------|----------|--------------|------------|----------|----------|------------|------------|------------|----------|------------|------------|------------|----------|------------|

横山雅好 吉田信隆 吉本忠弘

九州支部 支部評議員 (44名)

| | | | |
|--------|-------|--------|--------|
| 伊是名 博之 | 市丸 俊三 | 岩永 成晃 | 宇津宮 隆史 |
| 沖 利通 | 長田 幸夫 | 尾上 敏一 | 片桐 英彦 |
| 河野 哲郎 | 川野 秀昭 | 小池 弘幸 | 佐久本 哲郎 |
| 佐野 正敏 | 鮫島 哲郎 | 角 沖久夫 | 田川 博之 |
| 竹内 一浩 | 田中 温平 | 田中 信幸 | 津田 知輝 |
| 戸枝 通保 | 友成 康彦 | 中川 昌之 | 詠田 由美 |
| 中野 仁雄 | 中村 正裕 | 中村 雅弘 | 榑原 久司 |
| 納富 廉正 | 野崎 雅裕 | 野田 進士 | 東 政弘 |
| 肥後 貴史 | 姫野 隆一 | 藤 下 晃 | 布 施正樹 |
| 堀 大藏 | 増崎 英明 | 松 浦 平一 | 松 尾 勇夫 |
| 宮内 志郎 | 森 明人 | 山 元 慎一 | 和 気 徳夫 |

第46巻1号掲載の定款評議員任期につきまして、下記の通り誤りがございました。ここにお詫びならびに訂正させていただきます。

(誤) 平成13年1月1日より平成13年12月31日まで

↓

(正) 平成13年1月1日より平成14年12月31日まで

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 東京都千代田区麴町 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

倫理委員会議事録の開示について

本学会倫理委員会は、生殖医学・医療の急速な進歩・発展に伴って生ずる倫理的諸問題について、これまで「新しい生殖医療技術のガイドライン」、「倫理委員会報告」あるいは「会告」として見解や指針を公表してきた。

今後さらに広く議論の輪を広げることを目標として、見解や指針に至らない中間段階の審議内容を理事会の了承を得て会員に広く開示することを決定した。このため新たに倫理委員会議事録を随時本学会誌上に掲載することとした。

平成 12 年 11 月 22 日
(社)日本不妊学会・倫理委員会
委員長 永 田 行 博

倫理委員会議事録

平成 12 年 11 月 22 日
日本不妊学会倫理委員会委員長 永 田 行 博

最近ヒト未成熟卵子（ほぼすべてがグラーフ卵胞卵子と考えられる）の体外培養によって得られた卵子への顕微受精の臨床応用が国内外で散見され、妊娠例も報告されている。

このことに関して、田中 温会員（北九州市）より、1995年10月26日付けの倫理委員会報告「ヒト円形精子細胞を用いた授精法について」で述べられたヒト円形精子細胞（すでに第二成熟分裂の終了している）の「臨床応用は慎重であることを希望する」とした内容と整合性に欠けるのではないかととの質問があった。さらに、(1) ヒト円形精子細胞を用いた臨床実験と(2) 体外培養後の後期精子細胞を用いた顕微受精の臨床応用を認めてほしいとの要望が寄せられた。

本委員会はその質問内容および要望を整理して、次の3点について検討したので、その議事録を開示する。

1. ヒト未成熟卵子（グラーフ卵胞卵子）の臨床応用に対する考え方
2. 倫理委員会報告「ヒト円形精子細胞を用いた授精法について」の見直しについて
3. 要望の取扱いについて
 - (1) ヒト円形精子細胞を用いた臨床実験について
 - (2) 体外培養後の後期精子細胞を用いた顕微受精の臨床応用について

1. ヒト未成熟卵子（グラーフ卵胞卵子）の臨床応用に対する考え方

(1) 配偶子形成過程からみて、未成熟卵子は未成熟精子とは全く別であると考えてよいか、あるいは同一と考えることができるか

畜産領域では未成熟卵子の体外培養によって産仔を得ることにすでに成功している。

しかし未成熟精子（円形精子細胞）の体外成熟培養には動物実験でもまだ成功していない。始原生殖細胞から最終的に卵子や精子に成熟する過程は形態的にも生化学的にも両者に大きな差があるこ

とはよく知られており、単に減数分裂進行のみを基準として、両配偶子を同一視することには無理があるといえる。

(2) 未成熟卵子の体外成熟培養は染色体異常などの発生を助長しないか

未成熟卵子の体外成熟培養に伴って紡錘体や染色体の異常が起こる可能性は指摘されている。従って、ヒトへの応用においてもその認識を持つことが重要である。

(3) 未成熟卵子の体外培養によって得られた卵子の顕微授精には問題はないか

ヒト未成熟卵子の体外培養によって得られた卵子を体外受精に用いることは、(2)に述べたような理由から十分な説明と同意によって行うことが肝要である。しかし、同一手法によって得られた卵子の顕微授精を、体外受精の場合ととくに区別して考える必要はない。

以上の議論を踏まえて、未成熟卵子（グラーフ卵胞卵子）の体外培養によって得られた卵子の顕微授精に対しては、とくに指針などの会告を制定する必要はない、と結論した。しかし、本法は臨床研究の段階にある生殖補助技術と位置づけることができる。従って、このような認識のもとに、十分な説明と同意を得て実施することを要望する。

2. 倫理委員会報告「ヒト円形精子細胞を用いた授精法について」の見直しについて

公表後5年を経過した倫理委員会報告「ヒト円形精子細胞を用いた授精法について」の見直しについて、その後の研究の進捗状況から検討した。

その結果、円形精子細胞の体外培養法は未だ確立されておらず、またヒトについての基礎的研究もその後5年間で上記委員会報告の中で指摘された卵活性化法などの問題点を解決するほどの成果を挙げるまでには至っていないと考えられた。従って、1995年倫理委員会報告「ヒト円形精子細胞を用いた授精法について」を見直す段階には現在はまだ至っていないと結論した。

3. 要望の取扱いについて

(1) ヒト円形精子細胞を用いた臨床実験（臨床前研究）について

成熟停止（maturation arrest）の原因が円形精子細胞自身に由来するものか、他に原因があるかはまだ不明である。しかし、ヒト円形精子細胞を用いた臨床前研究によって有効な卵子活性化の方法、胚発生能、あるいは染色異常の発生などについて検討を行うことは精子の研究推進のためには意義あることといえる。

本委員会は、①卵子提供者へその意義を十分に説明し、同意を文書により得ること、②得られた受精卵を母体へ移植しないこと、および③得られた成果を文書で報告することを条件として、臨床前研究（preclinical study）としてこれを行うことを認めることとする。

(2) 体外培養後の後期精子細胞を用いた顕微授精の臨床応用について

円形精子細胞の体外培養後の後期精子細胞をもちいた顕微授精の臨床応用の要望に対しては、2に述べた「未成熟精子の体外培養法は未だ確立されていない」という理由からまだ臨床応用を検討する時期にはないといえる。

しかし、この要望に関しては、研究の推移に慎重に注意しながら、今後の検討課題とすることとする。

日本不妊学会雑誌

第46巻 第2号

平成13年4月1日

—目 次—

原 著

- 牛卵母細胞の体外成熟, 受精と発生に係るアラニン, グリシンと成長ホルモンとの関係
.....青野真紀・董 雅絹・音井威重・鈴木達行..... 1
- 特発性無精子症における変異型 LH- β の頻度, —正常例との比較— (英文)
.....豊嶋豊照..... 7
- Transvaginal Hydrolaparoscopy による骨盤腔内の評価, —腹腔鏡所見と比較して—
.....武内裕之・佐藤雄一・中野義宏・桜井明弘・小堀宏之・三橋直樹..... 13
- 地方部会講演抄録 19

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 46, No. 2, 2001)

Japanese Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Originals

- The Relationship between Alanin, Glycin and Growth Hormone for *In Vitro*
Maturation, Fertilization and Culture of Bovine Oocytes
.....*M. Aono, D Ya Juan, T. Otoi & T. Suzuki*..... 1
- Frequency of Luteinizing Hormone-beta Gene Variants is Increased in
Japanese Patients with Idiopathic Azoospermia
.....*T. Toyoshima*..... 7
- Transvaginal Hydrolaparoscopy for Pelvic Evaluation of Infertility Women
—The Compared Study with Laparoscopy—
.....*H. Takeuchi, Y. Sato, Y. Nakano, A. Sakurai,*
H. Kobori & N. Mitsuhashi..... 13

牛卵母細胞の体外成熟，受精と発生に係るアラニン， グリシンと成長ホルモンとの関係

The Relationship between Alanin, Glycin and Growth Hormone for *In Vitro*
Maturation, Fertilization and Culture of Bovine Oocytes

青野 真紀
Maki AONO

董 雅 絹
Dong Ya JUAN
鈴木 達 行

音井 威 重
Takeshige OTOI

Tatsuyuki SUZUKI

山口大学農学部獣医学科家畜臨床繁殖学研究室
Laboratory of Theriogenology, Department of Veterinary Science,
Yamaguchi University, Yamaguchi 753-8515, Japan

本研究はアミノ酸のアラニンとグリシンが牛卵母細胞の体外成熟，受精，発生培養にどのような効果を示すか組織培養液（表1）を基礎培地として成長ホルモン（Growth hormone：GH）の濃度別（0, 50, 100, 200ng/ml）に検討した。その結果アラニンとグリシン無添加培地ではMII期への発生割合と受精後7日目の胚盤胞への発育率はGHの200ng/ml添加区が無添加区に比べて有意（ $P < 0.05$ ）に高く，GHの高濃度がポジティブに働いた。これに対してアラニンとグリシン添加培地では各試験区とも受精後48時間後の分割率に差異が認められなかったが，受精後7日目の胚盤胞と拡張胚盤胞への発育率はGHの0.50ng/ml添加区が100, 200ng/ml添加区に比べて有意（ $P < 0.05$ ）に高く，アラニンとグリシンがポジティブに，GHの高濃度がネガティブに働いた。

キーワード：牛卵母細胞，体外受精，アラニン&グリシン，成長ホルモン，胚盤胞

（日不妊会誌 46:105-109 2001）

牛卵母細胞の *in vitro* における成熟，発生培養では，組織培養液のTCM-199（Eagle's S塩）¹⁾，Menezo's B2²⁾ やSOF（合成卵管液）³⁾ などが合成培地として用いられている。その組成には各種アミノ酸，プリン，ヌクレオチドなどを含み，8～16細胞ブロックを克服するために卵管上皮細胞や卵丘細胞などの体細胞が供培養として用いられる。これは供培養に用いる組織中に様々な胚への発育因子が含まれている⁴⁾ ためである。更にこれらの発育因子を補強するためにインシュリン発育因子，上皮性増殖因子， β 型トランスフォーミング増殖因子などを添加することによってmRNAの合成促進，細胞分裂の増加を誘起し，胚盤胞率の向上が図ら

れている⁵⁾。しかし，これらの発育因子を合成培地中に添加して胚の発育効果を高める方法は体内での発育環境とはかなり異質と思われる。そこで本研究では牛体外受精胚の発育環境をできるだけ体内の卵管や子宮環境に近づけるために，牛の卵管と子宮乳中で特に高濃度に含まれているアラニンとグリシン^{6,7)} を対象に体外成熟，受精，発生の過程をGHの濃度別に調べた。

材料および方法

培養気相条件の設定：本研究では体外成熟，受精，発生培養の全行程を既報⁸⁾の陰圧式炭酸ガス培養器を用いて行った。既報に準じて，この容器内に小型シャー

レ (35×20mm, FALCON 社製) を置き炭酸ガスパウダー (パロス発泡顆粒-s, 堀井薬品工業製; 1g 中に炭酸水素ナトリウム 460mg, 酒石酸 420mg, シリコン樹脂 10mg を含む) の 0.35g を 5ml の蒸留水に溶解して炭酸ガスを発生させた。また同時に容器内の空気を陰圧弁からアスピレーターで吸引除去して容器内を -300mmHg の陰圧気相条件下とした。次いで庫内の温度を 38.5°C に保つ金属製の培養器内に納めて体外受精の全行程を行った。なお炭酸ガスパウダーは 48 時間毎に入れ替えた。

牛卵巣, 卵母細胞の採取: 食肉処理場で得られたホルスタイン種牛卵巣を滅菌した生理食塩水に浸し 34~35°C に保温して研究室に持ち帰った。卵巣を抗生物質 (ストレプトマイシン: 0.2g/ml, ペニシリン: 100 IU/ml) を添加した滅菌生理食塩水で 2~3 回洗浄後, 滅菌した紙タオル上に取り出し, 18G 針付き 5ml 容量のシリンジを用いてエンブリオテック液 (日本全薬工業製) により 2~5mm 大の小卵胞から卵母細胞を吸引採取した。採取した卵母細胞を含む卵胞液は 10ml 容量のセラピッツ (小野薬品工業製) 中に集めて 10 分間静置し, 上清を除去した後に 50µg/ml ゲンタマイシンを含むエンブリオテック液で洗浄し, 格子を描いた 90×20mm シャーレ (ニッスイ工業製) に移し, 実体顕微鏡下で卵母細胞を採取した。卵母細胞は卵丘細胞が付着しており細胞質が形態的に均一で良好なもののみを選別して実験に供した。

体外成熟 (In Vitro Maturation; IVM): アラニンとグリシンの添加, 無添加別組織培養液を基礎培地とし, この液に 5% の不活化過剰排卵処理牛血清 (Superovulated Cow Serum; SCS)⁹⁾ + 0.01mg/ml 卵巣刺激ホルモン (Follicle Stimulating Hormone; FSH, アントリン・10, デンカ製薬製) + 50µg/ml ゲンタマイシンを添加し, これに成長ホルモン (Sigma, Louis, USA) を 0, 50, 100, 200ng/ml の割合で添加して用いた。選択した卵母細胞はこれらの成熟培養液でそれぞれ洗浄後, 培養液の各々 2ml を含む小型シャーレ (35×5mm, FALCON 社製) 内に移し 38.5°C, 2%CO₂, 14% 酸素の気相条件下で 22 時間培養した。成熟後一部の卵母細胞はカルノア液で固定後, 1% アセトオルセイン染色により核の成熟を確認した (表 1: 組織培養液の組成)。体外受精 (In Vitro Fertilization; IVF): アラニンとグリシンの添加, 無添加別組織培養液を基礎培地とし, これに 2.5mM/ml カフェイン + 10µg/ml ヘパリン + 50µg/ml ゲンタマイシンを添加して用いた。液体窒素

表 1 供試組織培養液 100ml 中の組成とアラニンとグリシンの添加

| |
|---|
| NaCl: 0.6903g |
| KCL: 0.0231g |
| Hemicalcium Lactate: 0.0546g |
| NaHCO ₃ : 0.2201g |
| Sodium Pyruvate: 0.0044g |
| L-Glutamine: 0.0146g |
| Glucose: 0.0018g |
| Phenol Red: 0.001g |
| MEM NEAA (Non essential amino acid) (100 ×) 1ml |
| MEM AA (Essential amino acid) (50 ×) 2ml |
| Taurine: 0.25g |
| + |
| Alanine: 0.00455g |
| Glycine: 0.00395g |
| in 100ml |

中に保存したキメラ牛精液¹⁰⁾を 30~32°C の温水で解凍後, 5mM/ml カフェイン + 10µg/ml ヘパリン + 50µg/ml ゲンタマイシンを含む液に入れて, 1800×rpm, 5 分間, 遠心分離により洗浄した。次いで 0.6% 牛血清アルブミン (Bovine Serum Albumin; BSA) + 10µg/ml ヘパリン + 50µg/ml ゲンタマイシンを含む液で等量希釈し, 精子濃度が 2×10⁶/ml になるように調整した。作成した精子調節液は 35mm シャーレ内に 100µl のドロップとし, 上面をミネラルオイルで覆った。成熟を終えた卵母細胞を 0.3% BSA + 10µg/ml ヘパリン + 50µg/ml ゲンタマイシンを含む液で洗浄後, 各精子ドロップにつき約 10 個を入れて, 38.5°C, 5 時間, 陰圧式炭酸ガス培養器の気相条件下で媒精を行った。

体外培養 (In Vitro Culture; IVC): アラニンとグリシンの添加, 無添加別組織培養液を基礎培地とし 5% SCS + 5µg/ml インスリン + 50µg/ml ゲンタマイシン + GH の 0, 50, 100, 200ng/ml を添加して用いた。体外受精を終えた卵母細胞はそれぞれの体外培養液で洗浄して精子を除去後, 同液を含む 4-well multidish (NULUCLON, Denmark) の各 well, 500µl 中に 20~30 個の卵母細胞を入れて 38.5°C で 8 日間, 陰圧式炭酸ガス培養器の気相条件下で培養を行った。

グルコースの添加: 体外受精後 48 時間以降にアラニンとグリシン添加, 無添加別組織培養液を基礎培地に 5%SCS + 5µg/ml インスリン + 50µg/ml ゲンタマイシン + GH の 0, 50, 100, 200ng/ml 別にそれぞれ 5mM/ml グルコースを添加して用いた。

顆粒層細胞からの胚の遊離：発生培養の 48 時間後、ピペッティングによりシャーレ底面に付着した卵丘細胞層より胚を遊離した。この時点で卵丘細胞層はシャーレ底面で単層を形成しており、遊離した胚は更にこの単層上で継続培養した。

胚発育の観察：各試験区とも受精の 48 時間後に分割率、7 日目に胚盤胞、拡張胚盤胞率を調べた。

統計処理：得られた胚の成績は StatView 4.02 (Macintosh Software：Abacus Concepts 社製)を用いて分析を行った。分析には 2×2 分割表を用い、カイニ乗検定を行った。また、期待値が 5 以下のセルがある場合には Fisher の直接確率法で検定を行った。

結果

成熟率：表 2 に示したようにアラニンとグリシン無添加培地では MII 期卵への成熟割合は GH の 200ng/

ml 添加区が無添加区に比べて有意 (P<0.05) に高かったが、アラニンとグリシン添加培地では各試験区に差が認められなかった。

分割率：表 3 に示したようにアラニンとグリシン添加、無添加培地とも各試験区に差が認められなかった。

胚盤胞率：表 3 に示したようにアラニンとグリシン無添加培地では GH の 200ng/ml 添加区が無添加区に比べて有意 (P<0.05) に高かったが、アラニンとグリシン添加培地では GH の 0, 50ng/ml 添加区が 100, 200 ng/ml 添加区に比べて有意 (P<0.05) に高かった。

拡張胚盤胞率：表 3 に示したようにアラニンとグリシン無添加培地では GH の 200ng/ml 添加区のみ拡張胚盤胞がみられ、アラニンとグリシン添加培地では GH の 0, 50ng/ml 添加区が 100, 200ng/ml 添加区に比べて有意 (P<0.05) に高かった。

表 2 アラニンとグリシン添加有無別組織培養液に添加した成長ホルモンの濃度別、成熟培養 21 時間後の卵母細胞の核の成熟

| アラニン & グリシン | GH (ng/ml) | 供試卵母細胞数 | 減数分裂ステージ | | | | | 変性 |
|-------------|------------|---------|----------|----|----|-----|----------------------|----|
| | | | GV | DK | MI | AT* | II | |
| 無添加 | 0 | 46 | 0 | 1 | 8 | 8 | 27 (59) ^a | 2 |
| | 50 | 44 | 0 | 0 | 8 | 3 | 32 (73) | 1 |
| | 100 | 50 | 0 | 0 | 10 | 0 | 38 (76) | 2 |
| | 200 | 46 | 0 | 1 | 4 | 0 | 39 (85) ^b | 2 |
| 添加 | 0 | 50 | 0 | 0 | 8 | 1 | 43 (74) | 4 |
| | 50 | 49 | 0 | 0 | 10 | 1 | 35 (76) | 3 |
| | 100 | 47 | 0 | 0 | 7 | 7 | 31 (66) | 2 |
| | 200 | 43 | 0 | 0 | 8 | 6 | 28 (65) | 1 |

^{a-b}; p < 0.05 *AT; アナフェース & テロフェース

表 3 アラニンとグリシン添加有無別組織培養液への GH 添加濃度が牛体外受精胚の分割、発育に及ぼす影響

| アラニン & グリシン | GH (ng/ml) | 供試卵数 * (n = 15 回) | 不受精卵 (%) | 分割卵 (%) | 胚盤胞 (%) | | | |
|-------------|------------|-------------------|-------------------------|------------|------------|------------|-------------------------|-------------------------|
| | | | | | 初期胚盤胞 | 胚盤胞 | 拡張胚盤胞 | 合計 |
| 無添加 | 0 | 654 | 36.5 ± 0.2 ^a | 63.5 ± 2.0 | 7.7 ± 1.6 | 9.5 ± 1.7 | — | 17.3 ± 1.3 ^a |
| | 50 | 634 | 40.3 ± 0.5 ^a | 59.7 ± 4.9 | 10.3 ± 1.6 | 11.2 ± 3.5 | — | 21.5 ± 3.0 |
| | 100 | 651 | 21.1 ± 0.2 ^b | 78.9 ± 1.8 | 13.4 ± 6.3 | 7.9 ± 2.9 | — | 21.3 ± 2.7 |
| | 200 | 653 | 17.5 ± 0.2 ^b | 82.5 ± 1.5 | 7.9 ± 3.5 | 18.0 ± 1.2 | 1.4 ± 0.8 | 27.3 ± 3.7 ^b |
| 添加 | 0 | 439 | 22.3 ± 5.0 | 75.1 ± 5.3 | 6.6 ± 2.1 | 18.0 ± 8.7 | 10.8 ± 6.3 ^a | 35.2 ± 8.6 ^a |
| | 50 | 502 | 26.5 ± 8.5 | 69.0 ± 8.5 | 12.8 ± 5.6 | 16.8 ± 4.1 | 10.9 ± 6.5 ^a | 40.4 ± 5.1 ^a |
| | 100 | 643 | 21.4 ± 3.9 | 72.8 ± 4.2 | 6.5 ± 2.2 | 10.7 ± 2.1 | 5.2 ± 2.9 ^b | 22.4 ± 3.5 ^b |
| | 200 | 533 | 21.7 ± 3.7 | 71.8 ± 4.6 | 4.2 ± 1.5 | 11.3 ± 3.1 | 4.6 ± 1.6 ^b | 15.5 ± 4.1 ^b |

^{a-b}; p < 0.05 *実験は 15 回繰り返して行った

考 察

本研究で示したようにアラニンとグリシン無添加培地ではGHの200ng/ml添加区が無添加区に比べてMII期への成熟や移植可能胚への発生率が有意 ($P < 0.05$)に高かった。このことはGHの培養液への添加がラット卵母細胞¹¹⁾、豚卵母細胞¹²⁾と牛卵母細胞¹³⁾において核の成熟を促すことや卵丘細胞間のサイクリックアデノシン一リン酸濃度の調整により卵母細胞の成熟や代謝に影響を及ぼしているという報告¹⁴⁾から支持される。このように培養液中でのアラニンとグリシンの欠落条件では添加したGH, EGFやIGFが卵母細胞の減数分裂を助長し、卵丘細胞複合体の存在下において、成熟の程度がGHの添加濃度によってその後の胚の発生に大きく関与している¹⁵⁾ことが伺われた。一方アラニンとグリシン添加培地を用いた実験ではMII期への発生割合は各試験区において差がみられなかったが、GHの無添加区または低濃度の50ng/ml添加区が濃度の高い100または200ng/ml添加区よりも受精後7日目における胚盤胞並びに拡張胚盤胞への発育割合が有意 ($P < 0.05$)に高かった。このことは本実験に用いた組織培養液へのアミノ酸のアラニンとグリシンの添加はGHが存在しなくても卵母細胞の成熟、受精後の分割、発育を支持したことを示唆している。アラニンは培養液中に添加したタウリンの有効性を助長すること、グリシンは卵管液の無機イオン濃度を高めて胚盤胞への発育を増加させる作用のあることが報告されている¹⁶⁾。実際に哺乳類における卵管と子宮乳内に含まれるアミノ酸のうちアラニン、グリシンとタウリンは血清中に含まれる量に比べて著しく高い^{6,7)}。MooreとBondioli¹⁷⁾は卵管と子宮乳内に含まれると同じ程度のアラニンとグリシンを培養液中に添加して牛胚を培養したところ胚盤胞への発育が向上したと述べている。また培養液へのグリシンの添加は豚の2~4細胞期から胚盤胞への発育が4倍に増加したことが実験的に示されている。このことから推察すると、アラニンとグリシンの存在下における高濃度のGHの添加は、これらのアミノ酸の細胞への働きを阻害しているように思われる。GHは細胞におけるグルコース、脂肪や蛋白質の代謝をコントロールしている¹⁸⁾が、過度の投与は微妙な細胞間のエネルギー代謝を狂わすことになりかねない。このことが受精後の胚盤胞率への差となって現れてきたのは明らかである。

LiuとFoote¹⁹⁾は哺乳類における卵管内の酸素濃度

は6~8%の範囲であるが、酸素毒性の除去的役割を担うタウリンを培養液内へ添加することによって20%酸素気相に改善が図られたと述べている。本研究で用いた炭酸ガス培養器内の酸素濃度は陰圧により14%に維持されたが、組織培養液中にタウリンを添加したことでアラニンがその有効性を高め、低減した酸素濃度と陰圧とによって胚発生に有効な培養条件を備えさせたものと考えられる。更に体外成熟—受精—発生の各行程を同一培養液で処理した本法は従来用いられてきたTCM199-BO-TCM199を用いた処理法に比べて簡易であり、実用的であった。これは組織培養液にアラニンとグリシンを添加して用いた体外受精で40%を超える胚盤胞が得られたことから支持される。

文 献

- 1) Morgan JF, Morton HJ, Parker RC (1950) Initial studies on a synthetic medium. Proc Soc Exp Biol Med 73: 1-8
- 2) Farin CE, Hasler JF, Martus NS, et al. (1997) A comparison menezes's B2 and tissue culture medium-199 for *in vitro* production of bovine blastocysts. Theriogenology 48: 699-709
- 3) Tervit HR, Whittingham DG, Rowson LEA (1972) Successful culture *in vitro* of sheep and cattle ova. J Reprod Fertil 30: 493-497
- 4) Caird LR, Jr. (1989) Co-culture of domestic animal embryos. Theriogenology 31: 105-114
- 5) Watson AJ, Hogan A, Hahnel A, et al. (1992) Expression of growth factor ligand and receptor genes in the preimplantation bovine embryo. Mol Reprod Dev 31: 77-85
- 6) Moore K, Bondioli KR (1993) Glycine and alanine supplementation of culture medium enhances development of *in vitro* matured and fertilized cattle embryos. Biol Reprod 48: 833-840
- 7) Nancarrow CD, Hill JL, Cornell PJ (1992) Amino acid secretion by the ovine oviduct. Proc Aust Soc Reprod Biol 24: 71 abstr
- 8) Suzuki T, Sumantri C, Khan NHA, et al. (1998) Development of a simple portable carbon dioxide incubator for production of bovine IVF embryos. Anim Reprod Sci 54: 149-157
- 9) Suzuki T, Shimohira I (1985) Cultivation *in vitro* of bovine embryos in a medium supplement with bovine serum collected 7~8 days after superovulation. Jpn J Anim Reprod 31: 1-4
- 10) Sumantri C, Boediono A, Ooe M, et al. (1997) Fertility of sperm from a tetraparental chimeric bull. Anim Reprod Sci 46: 35-45

- 11) Apa R, Lanzone A, Miceli F et al. (1994) Growth hormone induction of rat granulosa cell tissue prasinogen activator expression and progesterone synthesis. *Med Cell Endocrinol* 99 : 153-159
- 12) Hagen DR, Graboski RA (1990) Effects of porcine pituitary growth hormone (pGH) on cytoplasmic maturation of porcine oocytes *in vitro*. *J Anim Sci* 68 : 446 abstr
- 13) Izadyer F, Colenbrander B, Berers MM (1996) In vitro maturation of bovine oocytes in the presence of growth hormone accelerates nuclear maturation and promotes subsequent embryonic development. *Mol Reprod Dev* 45 : 372-377
- 14) Katz E, Ricciarelli E, Adashi EY (1993) The potential relevance of growth hormone to female reproduction physiology and pathophysiology. *Fertil Steril* 59 : 8-34
- 15) Lorenzo PL, Illera MJ, Illera M (1995) Role of EGF, IGF-1, Sera and cumulus cells on maturation *in vitro* of bovine oocytes. *Theriogenology* 44 : 109-118
- 16) Winke, Campione. (1996) Amino acid transport regulation in preimplantation mouse embryos : effects on amino acid content and pre- and peri-implantation development. *Theriogenology* 45 : 69-80
- 17) Prather RS, Peter MS, Winkle V (1993) Aspartate and glutamate transport in unfertilized pig oocytes and blastocysts. *Mol Reprod Dev* 44 : 49-52
- 18) Glukman PD, Breier BH, Davis SR (1987) Physiology of somatotrophic axis with particular reference to the ruminant. *J Daily Sci* 70 : 442-446
- 19) Liu Z, Foote RH (1995) Development of bovine embryos in KSOM with added superoxide dismutase and taurine and with five and twenty percent O₂. *Biol Reprod* 53 : 786-790

(受付 : 2000 年 3 月 10 日)

(受理 : 2001 年 2 月 6 日)

The Relationship between Alanine, Glycine and Growth Hormone for *In vitro* Maturation, Fertilization and Culture of Bovine Oocytes

Maki Aono, Dong Ya Juan, Takeshige Otoi and Tatsuyuki Suzuki

Laboratory of Theriogenology, Department of Veterinary Science,
Yamaguchi University, Yamaguchi 753-8515, Japan

The objective of this study was to examine the effect of alanine, glycine and growth hormone for *in vitro* maturation (IVM), fertilization (IVF), and culture (IVC) of bovine oocytes with culture medium. In this experiment, cumulus-oocyte complexes (COCs) were matured (22 h), fertilized (5 h) and cultured (7 days) in the presence of 0, 50, 100, 200ng/ml GH in culture medium with or without alanine and glycine. The proportion of the oocytes reached metaphase II and the blastocyst production rate observed with 200ng/ml GH was higher ($P < 0.05$) than that for 0 or 50ng/ml GH in culture medium without alanine and glycine. However, blastocyst and expanding blastocyst rate observed for 0 or 50ng/ml GH was higher ($P < 0.05$) than that for 100 or 200ng/ml GH in culture medium with alanine and glycine. These results indicated that alanine and glycine is a positive factor for development of IVF embryos without GH.

Key words : bovine oocyte, *in vitro* fertilizaion, alanine & glycine, growth hormone, blastocyst.

(*Jpn J Fertil Steril* 46 : 105-109 2001)

Frequency of Luteinizing Hormone-beta Gene Variants is Increased in Japanese Patients with Idiopathic Azoospermia

Toyoaki TOYOSHIMA

Department of Urology, Dokkyo University School of Medicine
880 Kitakobayashi, Mibu, Shimotsuga-gun, Tochigi 321-0293, Japan

Abstract : While variant forms of luteinizing hormone (LH)- β subunit have been suggested to associate with infertility in Japanese women, the clinical significance of mutant alleles in Japanese men is not known. To determine whether mutations in this gene may be associated with impaired spermatogenesis, we assayed LH β variants in 47 patients with idiopathic azoospermia and 64 normozoospermic controls. A fragment of the LH β gene was amplified by polymerase chain reactions (PCR), and the products were digested with Fok I and Nco I to detect point mutations in codons 8 and 15, respectively, in exon 2. We found that 7 of the 47 azoospermic individuals, but only 3 of the 64 controls, were heterozygous for an LH β mutation. One patient who was homozygous for an LH β mutation was detected in the azoospermic group. The frequency of LH β variants was significantly higher in the azoospermic group (17.0%) than in the control group (4.7%, $p = 0.03165$). Serum testosterone concentrations were significantly lower in men with variant LH alleles than in those who were homozygous for the normal alleles ($p = 0.0016$). Since a higher level of testosterone in the testis is required to induce and maintain spermatogenesis, our results suggest that variant form of LH may play a role in the etiology of idiopathic azoospermia in Japanese men.

Key words : LH- β , variant form, idiopathic azoospermia, PCR

(Jpn J Fertil Steril 46 : 111-116 2001)

Introduction

Luteinizing hormone (LH), which is formed in and secreted by the anterior pituitary, is important in the stimulation of androgen biosynthesis and is essential to the induction and promotion of spermatogenesis^{1,2}. An intact β -subunit of this hormone is required for biologic activity. The secretion of abnormal forms of LH induces male hypogonadism³. Genetic variants of biologically active LH have been identified in some populations^{4,5}.

The gene that encodes the LH β -subunit has been cloned and sequenced⁶ and two common variants of this gene have been identified⁷. Each is caused by 2 point mutation in exon 2, one at codon 8, (TGG \rightarrow CGG, Trp \rightarrow Arg) and the second at codon 15, (ATC \rightarrow ACC,

Ile \rightarrow Thr). Each of these variants exhibits a higher in vitro bioactivity, but a shorter half-life in the circulation as compared with the wild-type LH β ⁸. Japanese women who are homozygous for variants of LH β reportedly suffer from infertility⁷. In addition, the frequency of variant LH β alleles is higher in women with certain subtypes of the polycystic ovary syndrome⁹.

While the clinical manifestations of the LH β variant have been assayed in Japanese women, their clinical significance in men is not known. Since androgens are required for spermatogenesis, and since LH is a regulator of androgen biosynthesis in the testis, point mutations in LH β may be associated with impaired spermatogenesis. To investigate the validity of this hypothesis, we compared the frequency of LH β variants in patients with azoospermia with that in the normo-

zoospermic fertile men.

Materials and Methods

Subjects

We admitted to study 47 Japanese patients with idiopathic azoospermia, aged 22 to 40 years. Azoospermia was confirmed by microscopic examination of the sediment obtained after two separate centrifugations of the semen at $500 \times g$ for 20 min. Excluded from study were patients with hypogonadotropic hypogonadism or obstruction of the seminal tract. Diagnosis of the latter was based on clinical examination and testicular biopsy. So excluded from study were patients with karyotypic abnormalities or microdeletions of the long arm of the Y chromosome. To serve as control subjects, we recruited from the contraceptive clinic, 64 men with proven fertility and normal sperm counts. Informed consent for participation was obtained from each subject.

Specific amplification of the LH β gene and analysis by restriction fragment length polymorphism

Nuclear DNA was extracted from the peripheral blood lymphocytes of each subject using Mini-prep (Qiagen, Inc., Chatsworth, CA). The LH β gene primers, the forward primer 5'-CTTTGTGGGTGGTGTA-CCACGC-3' (extending from position 829 to 850) and the reverse primer 5'-AGGATCGGGGTGTCAGGGC-TC-3' (extending from position 1622 to 1602)⁶, were purchased from Greiner Japan Inc (Tokyo, Japan). A segment of the LH β gene containing exon 2 was amplified by the polymerase chain reaction (PCR) in a Thermal Cycler MP (Takara Biochemicals, Tokyo, Japan). Each 25 μ l reaction mixture contained approximately 100 ng sample DNA, 15 nmoles of each deoxyribonucleotide triphosphate, 5 pmoles of each primer, and 2U AmpliTaq DNA polymerase in a reaction buffer containing 50 mM Tris-HCl (pH9.2), 16 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, and 1.75 mM MgCl_2 . Amplification consisted of an initial denaturing step at 94°C for 5 min, annealing at 60°C for 1 min and polymerization at 72°C for 2 min, followed by 34 cycles of 95°C for 1 min, 60°C for 1 min, and 72°C for 2 min.

The PCR products were analyzed by separate digestions of 5 μ l of each with Fok I or Nco I (Takara

Co., Tokyo, Japan) in a reaction buffer containing 100 mM Tris-HCl (pH 9.2), 32 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, and 2.5 mM MgCl_2 for 2 hrs at 37°C. The Digestion products were electrophoresed on 2.5% agarose gels at 100 V for 40 min at 4°C. The gels were stained with ethidium bromide and photographed in an ultraviolet transilluminator system (Transilluminator, Funakoshi Inc., Tokyo, Japan) and the size of each band was determined by comparison with DNA size markers.

Determination of Serum Hormone Concentrations

Serum concentrations of luteinizing hormone (LH) and testosterone (T) were determined with the use of specific radioimmunoassay using Spac-S LH kit (Dai-ichi Radioisotope Lab. Ltd., Tokyo, Japan) and a Total Testosterone kit (NIPPON DPC Corp., Chiba, Japan) for LH and T, respectively. The intra-assay coefficients of variation (CV) were 2.8% for LH and 5.2% for T, while the inter-assay CV values were 3.4% for LH and 1.6% for T.

Statistical Analysis

Values are expressed as mean \pm standard deviation. The significance of the intergroup differences was determined by the Mann-Whitney U-test or the Chi-square test, using Stat View data analysis software (Abacus Concepts Inc., Berkeley, CA). A level of $p < 0.05$ was defined as statistically significant.

Results

Use of RFLP analysis to assay the variants

Since the LH β variants contain point mutations at codons 8 (TGG \rightarrow CGC) and 15 (ATC \rightarrow ACC) of exon 2 that abolish recognition sites for the restriction enzymes, NcoI (CCATGG) and Fok I (CATCC), respectively, we digested an LH β fragment amplified by PCR with these restriction enzymes. Nco I digestion of PCR-amplified control-DNA yielded three fragments, of 542, 152, 100 bp; digestion of DNA from a heterozygote yielded four fragments, of 542, 252, 152, and 100 bp; and digestion of DNA from an individual who was homozygous for the codon 8 mutation yielded two fragments, of 542 and 252 bp (Fig. 1). Fok I digestion of control DNA yielded six fragments, of 390, 195, 81, 48, 43, and 37 bp; digestion of amplified DNA from a heterozygote yielded seven fragments, of

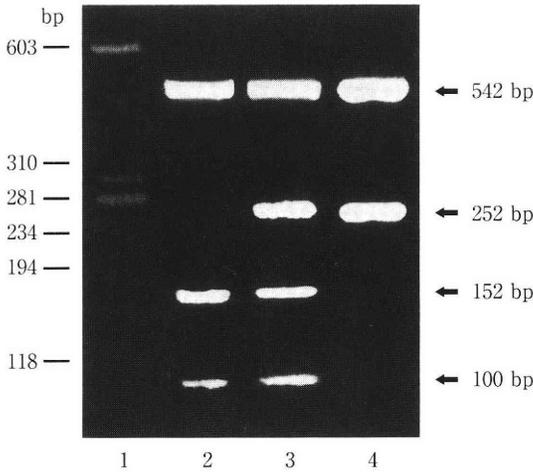


Fig. 1 Results of Nco I digestion of the PCR product. Lane 1 ; size marker, lane 2 ; normal LH homozygous, lane 3 ; heterozygous mutant of codon 8, lane 4 ; homozygous mutant of codon 8.

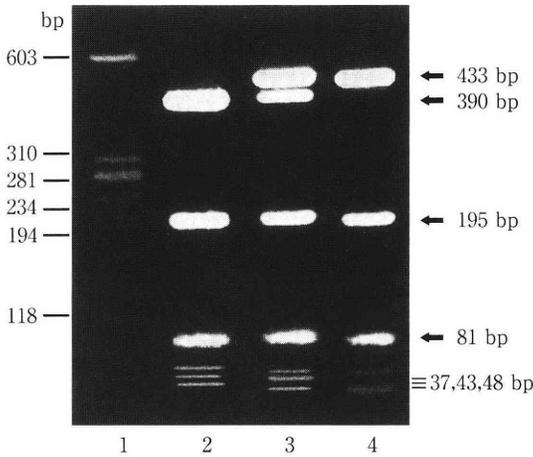


Fig. 2 Results of Fok I digestion of the PCR product. Lanes 1 and 2 are the same as those of in Fig. 1. Lanes 3 and 4 are heterozygous and homozygous mutant at codon 15, respectively.

433, 390, 195, 81, 48, 43, and 37 bp ; and digestion of DNA from an individual homozygous for the codon 15 mutation yielded five fragments, of 433, 195, 81, 48, and 37 bp (Fig. 2).

Frequency of LH β variants in azoospermic and normozoospermic men

Of the 47 azoospermic patients, 39 had normal LH β

alleles, 7 were heterozygotes mutated at codons 8 and 15, and one was homozygous for codons 8 and 15. The frequency of the LH β variant in the patient group was 17.0%. In contrast, sixty one of the 64 normozoospermic controls had two normal LH β alleles, three were heterozygous at both codons 8 and 15, and none was homozygous for either mutation. The frequency of the LH β variants in the patient, 17.0%, was thus significantly greater than that in the control group, 4.7% ($p = 0.03165$).

Serum LH and T concentrations in azoospermic and control subjects

We also assayed serum concentrations of LH and T in the azoospermic and control groups sorted by LH β allelotype (Table 1). Serum LH concentrations in the azoospermic group with the normal LH alleles were significantly higher than those in the normozoospermic men with normal LH alleles ($p < 0.0001$). In contrast, there was no significant difference between these two subgroups in serum T concentrations. Serum LH concentrations were significantly higher in the control subjects with normal LH β alleles than in the control subjects with variant LH β alleles ($p = 0.00904$). While serum T concentrations were higher in the control subjects with normal LH β alleles than in the control subjects with variant LH β alleles, a significant difference was not obtained between these two subgroups.

Among the azoospermic group, serum concentrations of both LH and T were significantly higher in men with normal LH β alleles than those heterozygous for LH β variants ($p = 0.003926$ for LH ; $p = 0.03866$ for T). We found no significant differences in either hormone, however, when we compared their serum concentrations in normozoospermic and azoospermic men heterozygous for a variant LH β . In the one patient who was homozygous for variant LH β , the serum concentrations of LH and T were lower than in the heterozygotes (Table 1). When we combined serum T data for the control and azoospermic groups, we found a significant difference between those with the normal and those with the variant LH alleles ($p = 0.0016$).

Table 1 Serum concentrations of LH and T in the normozoospermic and azoospermic groups with normal or variant LH alleles

| | Normozoospermic group | | | Azoospermic group | | |
|----------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------|-----------------------------|-----------------------------|-------|
| | Normal LH | Variant LH Hetero. | Homo. | Normal LH | Variant LH Hetero. | Homo. |
| No. of cases | n = 61 | n = 3 | n = 0 | n = 39 | n = 7 | n = 1 |
| Serum LH concentrations (mIU/ml) | 3.5 \pm 1.4 ^a | 1.3 \pm 0.5 ^b | | 7.5 \pm 5.4 ^{bc} | 3.1 \pm 1.4 ^{bd} | < 0.2 |
| Serum T concentrations (ng/dl) | 446 \pm 177 ^a | 308 \pm 144 ^{ab} | | 443 \pm 128 ^a | 331 \pm 128 ^b | 258 |

Mean values on a line without superscript differ significantly ($p < 0.05$).

When combined the normozoospermic and azoospermic groups, a significant difference in serum LH and T concentrations were observed between the normal and variant LH alleles ($p = 0.0016$).

LH : luteinizing hormone T : testosterone Hetero. : heterozygous Homo. : homozygous

Discussion

The existence of variant forms of LH was first suggested by Pettersson et al.⁵⁾ who observed an immunologically anomalous form of LH in Finnish women. In a later study of infertile Japanese women, variant LH forms were shown to be caused by point mutations at two amino acids (codon 8, TGG \rightarrow CGG, codon 15, ATC \rightarrow ACC) in the β subunit⁷⁾. Pedigree analysis confirmed that each mutant form of LH is transmitted in autosomal recessive fashion. Although these LH β gene are common polymorphisms, their frequency varies by ethnic group and geographic area^{5-7,10)}. For examples, the frequency of mutant alleles has been reported to be 27.7% in Finish subjects⁸⁾, 26% in the Swedish population⁹⁾ and 15% among the English¹⁰⁾. The frequency of LH β gene mutations is lower in Asian populations, having been reported as 4.5% in Chinese, 6.2% in Malaysian, 3.0% in subjects in the Indies¹¹⁾. Our finding of a mutation frequency of 4.7% in normozoospermic Japanese men resembles the frequencies previously reported for other Asian populations.

Using the Spac-S kit to measure serum concentrations of LH, we found significantly lower concentrations of this hormone in individuals who were heterozygous for the wild-type allele. In addition, the serum LH concentration was even lower in the one patient who was homozygous for a mutant allele. Individuals with mutant alleles, however, may not actually have lower serum LH concentrations. Rather, the

observed differences may reflect the reduced detectability of variant forms of LH when measured by the Spac-S kit. When the Spac-S and Delfia kits were compared for their ability to measure LH in the serum of heterozygotes, a ratio of 0.4 ± 0.13 was obtained¹²⁾, most likely due to the inability of Spac-S kit to recognize the variant epitope completely, while in contrast, the Delfia kit is able to do so^{5,8,9)}.

Since both of the known LH β gene mutations introduce an extra glycosylation, it seems likely that the biological properties of the variant forms of LH would be altered. In fact, Haavisto et al.⁸⁾, have found that the variant forms are eliminated at a faster rate than the wild-type LH. Since mutant alleles of LH β are present in European populations at relative high frequencies, these mutations are thought unlikely to cause pathologic conditions. In Japanese women, however, LH β mutations may be associated with disease states. For example, those homozygous for LH β mutations have been found to be infertile⁷⁾, and the frequency of mutant alleles has been shown to be higher in women with certain subtypes of the polycystic ovary syndrome⁹⁾. An increased frequency of mutant alleles has also been reported in patients with premature ovarian failure¹³⁾. The clinical significance of mutations in this gene may thus differ among races or ethnic groups.

To date, the clinical significance of variant forms of LH β had not been investigated in men. We have shown here that the frequency of mutant alleles is significantly higher in azoospermic men as compared with normozoospermic Japanese men. However, in

these groups, serum T concentrations in men heterozygous for mutant alleles were lower than in men having two normal alleles. Since a high concentration of androgen in the testes is required for spermatogenesis, it is possible that the presence of a variant form of LH may be a cause of spermatogenic failure.

It is known that idiopathic azoospermia is not caused by a single agent or mechanism, but represents a broad spectrum of diseases or is a complication of some other disease. Since mutations in LH β are observed in individuals with normozoospermia, variant LH is not in itself an etiologic factor for azoospermia. Our finding of an enhanced frequency of variant LH in patients with azoospermia as compared with normal individuals, suggests that variant LH may contribute to the cause of idiopathic azoospermia.

References

- 1) Pierce JG, Parsons TF (1981) Glycoprotein hormones : structure and function. *Annu Rev Biochem* 50 : 465-495
- 2) Lee VWK, de Kretser DM, Hudson BH, et al. (1975) Variations in serum FSH, LH and testosterone levels in male rats from birth to sexual maturity. *J Reprod Fertil* 42 : 121-126
- 3) Weiss J, Axelrod L, Whitcomb RW, et al. (1992) Hypogonadism caused by a single amino acid substitution in the beta subunit of luteinizing hormone. *N Engl J Med* 326 : 179-183
- 4) Reader SC, Robertson WR, Diczfalusy E (1983) Microheterogeneity of luteinizing hormone in pituitary glands from women of pre- and postmenopausal age. *Clin Endocrinol* 19 : 355-363
- 5) Pettersson K, Ding Y-Q, Huhtaniemi I (1992) An immunologically anomalous luteinizing hormone variant in a healthy women. *J Clin Endocr Metab* 74 : 164-171
- 6) Talmadge K, Vamvakopoulos NC, Fiddes C (1984) Evolution of the genes for the beta subunits of human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone. *Nature* 307 : 37-40
- 7) Furui K, Suganuma N, Tsukahara S-I, et al. (1994) Identification of two point mutations in the gene coding luteinizing hormone (LH) β -subunit, associated with immunologically anomalous LH variants. *J Clin Endocr Metab* 78 : 107-113
- 8) Haavisto A-M, Pettersson K, Bergendahl M, et al. (1995) occurrence and biological properties of a common genetic variant of luteinizing hormone. *J Clin Endocr Metab* 80 : 1257-1263
- 9) Rajkhowa M, Talbot JA, Jonest PW, et al. (1995) Prevalence of an immunological LH β -subunit variant in a UK population of healthy women and women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 43 : 297-303
- 10) Raivio T, Huhtaniemi L, Anttila R. et al. (1996) The role of luteinizing hormone- β gene polymorphism in the onset and progression of puberty in healthy boys. *J Clin Endocr Metab* 81 : 3278-3282
- 11) Ramanujan L, Liao W-W, Roy AC, et al. (1998) Molecular variants of luteinizing hormone in three populations of south-east Asia. *Hum Hered* 48 : 232-234
- 12) Suganuma N, Asada Y, Furui K, et al. (1995) Screening of the mutations in luteinizing hormone β -subunit in patients with menstrual disorders. *Fertil Steril* 63 : 989-995
- 13) Takahashi K, Ozaki T, Okada M, et al. (1999) Increased prevalence of luteinizing hormone β -subunit variant in patients with premature ovarian failure. *Fertil Steril* 71 : 96-101

(Received ; October 31, 2000)

(Accepted ; February 20, 2001)

特発性無精子症における変異型 LH- β の頻度
—正常例との比較—

豊嶋 豊照

獨協医科大学泌尿器科学教室

本邦における女性の不妊症と変異型 LH- β との関与が示唆されているが、男性における変異型 LH- β の臨床的意義は明らかでない。この変異が精子形成障害と関連しているかどうかを検討するために、47 例の特発性無精子症群と 64 例の正常コントロール群において変異型 LH- β の頻度を検討した。すなわち LH- β 遺伝子断片を PCR 法で増幅し、その産物を FokI, NcoI で消化してエクソン 2 におけるコドン 8, コドン 15 の点突然変異の有無を調べた。無精子症群では 47 例中 7 例、コントロール群では 64 例中 3 例に、ヘテロ接合の LH- β 遺伝子の突然変異を認めた。無精子症群では、ホモ接合の変異型 LH- β 遺伝子を 1 例に認めた。変異型 LH- β の頻度は、コントロール群では 4.7% であり、無精子症群では 17.0% であった ($p=0.03$)。血清中のテストステロン濃度は、変異型 LH- β の対立遺伝子を有する群において低値を示し、正常対立遺伝子を有する群との間に有意差を認めた ($p=0.0016$)。精子形成を誘導、維持するためには精巣において高いテストステロン濃度が必要とされることから、われわれの得た結果は本邦男性における特発性無精子症の病因に変異型 LH- β が関与することを示唆したものと考えられる。

キーワード：LH- β 、変異型、特発性無精子症、PCR

(日不妊会誌 46:111-116 2001)

Transvaginal Hydrolaparoscopy による骨盤腔内の評価

—腹腔鏡所見と比較して—

Transvaginal Hydrolaparoscopy for Pelvic Evaluation of Infertility Women

—The Compared Study with Laparoscopy—

| | | |
|-------------------|-----------------|------------------|
| 武内 裕之 | 佐藤 雄一 | 中野 義宏 |
| Hiroyuki TAKEUCHI | Yuichi SATO | Yoshihiro NAKANO |
| 桜井 明弘 | 小堀 宏之 | 三橋 直樹 |
| Akihiro SAKURAI | Hiroyuki KOBORI | Naoki MITSUHASHI |

順天堂大学産婦人科学教室

Department of Obstetrics and Gynecology, Juntendo University School of Medicine, 113-8421, Japan

【目的】不妊症例の骨盤内観察における THL の有用性を腹腔鏡所見と比較検討した。

【対象と方法】不妊症で腹腔鏡施行予定の 35 例を対象とした。

全身麻酔下に碎石位で、腹腔鏡施行前に THL で骨盤腔内を観察し、直ちに腹腔鏡を行った。それぞれの手技は別な術者により行われ、所見の一致率はさらに他の医師が確認した。

【結果】THL は 33/35 (94.3%) で施行可能であり、直腸漿膜穿破が 1 例に認められた。左右の付属器はそれぞれ 33/33 (100%)、29/33 (87.9%) で観察できた。腹腔鏡との一致率は、卵管形態の異常：3/3 (100%)、子宮内膜症：5/10 (50%)、右付属器周囲癒着：5/7 (71.4%)、左付属器周囲癒着：6/11 (54.5%) であった。腹腔鏡下に観察できなかった癒着および付属器表面の nonconnecting adhesion は、THL で各 4 例に認められた。

【結論】THL によって得られる骨盤腔内の所見は、腹腔鏡所見に遜色なく、不妊症のスクリーニング検査に有用であると思われる。

キーワード：腹腔鏡、THL、子宮内膜症、付属器周囲癒着、不妊症

(日不妊会誌 46:117-122 2001)

はじめに

不妊スクリーニング検査として行われる内診、経腔超音波および子宮卵管造影で異常を認めないいわゆる機能性不妊の症例に、腹腔鏡検査を施行すると高率に子宮内膜症や卵管周囲癒着などが認められ、腹腔鏡は不妊症における検査の gold standard と考えられている。しかし、一般に、全身麻酔下に手術室で行われ、侵襲が大きな腹腔鏡検査は後回しにされる傾向にある。

最近では、径が 2~3mm の細径腹腔鏡が開発され、局所麻酔下に外来で行われる Office Laparoscopy が考案されている¹⁾。使用する器具がいかにか細径であっても腹膜を 2 箇所以上穿刺して炭酸ガスによる気腹が必要な腹腔鏡検査は、局所麻酔のみでは疼痛のコントロールが困難であり、しばしば静脈麻酔などの追加が必要となる²⁾。

Transvaginal hydrolaparoscopy (THL) は Gordts らにより紹介され³⁾、経腔的なアプローチにより生理食塩水を注入して骨盤内を観察する方法であり、クル

ドスコープから派生した手技である。THL がクルドスコープより優れている点は、光学技術の発達により細径で明るいスコープが開発され、小さな侵襲で経陰的アプローチが行えるため、局所麻酔下に外来ベースで施行できること、生理食塩水を骨盤内に注入して観察するため、碎石位で検査が行えることである。しかし、THL の検査精度を腹腔鏡検査と比較検討した報告は少ない。

本研究は、同一症例に THL と腹腔鏡検査を行い、不妊症検査における THL の有用性を検討することを目的とした。

対象と方法

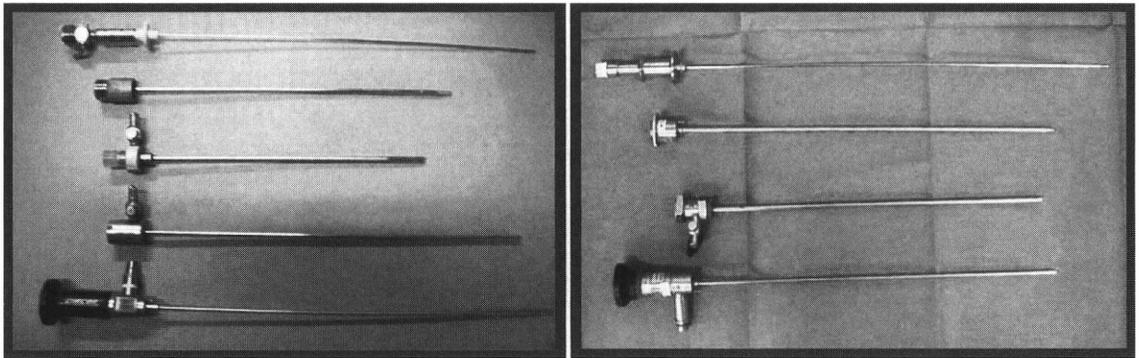
2000 年 3 月～10 月までに不妊症で腹腔鏡下手術を施行した 35 例の不妊症例を対象とした。経陰超音波検査、子宮卵管造影 (HSG) などの不妊スクリーニング検査で異常を認めない 2 年以上の機能性不妊 12 症例、子宮筋腫で腹腔鏡下筋腫核出術予定の 19 症例、HSG で両側卵管間質部閉塞と診断され卵管鏡下卵管形成術予定の 2 症例、HSG で両側卵管留水腫の診断で腹腔鏡下卵管形成術予定の 1 症例、不妊治療後に子宮外妊娠が疑われた 1 症例である。

術前に THL の説明を十分にを行い、同意の得られた症例のみを本研究の対象とした。対象の平均(±SD)年

齢は 32.8 ± 5.7 歳 (range 23～41) であった。

手術室で気管内挿管全身麻酔を施行し、碎石位をとり、イソジンで十分な陰洗浄を行い、まず THL 次いで腹腔鏡を施行した。THL には、オリンパス社製または Circon 社製 (ケンメディカル社販売) の THL システム (図 1) を使用し、腹腔鏡はストライカー社製のシステムを用いた。

腔鏡を挿入して子宮腔内にヒスキャス™ (住友ベークライト社) を挿入した後、マルチン鉗子で子宮腔部の後唇を把持し、後陰円蓋を十分に展開した。子宮腔部の 1.5cm 下方に尖刃で小切開を加え、専用のベレス針を刺入して外套管を腹腔内に誘導した。加圧バックで 300mmHg に加圧した生理食塩水 (34～36°C に加温) を注入しつつ、骨盤内の観察を行った。まず、ダグラス窩周囲を観察し、子宮底部に向かってスコープを移動して、卵管峡部と卵巣固有靱帯を確認した。近位側から遠位側に向かって右付属器、左付属器の観察を行った。生理食塩水の注入のみで卵巣や卵管が観察しにくい場合や卵巣が接している広間膜後葉 (卵巣窩) を観察する場合には、加圧された生理食塩水の水流を外套管のコックで調節し、視野を確保した。骨盤内の観察を終了後、ヒスキャス™ からインジゴカルミンを注入して卵管疎通性を観察した。骨盤腔内の観察が終了後、外套管のコックを開き、注入した生理食塩



| メーカー | CIRCON社 (ケン・メディカル社) | オリンパス社 |
|-------|------------------------|--------------|
| レンズ | ロットレンズ (30°) | ロットレンズ (30°) |
| スコープ径 | 2.7 mm | 3 mm |
| 外筒径 | 3.6 mm | 4.2 mm |

図 1 THL に使用した器具

水を体外に排出した。外套管刺入部の縫合は行わなかった。

THL 終了後直ちにユテリンマニピュレーター™(エチコン社)を子宮腔内に挿入して腹腔鏡を施行した。機能性不妊の 12 症例および卵管閉塞の 2 症例では 5mm のスコープを、子宮筋腫 19 例、卵管留水腫 1 例、子宮外妊娠 1 例では 10mm のスコープを使用した。

THL と腹腔鏡はそれぞれ別の術者が行った。まず、THL を施行した後、術者が専用の所見用紙に記入し、THL 終了後直ちに別の術者が腹腔鏡手技をもって所見を記入した。THL と腹腔鏡手技は VTR に録画し、手術終了後、それぞれの術者とは別の医師が VTR を再生してそれぞれの所見用紙をみながら所見を確認し、腹腔鏡所見に対する THL の一致率を判定した。

結 果

THL を施行した 35 症例中、前屈子宮は 33 例、後屈は 2 例であった。THL でダグラス窩へのアプローチができなかったのはダグラス窩閉塞(子宮後屈例)、子宮後壁の筋層内筋腫(子宮前屈例)の各 1 例であった。いずれの症例も刺入した外套管を抜去せずに、腹腔鏡を施行して外套管の位置を確認した。ダグラス窩閉塞例では外套管は直腸の漿膜下に存在し、後壁の筋腫例ではダグラス窩に達した外套管は筋腫核を穿破していた。両者ともに特別な処置は必要なかった。THL によるダグラス窩へのアプローチの成功率は 33/35 (94.3%)で、子宮前屈症例では 32/33 (97.0%)、後屈症例では 1/2 (50%)であった。また、合併症は直腸漿膜を穿破した 1 例のみであり、その発生率は 2.9%であった。

THL でダグラス窩の観察ができなかった上記 2 例を除く、33 例について腹腔鏡との一致率を検討した。

THL における骨盤内所見の把握率を腹腔鏡と比較したのが表 1 である。腹腔鏡下にはすべての骨盤内所見が観察できた。THL ではダグラス窩、子宮後壁、右付属器は全例で観察可能であったが、左付属器が確認できたのは 29 例 (87.8%)であった。THL で観察できなかった 4 例の左卵管は腹腔鏡下ではすべて正常な形態であった。S 状結腸により覆われる左付属器の観察は右側に比べて難しい傾向がみられた。卵巣窩は右側、左側でそれぞれ 90.1%、81.8% の症例で観察できた。

腹腔鏡下で観察し得た卵管形態の異常は、phymose 様 1 卵管、卵管留水腫 1 卵管、左卵管膨大部妊娠 1 卵管であったが、これらはすべて THL でも確認することができた。インジゴカルミンを用いた色素通水検査での卵管疎通率は、THL で観察できた右 33 卵管、左 29 卵管においてそれぞれ 90.9%、86.2% であり、腹腔鏡と THL 間での不一致例はなかった。

子宮内膜症病変は腹腔鏡で 10 例 (30.3%) に認められた(表 2)。その内訳は、径 1cm 以下の卵巣チョコレート嚢胞 2 例、ブルーベリー斑 4 例、ヒダ状瘢痕 3 例、ヘモジデリン沈着 2 例(重複例あり)であった。THL で確認できた腹膜病変は 5 例であったが、すべての種類の腹膜病変が観察できた。THL で観察できなかった 5 例の病変は仙骨子宮靱帯の外側に存在するもの、スコープを刺入したダグラス窩の直上に存在するもの、卵巣の後腹膜よりに存在するもの、膀胱子宮窩の病変などすべて THL の死角に存在する病変であった。

卵巣または卵管周囲癒着は、腹腔鏡下で右側 5/33 (15.2%)、左 8/29 (27.6%) に認められ、THL ではそれぞれ 4/33 (12.1%)、9/29 (31%) にみられた。腹腔

表 1 腹腔鏡と THL における骨盤内所見の把握

| | Laparoscopy (n = 33) | THL (n = 33) |
|-------|-------------------------|-----------------|
| ダグラス窩 | 33 (100) | 33 (100) |
| 子宮後壁 | 33 (100) | 33 (100) |
| 付属器 | | |
| 右 | 33 (100) | 33 (100) |
| 左 | 33 (100) | 29 (87.8) |
| 卵巣窩 | | |
| 右 | 33 (100) | 30 (90.1) |
| 左 | 33 (100) | 27 (81.8) |

() : %

表 2 腹腔鏡と THL における子宮内膜症所見とその一致率

| | Laparoscopy (n = 33) | THL (n = 33) |
|------------|-------------------------|-----------------|
| 正常所見 | 23/33 (69.7) | 28/33 (84.8) |
| 異常所見 | 10/33 (30.3) | 5/33 (15.2) |
| 仙骨子宮靱帯 | 3/33 | 2/ 3 (66.7) |
| 卵巣表面 | 4/33 | 3/ 4 (75.0) |
| 卵巣チョコレート嚢胞 | 2/33 | 1/ 2 (50.0) |
| ダグラス窩 | 2/33 | 1/ 2 (50.0) |
| 膀胱子宮窩 | 1/33 | 0 |

() : %

鏡で観察された卵巣周囲癒着が THL で確認できたのは、右側 2/3 例、左側 3/6 例であった。卵管周囲癒着に関しては、それぞれ右側 3/4 例、左側 3/5 例であった。一方、THL で観察された卵巣周囲癒着の 4 例(左右それぞれ 2 例)は、腹腔鏡下で確認できなかった。また、卵巣表面に毛羽立ったように観察されるいわゆる nonconnecting adhesion が THL では 4 例で認められたのに対し、腹腔鏡では確認できなかった。

THL に要した平均時間(±SD)は 7.5 ± 2.1 分(range 4~10)であった。

考 察

不妊婦人の骨盤内観察において、THL は腹腔鏡とほぼ同様に異常所見を把握することができた。THL でのダグラス窩へのアプローチは 94.3% の症例で安全に施行可能であり、これは諸家の報告とほぼ同様である³⁾⁴⁾。THL でダグラス窩に到達できない技術的な要因は、ベレース針刺入時の腹膜のテンティングであるとされている。Cordts らは、これを避けるためには、ベレース針を手首のスナップを利かせて迅速に刺入するのがポイントであると述べている⁵⁾。

THL における最も注意すべき合併症は、穿刺時の直腸穿孔である。欧州の 3 施設の共同研究では、512 例中 5 例(1%)に認められ、すべて保存的に治療可能であっ

たと報告されている⁶⁾。今回の検討では、直腸漿膜の穿孔が 1 例に認められたが、追加処置の必要はなかった。ベレース針刺入時の直腸穿孔を避けるためには症例の選択が重要であり、術前の十分な内診により子宮後屈やダグラス窩閉塞例は対象から除外する必要があると思われる。

腹腔鏡では臍部から挿入したスコープにより、骨盤内が上方から俯瞰した形で見え、開腹術などと同様の見慣れた視野が得られる。これに対して、THL はダグラス窩から斜視のスコープで骨盤内を見上げるため腹腔鏡で得られる視野とは左右が逆になり(図 2)、卵管膨大部から采部は卵巣の内側に見える。腹腔鏡に比べ臓器が拡大されて見えるモニター画面に慣れるまでにはある程度の経験が必要である。

さらに、THL では膀胱子宮窩などの子宮の前方やダグラス窩の刺入部位などの死角が存在する。骨盤内の所見の把握率を腹腔鏡と比較すると子宮後壁やダグラス窩および右付属器はすべての症例で観察可能であったが、左付属器は 4 例で確認できなかった。S 状結腸で覆われる左付属器は腹腔鏡と同様に THL でも観察しにくい傾向がみられた。

THL に関するこれまでの報告³⁾⁴⁾では、生理食塩水は加圧せずに重力による自然落下で使用されている。われわれは、加圧バックを用いて約 300mmHg に加圧

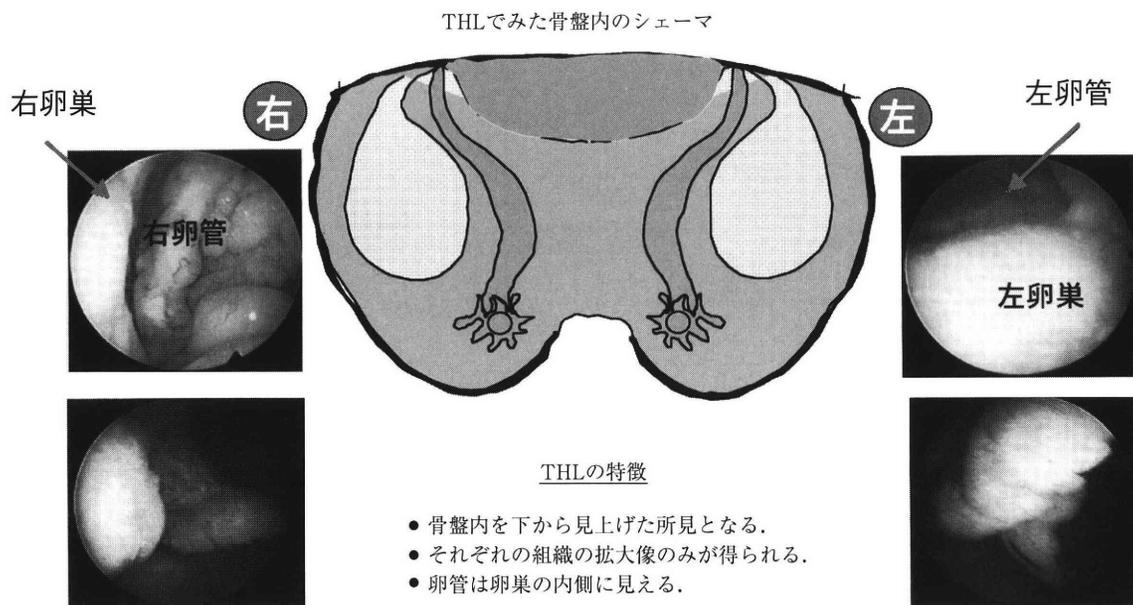


図 2 THL で観察される骨盤内所見

して使用している。腹腔鏡と異なり、マニピュレーターを使用できない THL では術野の確保がむずかしい場合がある。スコープの先端から加圧した生理食塩水を噴出することにより、水流で付属器を覆う腸管などを排除したり卵巣と後腹膜のスペースを作ることにより、骨盤内の観察が容易になる。Darai らは、THL により卵巣窩の所見が観察できたのが 66.7% と報告している⁴⁾が、水流を使用した今回の検討での卵巣窩の所見の把握率は 86.4% と向上している。また、今回の検討における THL の平均所要時間は 7.6 分であり、Cordts らの 20~40 分³⁾、Darai らの 15 分⁴⁾より大幅に短縮されており、この要因も水流を利用した迅速な術野の確保に起因するものと思われる。

THL で観察できる骨盤内の異常所見は、腹腔鏡と比較して遜色ないものと思われる。Phymose 様の卵管や卵管留水腫、卵管膨大部妊娠などの卵管の器質的な異常はすべて観察可能であり、卵管疎通性の結果も腹腔鏡とすべて一致した。

不妊症例で観察される最も頻度の高い異常は、子宮内膜症と付属器周囲癒着である。THL で確認できた内膜症所見は 5/33 (15.2%) であり、腹腔鏡の 10/33 (30.3%) の半数であったが、THL においてもすべての種類の内膜症病変が観察できた。しかし、ダグラス窩のスコープ刺入部周囲、仙骨子宮靱帯の外側、卵巣窩および卵巣の卵巣固有靱帯付着部付近、膀胱子宮窩などの THL の死角に存在する病変は確認することができなかった。THL で観察できなかった 1cm 径の卵巣チョコレート嚢胞は、腹腔鏡でも確認できなかったが、把

持針子により卵巣を挙上したとき腹膜との癒着が破綻し、内容が流出して診断できた。

腹腔鏡で観察された付属器周囲癒着のうち、THL で確認されたものは右側では 5/7 例、左側で 6/11 例であり、右側に比べ左側の癒着の一致率が少ない傾向が認められた。THL で確認できなかった付属器周囲癒着は、内膜症病変と同様に卵巣窩および卵巣の卵巣固有靱帯付着部付近のものが多かった。一方、THL で観察された癒着が腹腔鏡では確認できなかったものが 4 症例に認められた。付属器を自然の状態を観察する THL に対し、子宮マニピュレーターで子宮を挙上して把持針子で卵管や卵巣をつまんで観察する腹腔鏡では、付属器周囲に存在した癒着がこれらの操作により剥離され、確認されなかったものと思われる。さらに、生理食塩水を通して観察する THL では、卵巣や卵管表面に毛羽立ったように見える nonconnecting adhesion が 4 例で観察された。Nonconnecting adhesion は r-AFS スコア⁷⁾には算定されず、その病的意義は不明であるが、subclinical PID や子宮内膜症例に認められるとする報告もある⁸⁾。

THL は生理食塩水などの液体を骨盤内に注入し、その中に浮かんだ付属器を観察する方法である。マニピュレーターで子宮や付属器を操作して観察する腹腔鏡よりも自然な状態の骨盤内の様子を観察することができる。これを利用して、Gordts らは排卵した卵子が卵管采に取り込まれる様子の一部始終を観察した⁹⁾。また、液体を通して観察する 3D 効果により、子宮内膜症病変や付属器周囲癒着の微細構造の把握が可能である¹⁰⁾。硬性鏡である THL の病巣の解像度は 10mm のスコープとはほぼ同様であり、fiberscope である 2~3 mm の細径腹腔鏡を凌駕しているものと思われる。

THL の長所が発揮できるのは、局所麻酔下に外来で行う不妊症のスクリーニング検査であると思われる。局所麻酔下に施行した THL 時の痛みを VAS (Visual Analogue Scale) で評価した Cordts et al. らによれば 30 以下の症例が 60% であったと報告している⁵⁾。われわれが行った同様の検討では、THL 施行時の VAS の median は 39 であり、HSG 施行時の疼痛よりも軽度であった(未発表データ)。子宮外妊娠の非破裂例の術前診断は、経腔超音波検査や血中 hCG 値のみでは困難であることがあり、局所麻酔下に外来で施行できる THL が子宮外妊娠の診断にも有用である可能性が考えられた。

THL システムは、そのまま子宮鏡にも施行できる

表 3 腹腔鏡と THL における付属器周囲癒着所見とその一致率

| | Laparoscopy (n=33) | THL (n=33) |
|--------|-----------------------|---------------|
| 正常所見 | | |
| 右 | 28/33 (84.8) | 29/33 (87.9) |
| 左 | 21/29 (72.4) | 20/29 (70.0) |
| 異常所見 | | |
| 右 | 5/33 (15.2) | 4/33 (12.1) |
| 左 | 8/29 (27.6) | 9/29 (30.0) |
| 卵巣周囲癒着 | | |
| 右 | 3/33 | 2/ 3 (66.7) |
| 左 | 6/29 | 3/ 6 (50.0) |
| 卵管周囲癒着 | | |
| 右 | 4/33 | 3/ 4 (75.0) |
| 左 | 5/29 | 3/ 5 (60.0) |

() : %

ため、THL 施行後スコープを子宮腔内に挿入すれば、子宮腔内の観察も可能である。THL の外套管の直径は 4mm 前後と細いため硬性鏡であっても、未産婦の子宮腔内に比較的簡単に挿入できる。腹腔鏡に劣らない骨盤内の観察能力と卵管遠位部や子宮腔内の観察ができる THL の多目的用途およびその低侵襲性から、近い将来 THL は不妊スクリーニング検査などの診断的腹腔鏡の主力となると思われる。

文 献

- 1) 武内裕之 (1998) オフィスラパロスコピー婦人科外来における細型腹腔鏡の実際。桑原慶紀編, 第 1 版, メジカルビュー, 東京, pp76-99
- 2) Takeuchi H, Sato Y, Nakano Y, et al.(2000) Comparison of anesthetic methods for microlaparoscopy in women with unexplained infertility. J Am Assoc Gynecol Laparosc 6: 453-457
- 3) Cordts S, Campo R, Rombauts L, et al. (1998) Transvaginal hydrolaparoscopy as an outpatient procedure for infertility investigation. Hum Reprod 13: 99-103
- 4) Darai E, Dessolle L, Lecuru F, et al.(2000) Transvaginal hydrolaparoscopy compared with la-

- paroscopy for the evaluation of infertile women : a prospective comparative blind study. Hum Reprod 15: 2379-82
- 5) Cordts S, Campo R, Brosens I (2000) Office transvaginal hydrolaparoscopy for early diagnosis of pelvic endometriosis and adhesions. J Am Assoc Gynecol Laparosc 7: 45-49
 - 6) Brosens I, Campo R, Gordts S.(1999) Office hydrolaparoscopy for the diagnosis of endometriosis and tubal infertility. Curr Opin Obstet Gynecol 11: 371-7
 - 7) The American Fertility Society.(1985) Revised American Fertility Society classification of endometriosis 43: 351-352
 - 8) Campo R, Gordts S, Rombauts L, et al.(1999) Diagnostic accuracy of transvaginal hydrolaparoscopy in infertility. Fertil Steril 71: 1157-1160
 - 9) Cordts S, Campo R, Rombauts L, et al.(1998) Endoscopic visualization of process of fimbrial ovum retrieval in the human. Hum Reprod 13: 1425-28
 - 10) Laufer MR (1997) Identification of clear vesicular lesions of atypical endometriosis : a new technique. Fertil Steril 68: 739-40

(受付: 2001 年 2 月 1 日)

(受理: 2001 年 3 月 12 日)

Transvaginal Hydrolaparoscopy for Pelvic Evaluation of Infertility Women —The Compared Study with Laparoscopy—

Hiroyuki TAKEUCHI, Yuichi SATO, Yoshihiro NAKANO, Akihiro SAKURAI
Hiroyuki KOBORI and Naoki MITSUHASHI

Department of Obstetrics and Gynecology, Juntendo University
School of Medicine, 113-8421, Japan

Objective : The purpose of this study is to evaluate the efficacy of THL compared with standard laparoscopy in infertile women.

Material and methods : Thirty five women were assigned to perform THL under general anesthesia immediately prior to laparoscopy. The finding of two procedures were evaluated by different operators.

Results : The success rate of achieving the pouch of Douglas was 94.3%. Complication of perforation of rectal serosa was occurred only one case. Right and left anexa could be evaluated in 100 and 87.9% of the patients respectively. The accuracy of THL in tubal abnormalities, endometriosis, right peritubal adhesion and left peritubal adhesion was 100, 50, 71.4 and 54.5% respectively. There were 8 cases of periadnexal adhesions and nonconnecting adhesions that could not be recognized by laparoscopy.

Conclusion : THL is compatible in accuracy to standard laparoscopy for the diagnosis in infertile patients. We believe this is feasible to the screening method for infertile patients.

Key words : laparoscopy, Transvaginal hydrolaparoscopy, infertility

(Jpn J Fertil Steril 46: 117-122 2001)

地方部会講演抄録

第 38 回 日本不妊学会東北支部総会

日時：平成 12 年 11 月 4 日 (土) 13:00～

場所：長陵会館・記念ホール (仙台市)

1. マウス未受精卵における耐凍剤と細胞内カルシウム動態

○高橋俊文, 斎藤英和, 倉智博久

(山形大産婦)

【目的】Vitrification 法は、高濃度の耐凍剤による化学的毒性が問題であり、これは、細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の上昇が関与している。今回、未受精卵に対し、耐凍剤による $[Ca^{2+}]_i$ の変化と生存率について検討を加えた。【方法、成績】マウスの MII 期卵に、エチレングリコール (EG) を投与して、 $[Ca^{2+}]_i$ の変化を測定し、同時に卵の生存率を検討した。EG 投与により、 $[Ca^{2+}]_i$ は濃度依存性に上昇し、10% 以上では持続的 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇を認め生存率は 0% であった。細胞外 Ca^{2+} を除去した場合、10%EG では $[Ca^{2+}]_i$ の上昇が抑制され、生存率が 100% であった。【結論】未受精卵の凍結保存には、細胞外 Ca^{2+} を除去し、10%EG 溶液で平衡させることが、卵の生存率の向上に寄与するものと思われる。

2. と畜卵巣から採取した形態別にみたウシ卵丘卵母細胞複合体の成熟能と受精能

○北村紫織, 福田芳詔, 桃沢健二

(北里大獣医畜産 動物生殖学講座)

【目的】ウシのと畜卵巣から採取される種々の形態の卵丘卵母細胞複合体 (COC) の成熟能と受精能を明らかにする。【方法】COC は卵丘の状態、囲卵腔の有無、卵細胞質内クラスター (C) の有無を組み合わせ分類した。成熟培養後、体外受精し、6～8 時間後に成熟と受精を観察した。【結果】受精率は卵丘が厚い COC で、囲卵腔があるが球形を保つ卵母細胞は、囲卵腔のない卵母細胞 (対照区) と差がなかった (それぞれ C の無い卵母細胞で 90.3% vs 89.5%; C のある卵母細胞で 94.2% vs 91.5%)。球形を保っていない異常な卵母細胞の受精率は 67.9% と低下した。したがって、卵母細胞は軽度の形態異常を伴っていても受精能をよく保持していることが知られた。

3. 成熟卵および未熟卵の体外培養が卵紡錘体へ及ぼす影響の検討

○林章太郎, 柳田 薫, 矢澤浩之

片寄治男, 菅沼亮太, オルガス浅沼アイコ

佐藤 章 (福島県立医大産婦)

【目的】体外培養卵では受精・発生能の低下が認められる。また紡錘体は染色体分離に関し重要な働きを持ち、不安定で培養環境からの障害を受け易い。そこで培養卵の発生能低下の原因として卵紡錘体異常に着目し培養環境が卵の紡錘体異常を誘導している可能性を検討した。【方法】過排卵誘起マウスより metaphase II (MII), metaphase I (MI), GV 卵を採取し成熟卵を HTF 液中で 48 時間まで、未熟卵では MII 卵となるまで培養した。卵を固定し紡錘体を α -tubulin 抗体 + FITC 標識 2 次抗体で、染色体を Hoechst33258 でそれぞれ染色した。蛍光顕微鏡下に卵の紡錘体形状と染色体配列を評価した。【結果】成熟卵培養 0 時間で正常紡錘体が 88.3% (83/94)、異常紡錘体が 7.4% (7/94)、染色体配列異常が 6.4% (6/94) に認められ、培養 24 時間では異常紡錘体が 50.0% (41/82)、染色体配列異常が 46.3% (38/82)、培養 48 時間ではそれぞれ 69.2% (90/130)、73.8% (96/130) に、また成熟培養では GV→MII となった卵では異常紡錘体が 48.1% (25/52)、染色体配列異常が 46.2% (24/52)、MI→MII ではそれぞれ 51.9% (14/27)、37.0% (10/27) といずれも有意な増加を認めた ($p < 0.0001$)。【結論】成熟卵では培養時間が長いほど卵紡錘体の構造異常、染色体配列異常が増加し、未熟卵の培養で得られた MII 卵では更に高頻度にこれらの異常が認められた。以上より卵紡錘体の異常が培養卵の低い発生成績の一因である可能性が示唆された。

4. 人為的卵活性化法の臨床成績

○片寄治男, 柳田 薫, 菅沼亮太

林章太郎, 矢澤浩之, オルガス浅沼アイコ

佐藤 章 (福島県立医大産婦)

ICSI 後未受精の原因として精子の持つ卵活性化因子の障害は重要である。本研究では ICSI 後人為的卵活性化を行うことが受精障害の rescue になるかを臨床的に検討した。1996 年 1 月から 2000 年 8 月まで

Piezo-ICSI を実施した 1,149 周期を対象に受精障害例を選択した。人為的卵活性化として電気刺激法を選択した。全治療周期のうち ICSI 後受精率が 25% 以下であったのは 10.2%, 1 つの卵に対してでも ICSI 後受精率が 0% であったのは 7.7% の周期に認められた。1 day old DC-pulse 群では卵の $77.4 \pm 34.5\%$ が前核を形成, $73.8 \pm 42.2\%$ が発生を開始し, 胚移植により対 70 周期で 2 例に妊娠が確認できた。ICSI-pulse 群ではさらに良好な分割率が得られ ($94.3 \pm 20.5\%$, $p = 0.0096$), 対 25 周期で 5 例の妊娠が経験された。ICSI 後受精障害の対策として電気刺激法による人為的卵活性化法は臨床上有用であり, 特に ICSI 直後の処理が治療上効果的であることを確認した。

5. ヒト未成熟卵子の体外成熟培養及び凍結保存との比較

○吉田仁秋, 大宮由紀, 青野展也
(吉田レディースクリニック)

【目的】ヒト未成熟卵子をガラス化保存し, 解凍後 IVM を行いその後の生存率の検討, MII 期への成熟率, 受精率, 分割率について通常 IVM と比較検討した。【方法】PCO 腹腔鏡下レーザー焼灼治療を行った患者より, 焼灼前の卵胞から卵の採取を行った。一部はそのまま IVM へ, 一部はガラス化保存を行った。急速加温融解後 24~48 時間の体外培養を行い, MII 期まで達した卵子に ICSI を施しその後の発生能を比較検討した。【結果】凍結, 融解後の形態的生存率 34.8%, 通常 IVM と融解後 IVM の MII 期への成熟率, 受精率, 分割率はそれぞれ $57.1\% \cdot 62.5\%$, $62.5\% \cdot 80\%$, $60\% \cdot 75\%$ であった。【結論】凍結・融解後の生存率が低く凍結法や IVM 法の改良を含めさらなる検討が必要と思われた。

6. 受精卵における Fas, Fas ligand, survivin mRNA の発現

○河村和弘, 福田 淳, 熊谷 仁
佐藤直樹, 谷川秀郎, 村田昌功
児玉英也, 田中俊誠 (秋田大産婦)

【目的】初期胚における apoptosis の主なシグナル伝達経路である Fas-Fas ligand (Fas L) system, apoptosis 抑制系の survivin の発現についての検討。【方法】ラット未受精卵, 受精卵各 stage, ヒト受精卵 (2-cell, 4-cell, fragmented embryo) 各 15 個より mRNA を抽出, RT-PCR を行い Fas, Fas L, survivin の発現を解析。【成績】Fas はラットでは 2-cell に, ヒトでは 4-cell

に発現, Fas L はラットでは未受精卵, 1-cell, 2-cell に, ヒトでは 2-cell, 4-cell, fragmented embryo に発現。survivin はヒトでは 2-cell, 4-cell に 3 つの splice variant が認められ, fragmented embryo では splice variant のひとつが欠如。【結論】Fas および Fas L の同時発現はラットでは 2-cell, ヒトでは 4-cell, fragmented embryo に認められ, Fas-Fas L system は初期胚の apoptosis のシグナル伝達経路の一つと考えられる。また, apoptosis の決定機構に survivin の splice variant が関与している可能性が示唆された。

7. Cryoloop を用いたマウス胚のガラス化保存

○佐々田比呂志, 阿部靖之, 佐藤英明
(東北大学院農学研究所動物生殖科学分野)
京野廣一 (京野レディースクリニック)

Cryoloop を用いたガラス化保存での凍結保存液及び loop あたりの胚個数の影響を調べた。cryoloop は径 0.7mm~1.0mm のものを使用し loop 当たり 5~10 個のマウス胚盤胞期胚を入れ LN₂ 中で凍結した。凍結保存液はエチレングリコール, フィコール 70 或いは 400, スクロースを含む PBI 溶液 (EFS70 および EFS 400) であった。EFS70, loop 当たり 5 個或いは 10 個の胚の場合, hatching 率はそれぞれ 80% と 52.7% であった。EFS400 では, それぞれ 28% と 31.6% であった。対照区は 80% であった。以上の結果, cryoloop を用いたガラス化保存では, 凍結保存液と loop 当たりの供試胚数によってその後の生育性が異なる可能性が示された。

8. Cryoloop を用いた vitrification 法 (ヒト胚盤胞) の検討

○京野廣一 (レディースクリニック京野)

【目的】ヒト胚盤胞の凍結は一般に Menezes Y. (1992) の急速凍結融解法を modify した (融解を 7 ステップから 2 ステップに変更) 方法が用いられている。しかし, 生存率も低く, 満足すべき結果が得られていない。今回, Lane M. により考案された Cryoloop を用いた vitrification (1999) が簡易で実用的と考え, 検討したので報告する。【方法】2PN 期 40 個は PROH, sucrose を用いて急速凍結緩慢融解した。informed consent により, 承諾の得られた 2PN 期廃棄凍結余剰胚を sequential medium (Cook; KSICM-KSIBM) で 4 日間, 桑実胚~胚盤胞まで培養した。それを Lane M. の方法に従って Vitrification し, 1 日間液体窒素に保存した。その後,

融解し, 24, 48 時間追加培養し, 発育状態を観察した。【結果】2PN 融解後の生存率(1 日間培養後判定)は 67.5% (27/40) であった。その 4 日後の桑実胚, 胚盤胞到達率は各々凍結 2PN あたり 50.5% (20/40), 20.0% (8/40), 生存胚あたり 74.1% (20/27), 29.6% (8/27) であった。桑実胚 12 個, 胚盤胞 8 個の vitrification 24 時間後の発育率 (reexpand) は各々 50% (6/12), 75% (6/8), 48 時間後の hatching 率は各々 0% (0/12), 37.5% (3/8) であった。【結論】cryoloop を用いた vitrification は 1 度, 凍結融解した胚にもかかわらず, 2 度めの融解後も 75% (6/8) の生存, reexpand がみられ, ヒト胚盤胞の凍結保存に有効である。

9. 3 日胚移植における受精卵の発育と妊娠の関係

○酒井幹子, 齋藤恵美, 高橋重智
 立花郁雄, 村川晴生, 飯田修一
 森 滋, 鈴木雅洲 (スズキ病院)

【目的】近年体外受精・胚移植において, 培養を延長した胚移植が注目されている。そこで 3 日胚移植における受精卵の発育と妊娠との関係について検討した。【対象と方法】当院で体外受精・3 日胚移植を行った 41 症例を対象とした。受精卵の質はスコア化し, 最もスコアの高い受精卵 2 個について検討した。【結果】3 日胚移植における妊娠率は 39.0% であった。妊娠群は非妊娠群に対し 3 日の受精卵の細胞数において有意差は認められなかったが, 2 日の時点での受精卵の細胞数において有意に高い値を示した (4.4 ± 0.9 vs 3.9 ± 0.9 , $p < 0.05$)。【結論】3 日胚移植における受精卵の選択の指標として, 2 日の時点での細胞数にも着目する必要があることが示唆された。

10. 胚盤胞移植における Sequential Medium の検討

○拝郷浩佑, 福永憲隆, 千葉せつよ
 佐藤智子, 京野廣一
 (レディースクリニック京野)

【目的】最近, Quinn's Advantage Cleavage Medium (QC) と Quinn's Advantage Blastocyst Medium (QB) という新しい Sequential Medium (SQM) が開発された。そこで QC/QB と従来からある SQM の P1/Blastocyst, SICM/SIBM が胚発生に与える影響について検討した。【対象・方法】2000 年 5 月~9 月までに IVF を行った 62 症例 63 周期 (48 時間培養) と 13

症例 13 周期 (96 時間培養) を対象とした。Conventional IVF (C-IVF) と ICSI 後, 受精卵を QC, P1, SICM に配置し, 48 時間培養後に胚発生率を調べた。一方, 48 時間後に各々 QB, Blastocyst, SIBM に移し替えさらに 48 時間培養し発生率を調べた。発生率は, ICSI 群 (A 群), C-IVF 群 (B 群) と TOTAL 群 (ICSI + C-IVF) (C 群) に分け調べた。【結果】培養 48 時間での 8 細胞期以降への発生率は, B 群で QC は SICM に比べ有意に高い値を示した (61.9% v.s. 33.3%)。96 時間での発生率は全ての区において有意な差はなかった。

11. 胚盤胞/桑実胚移植の臨床的検討

○福井淳史, 葛西剛一郎, 木村秀崇
 樋口 毅, 藤井俊策, 齋藤良治
 (弘前大産婦)

【目的】体外受精・胚移植 (IVF-ET) において着床率向上が期待される桑実胚/胚盤胞移植につき検討した。【方法】媒精後 4 日目 (桑実胚期) 胚移植では 16 細胞期以上の胚を胚移植し得た 161 周期を, 6 日目 (胚盤胞) 胚移植では 3AA 以上の胚を胚移植し得た 170 周期を対象とした。【成績】桑実胚移植, 胚盤胞移植間で妊娠率・着床率・多胎妊娠率・流産率・生児獲得率に有意差を認めなかった。また桑実胚発生率は 75.5% であったのに対し胚盤胞発生率 41.4% であった。【考察】桑実胚移植と胚盤胞移植との間の成績に差が認められなかったことより全例に対して胚盤胞移植を行うことには疑問が残った。

12. 酸性 Tyrode 液と Protease による Assisted hatching (AHA) の比較検討

○千葉せつよ, 福永憲隆, 佐藤智子
 拝郷浩佑, 京野廣一
 (レディースクリニック京野)

【目的】今回当院では, 酸性 Tyrode 液または Protease にて AHA を施行後, 胚移植を行い, 妊娠率ならび着床率について検討した。【方法】2000 年 2 月~9 月までの間に当院で Conventional IVF と ICSI を施行した 183 症例 185 周期を対象とした。Tyrode 群は, Day 3 に酸性 Tyrode 液にて透明帯を開孔し, Protease 群は, Day 2 に Protease を培養液に添加して AHA を施行した。【結果】2 種類の方法で AHA を施行し比較検討した結果, 妊娠率に差は認められなかったが, Control 群に比べ AHA を施行した群では多胎妊娠になりやすい傾向

にあった。今後、更に症例数を増やし検討していきたい。

13. 黄体期中期子宮内膜NK細胞サブセットに影響を与える因子の検討

○木村秀崇, 藤井俊策, 福井淳史
葛西剛一郎, 佐藤重美, 齋藤良治

(弘前大産婦)

【目的】子宮内膜組織中の免疫細胞とそれらに由来するサイトカインは、胚の着床や妊娠の維持に密接に関わっている。これに関し、精漿中の生理活性物質の関与を示唆する報告がなされている。性交が子宮内膜組織中の免疫細胞サブセットに及ぼす影響につき検討した。【方法】正常性周期を有する不妊症婦人90例を対象とし、患者の同意のもと分泌期中期子宮内膜を採取し、NK細胞サブセットを測定した。同時に、子宮内膜採取周期における性交の有無とその時期を調査のうえ、異なる性周期間での子宮内膜NK細胞サブセットの変動と、性交が子宮内膜NK細胞サブセットに及ぼす影響につき検討した。【成績】①NK細胞サブセットは異周期間では必ずしも一定ではなかった。②性交の有無によりNK細胞サブセットを比較した場合、明らかな相違は認められなかった。③性交のあった患者34例について、最終性交日から子宮内膜採取日までの日数と免疫細胞サブセットとを多項式回帰分析で検討したところ、CD56+NK細胞の比率ならびにCD16+CD56-NK細胞の比率との間に有意な負の相関(いずれも $R^2=0.2$, $p<0.05$)が認められた。【結論】分泌期中期子宮内膜のNK細胞サブセットは必ずしも一定ではないこと、さらに、性交が子宮内膜へのNK細胞のリクルートメントを促す可能性があることが示唆された。

14. 先天的甲状腺機能低下症 *rdw* 雄ラットにおける Thyroxine 投与による不妊性からの回復

○梅津元昭, 江 金益, 佐藤英明
(東北大学院農学研究科動物生殖科学分野)

rdw ラットは先天的甲状腺機能低下症の小人ラットであり、甲状腺ホルモンである thyroxine(T4), triiodothyronine (T3) の血中レベルおよび下垂体および血中の GH, PRL レベルが顕著に低く、両性とも不妊である。また、雄 *rdw* ラットは成熟時に著しく成長が劣るにもかかわらず、同週齢の正常雄ラットより精巢実重量が有意に大きくなる現象が観察されている。江

(Jiang) らは、成熟 *rdw* 雄ラットに T4 を 3~6 カ月投与し、発情前期の正常雌ラットに配したときに交尾率が 26~43% までに改善されることを報告した (Biol. Reprod. 63. 2000)。今回は未成熟 *rdw* 雄ラットに T4 を投与し、その後の妊娠性について調べた。【方法】生後 3 週齢の未成熟 *rdw* 雄ラットに T4 (20 μ g/100g. bw) を 4~6 週齢までは腹腔内に注射で、以後は飲水で 19 週齢まで投与し、成長、受胎性について調べ、19 週齢で解剖し、精巢重量を秤量し、血中 T4 レベルを測定した。【結果】T4 投与により *rdw* 雄ラットの成長は有意差のないまでに回復した。19 週齢までに発情前期の正常雌ラットと交配し、6/6(100%)の受胎を示し、全て正常に産子を生産し、未成熟期からの T4 投与は *rdw* 雄ラットの妊娠性を著しく改善することがわかった。精巢重量は無処理の肥大した *rdw* ラットのそれより有意に増加した。*rdw* ラットに生後 3 週齢からの T4 投与では精巢重量の増加を正常のレベルまでに抑制できないことから、未成熟 *rdw* ラットで T4 に精巢(セルトリ細胞)が反応できる臨界期は 3 週齢以前に存在することが判った。血中 T4 レベルは正常ラットのそれと差がなかった。

15. NOD-SCID マウスへの移植によるヒト卵巣組織の卵胞発育

○佐藤由美, 寺田幸弘, 野田隆弘
村上 節, 八重樫伸生, 岡村州博

(東北大産婦)

【目的】異種間卵巣移植後のヒト卵胞発育について。【方法】実験は当院倫理委員会の承認のもと行った。8 週齢の NOD-SCID (non obese diabetic-severe combined immunodeficiency) マウスの卵巣除去後、帝王切開時に同意を得て採取したヒト卵巣組織切片をマウス背部皮下に移植。移植後 10 週より FSH 5IU/ml を 14 日間腹腔内投与。移植卵巣を摘出、免疫組織学的に検討。【結果】ヒト卵巣が生着したマウスは、胞状卵胞までの発育を確認。血清 E₂ 高値、顆粒膜細胞 Ki67 染色陽性。【結論】ヒト卵巣皮質はマウスに生着し、ゴナドトロピン刺激にて増殖能を有する胞状卵胞までの発育を示した。異種間卵巣移植において卵子獲得の可能性のあることを示唆された。

16. 幼少時の鼠径ヘルニアに起因する卵管閉塞の 2 例

○高瀬 恵, 熊谷 仁, 村田昌功

福田 淳, 児玉英也, 田中俊誠

(秋田大産婦)

卵管性不妊の多くは子宮内膜症やクラミジア感染症によるものが多いが, HSGでの異常所見の原因が特定できない場合がある。今回我々は鼠径ヘルニア手術に起因する卵管閉塞の2例を経験したので報告する。【症例1】27歳, 原発性不妊6年, 11歳で左鼠径ヘルニア手術の既往がある。HSGでは左卵管周囲癒着を認めた。クラミジア抗体は陰性, CA125は軽度上昇。腹腔鏡では, 左卵管は左鼠径管内に陥入し疎通性を認めず, 右卵管は疎通性を認めたが強く屈曲していた。【症例2】31歳, 原発性不妊2年, 1歳3カ月に左鼠径ヘルニア手術を受けている。クラミジア抗体は陰性, 子宮内膜症の所見はなく, HSGでは両側卵管閉塞と子宮腔内癒着を認め, 子宮鏡では卵管孔が1つであった。腹腔鏡では左卵管, 左骨盤漏斗韧带が左鼠径管内に陥入し, 左卵巣を認めず子宮は左側に偏位していた。右卵管に疎通性はなかった。【まとめ】卵管性不妊には鼠径ヘルニア手術に起因する場合がある。診断には腹腔鏡が有用と考えられた。

17. ステロイド単独投与により排卵が可能であったPOFの1例

○森田順子, 松崎幸子, 寺田幸弘

村上 節, 八重樫伸生, 岡村州博

(東北大産婦)

【症例】K.I, 32歳, 4妊1産。【主訴】習慣流産。【既往歴】29歳, 卵巣嚢腫核出術。【月経歴】初経14歳, 周期整。【妊娠分娩歴】28歳, 帝王切開術。29歳32歳時に計3回の自然流産。【現病歴】2月初診。検査にて抗核抗体80倍。8月無月経挙児希望にて再来。FSHは59.2IU/ml, 2回目32.3IU/ml。Kaufmann療法, GnRHa療法及びhMG-hCGにて排卵誘発を行ったが無効。再検査にて抗核抗体160倍, 抗甲状腺抗体陽性で橋本病と診断された。経過と検査結果より自己免疫性 premature ovarian failure と診断しステロイド5mg~10mg/日を投与。その後排卵を確認。本症例は少量のステロイド療法が有効であった。

18. 凍結胚移植時の内膜肥厚度, 形態と妊娠率の検討

○佐藤智子, 千葉せつよ, 福永憲隆

拝郷浩佑, 京野廣一

(レディースクリニック京野)

【目的】ホルモン補充療法が内膜の厚さや形態に影響して妊娠率に差を生じるものなのかを検討した。【対象・方法】H11. 7月からH12. 4月までに凍結胚移植を行った42症例46周期を対象とし, 内膜肥厚測定は経腔超音波断層法で移植時に行った。内膜形態は木の葉状をPattern I, 内膜の境界不鮮明で均一をPattern IIとした。【結果・結論】妊娠率はエストラダーム(E)36.4%, プレマリン(P)35.7%, 自然(N)周期23.8%となり, 明確な差はないもののホルモン補充療法が有効と考えられた。ET時内膜の厚さは, 妊娠群でE 12.6 ± 4.2 (mm), P 10.3 ± 0.6 , N 9.4 ± 1.5 , 非妊娠群でE 11.8 ± 3.2 , P 9.4 ± 1.9 , N 10.8 ± 2.5 となり, 子宮内膜の厚さに有意差は認められなかった。ET時内膜形態の出現率頻度は, Pattern IよりPattern IIが高かった。

19. 反復AIH施行症例における妊娠成立寄与因子に関する検討

○葛西剛一郎, 樋口 毅, 福井淳史

木村秀崇, 藤井俊策, 齋藤良治

(弘前大産婦)

【目的】配偶者間人工授精(AIH)を複数回施行し妊娠が成立した症例において, 妊娠成立, 非成立周期それぞれにおける内分泌因子, 精子性状などを比較検討した。【方法】平成9年4月から平成12年9月までの間に弘前大学医学部附属病院産婦人科で配偶者間人工授精(AIH)を複数回施行し, 妊娠が成立した24症例, 99周期を対象とした。精子調整は密度勾配法で行い, AIHは子宮腔内精子注入法で行った。AIHの施行日は経腔超音波断層法による卵胞径, 子宮内膜厚の計測, 頸管粘液性状検査および尿中LH定性検査などの結果を考慮して決定した。これらAIH治療周期における内分泌学的検査値, 媒精に用いた調整精子の性状などにつき妊娠成立周期と非成立周期とで比較検討した。なお, 血清エストラジオール(E₂), プロゲステロン(P₄), LHはイムライズ(NDPC)で, 調整精子の形態はPapanicolou染色後の塗抹標本の鏡検で, 精子機能はSQA-IIB(Jaffco)でそれぞれ測定した。【結果】卵胞径, 子宮内膜厚, hCG投与量, 総運動精子濃度, 精子形態, 血清E₂, 血清LHなどに関しては妊娠成立, 非成立周期間で有意差は認められなかった。施行当日でのP₄値(ng/ml, 平均値±標準偏差)は妊娠成立周期, 非成立周期でそれぞれ 1.89 ± 1.56 , 1.30 ± 0.92 であり, 妊娠成立周期で有意に高値であった。またP₄当日/前日比で算出した上昇度もそれぞれ 3.81 ± 0.65 , 1.73 ± 1.29

と有意に高値であった。【結論】AIH 施行に際しては、施行前日、ならびに当日の P_4 値を充分参考にすることが妊娠成立を予測する上で最も有意義なことが示された。

20. 精子受精能における Diff-Quik 染色の有用性の検討

○大宮由紀, 青野展也, 吉田仁秋

(吉田レディースクリニック)

【目的】Conventional-IVF における受精の失敗を回避するために、精子機能検査は重要である。より簡便で迅速な精子機能検査として Diff-Quik 染色による acrosome 評価を試み受精率との比較検討を行った。【方法】当院にて Conventional-IVF を行った 30 症例と ICSI を施行した 18 症例において、Paul らの方法を基に intact acrosome をもつ精子の割合を 40% を境とし、受精率を比較検討した。【結果】Conventional-IVF においては intact acrosome 40% 以上の群と 40% 未満の群の受精率に有意差がみられた。ICSI においては、両群に有意差はみられなかった。Diff-Quik 染色は有用であることが示唆された。

21. 卵胞液中一酸化窒素が精子に及ぼす影響

○東梅久子, 吉崎 陽, 利部輝雄

(岩手医大産婦)

【目的】卵胞液中の一酸化窒素 (NO) が精子運動能に及ぼす影響について検討した【対象と方法】体外受精・胚移植を目的とした採卵時に得られた 77 症例の卵胞液を対象とし、NO は Griess 法 (TCL-NOX1000) にて測定した。NO が精子運動能に及ぼす影響は正常所見精子を swim up 後、20% 卵胞液を添加し 24 時間培養後の精子運動率にて評価した。【成績】1) 採卵時の卵胞液量、卵成熟度、血清中 E_2 , P_4 , 卵胞液中 NO 濃度には相関がなかった。2) 卵胞液中 NO 濃度を $30\mu\text{M}$ 未満, $30\sim 50\mu\text{M}$, $50\mu\text{M}$ 以上に分けると卵胞液中 NO 濃度 $50\mu\text{M}$ 以上の群で精子運動率は有意に低下した。3) 採卵時の黄体化顆粒膜細胞には iNOS および eNOS mRNA の発現が見られた。【結論】採卵時の卵胞液中 NO は精子運動能に対して抑制的に作用している可能性が示唆された。

22. 体外受精・胚移植における多精子受精の後方視的研究

○高橋重智, 酒井幹子, 齋藤恵美

立花郁雄, 村川晴生, 飯田修一

森 滋, 鈴木雅洲 (スズキ病院)

多精子受精は様々な要因で発生すると考えられる。我々は、多精子受精について後方視的に検討した。当院施行の Conventional IVF 1694 採卵周期を対象とし、前核を 3 コ以上認めたものを多精子受精卵と判断した。検討の結果、卵あたりの多精子受精率は 9.0% ($1,430/16,247$)。精子数・運動率において有意差を認めず、年齢・原因等では差は認めなかった。多精子受精率が 10% 以下群 ($n=211$) と 40% 以上群 ($n=65$) の総 hMG 投与量は $2,167\pm 747$ v. s $2,732\pm 928$ と差は認めず、採卵数にて 15.8 ± 6.2 v. s 5.0 ± 3.1 と有意差を認めた。hMG 反応不良群にて、多精子受精の割合が多いことから、卵の質的低下との関連が示唆された。多精子受精は要因にて起こっていると思われる。

23. 凍結融解精巣内精子を用いた反復 ICSI の有効性

○福永憲隆, 千葉せつよ, 佐藤智子

拝郷浩佑, 京野廣一

(レディースクリニック京野)

【目的】反復外科手術を避けるための精巣組織凍結融解後精子の ICSI と新鮮精巣精子の ICSI で同様な成績が得られるのか否か、また累積妊娠率について検討した。【対象・方法】1996 年 4 月より 2000 年 9 月までに当院を受診した男性不妊患者で精巣生検を行なった 66 症例で新鮮精巣精子を使用した 37 症例、凍結精巣精子を使用した 18 症例について検討した。【結果】精巣生検では精子が回収できた症例と回収できなかった症例で FSH (12.9 vs 21.9) と Jonsen's score (6.5 vs 2.5) において有意な差が認められた。新鮮精巣精子と凍結精巣精子の ICSI では受精率 (63.9%, 63.7%), 分割率 (87.1%, 93.1%), 妊娠率 (31.6%, 25.0%) で差のない同様な成績が得られた。凍結精巣精子を使用した反復 ICSI では 3 回目まで妊娠が確認でき、症例あたりの妊娠率は 54.1% となり、その後は 5 回までに妊娠は確認できなかった。

第 56 回 日本不妊学会九州支部会

日時：平成 12 年 11 月 19 日（日）9:00～11:00

場所：熊本県医師会館（熊本市）

1. 当科における過去 5 年間のクラミジア感染症の検討

○湯元康夫，江上りか，山本伸一
永田英明，安藤文隆，野崎雅裕
中野仁雄（九州大産婦）

【目的】近年，性行為感染症であるクラミジア感染症の増加が問題となっている。そこで，当科外来におけるクラミジア感染症の実状とその背景を調査し検討した。【方法】対象は 1995 年 1 月から 2000 年 8 月までに血中抗クラミジア抗体を検査した症例で，年齢・症状・主訴・診断名・子宮腔部細胞診所見を検討した。【結果】234 症例中血中抗クラミジア抗体陽性例は 87 例，陽性率 37.2% であった。診断別の陽性率は，不妊症 18.8%，子宮外妊娠 33.3%，子宮付属器炎 60.6% であった。スメア異常例のうち抗体陽性例は 68.2%，背景が dirty である例の抗体陽性例は 50.0% であった。腹痛を有する症例では 44.8%，有しない症例では 27.9% であった。年齢別では陽性者のピークは 33 歳，中央値は 32 歳であった。【結論】無症状のものでも 27.9% の陽性率があることから，スメア異常およびスメア背景が dirty である場合や，HSG 施行前には，積極的に検査を行った方がよいと考えられた。

2. 不妊治療中に流産となった患者の心理

○品矢悦子，原井淳子，指山実千代
宇津宮隆史（セント・ルカ産婦）

【目的】不妊治療で妊娠したが流産した患者は，妊娠の喜びが大きいとため，流産の悲しみはより深いものと考えられた。そこで，流産した患者の精神的援助のため，経過中の心理状態を調査した。【対象・方法】当院で不妊治療後，妊娠したが流産した患者に対し，面接質問紙法にて心理調査を行った。【結果】告知時は，ショックだったが 86% と多いが，流産を覚悟していた患者も 53% いた。他に，夫や赤ちゃんに申し訳ない，自分を責めたという意見もあった。退院後は，また流産するのではないかとと思うが 86% と多く，次の妊娠や治療はできるのだろうか，諦めた方が良いのだろうかという意見もあったが，73% の患者は，治療意欲，挙児希望は強くなっていた。【結論】告知時は，精神的閉塞性が

強く，その心理的開放が必要と思われた。退院後は，より不妊治療の妊娠，流産に対する関心が高まるため，情報提供，および長期的な患者とのかわり合いが必要となってくると考えられた。

3. 超音波造影剤（レボピスト）による卵管疎通性検査

○桑波田理樹，沖 利通，山崎英樹
中江光博，丸田邦徳，中村佐知子
堂地 勉，永田行博（鹿児島大産婦）

子宮卵管造影法（HSG）は最も一般的な卵管疎通性検査であるが，放射線被曝と疼痛の欠点がある。最近，X 線が不要な超音波造影剤による卵管疎通性検査が行われてきている。我々は超音波造影剤（レボピスト）を使用し，その利点等について考察し報告する。症例は，5 例の不妊症患者である。左右の卵管間質部疎通性，左右卵巣拡散，ダグラス窩拡散，使用後の副作用などについて，レボピストと HSG および子宮鏡などの所見を比較した。卵管描出容積は平均 8.75ml，左右の卵管間質部疎通性は右 50%，左 100%，左右卵巣拡散は右 50%，左 75%，ダグラス窩拡散 75%，副作用は疼痛 25%，発熱 0% であった。卵管疎通性に関しては HSG とほぼ一致したが卵管峡部膨大部の描出は容易でなかった。超音波造影剤による検査は簡便かつ副作用は少ないが，卵管膨大部峡部の描出は容易でなく，これらの観察についてはさらなる工夫が必要である。

4. 加齢が透明帯厚におよぼす影響

○中江光博，沖 利通，山崎英樹
桑波田理樹，堂地 勉，永田行博（鹿児島大産婦）

【目的】加齢により妊孕性が低下することはよく知られている。我々は，卵・初期胚の透明帯厚と年齢との関係を検討し，若干の知見をえたので報告する。【方法】対象は当科で過去 3 カ月間に IVF-ET を受けた 12 症例 18 周期である。採卵時，受精 18 時間後，受精後 24 時間毎に卵形態観察し，透明帯厚をモニター上で計測した。症例を 20 歳代（A 群），30～34 歳（B 群），35～39 歳（C 群），40 歳以上（D 群）の 4 群に分類し，統計学的有意差検定を行った。【成績】前核期および 4 細胞期において，A 群とその他の群に有意差を認め，20 歳代では透明帯厚が有意に薄かった ($p < 0.001$)。また，4 細胞期胚において，30 代前半に比較して 40 歳以上の症例の透明帯が厚い傾向がみられた ($p = 0.080$)。【結

論】未受精卵においては加齢は透明帯厚に影響を与えない。前核期以降では、30歳を境に透明帯厚が有意に厚くなり、4細胞期胚以降では、40歳を境に透明帯厚が大きくなる可能性が示唆された。

5. IVF (ICSI)-ET 後の子宮内外同時妊娠(頸管妊娠)の1例

○久末知子, 山口リエ, 末永義人
 本田律生, 大場 隆, 松浦講平
 岡村 均 (熊本大産婦)

体外受精・胚移植をはじめとする生殖補助技術(ART)の普及によって、子宮外妊娠が増加してきている。それとともに、子宮内外同時妊娠の頻度も増加しており、その多くは卵管妊娠であるが、今回我々は、子宮頸管妊娠との子宮内外同時妊娠を経験した。症例は40歳の男性因子不妊患者で、無精子症のため他医にて顕微授精を行い、5月5日に3個の子宮内胚移植(ET)を受けた。尿中hCG陽性確認後、少量の性器出血が持続していたが、近医産婦人科にて経過観察されていた。6月3日より性器出血が増加するため、6月4日(ET後30日)前医を受診し、頸管妊娠を疑われ当科に緊急搬送された。搬送時、バイタルサインは安定していたが、外出血が著明で、陰鏡診では頸管内から外子宮口にかけて暗赤色の凝血塊と組織塊の突出を認めた。超音波断層法では、子宮体部及び子宮頸管内に各々胎児心拍を伴う胎嚢(長径19mm)を1つずつ認め、子宮内外同時妊娠と診断した。輸血用血液を確保し、頸管筋層内にピトレッシン8Uを局注後、胎盤鉗子及び鈍匙鉗子にて頸管内の妊娠産物を除去した。頸管内からの出血は殆ど認めず、頸管筋層内にメソトレキセート10mgを局注し手術を終了した。子宮及び正所性胎児を温在し得た貴重な症例を報告する。

6. 不妊因子別および回数別にみたARTの成績

○平井香里, 工藤英子, 熊迫陽子
 佐藤真紀, 長木美幸, 広津留恵子
 宇津宮隆史 (セント・ルカ産婦)

【目的】体外受精-胚移植治療(IVF)において妊娠率は様々な因子と関連しており、不妊因子によって妊娠率は異なってくる。今回我々は患者の不妊因子別の妊娠率、そのIVF施行回数別に得られる妊娠率を比較し不妊因子と妊娠率の関係を検討した。【方法・結果】対象は1992年6月から1999年12月迄に採卵を施行し当該周期において胚移植を行なった3,664周期で、不妊

因子は①原因不明群(30.5%)、②男性因子群(29.3%)、③卵管因子群(2.60%)、④子宮内膜症群(11.8%)、⑤抗精子抗体陽性群(2.3%)であった。中でも男性因子群には回を重ねた妊娠困難例が最も多く含まれていた。妊娠率は各々で10回迄は一定して得られていた。男性因子群は回を重ねて妊娠する確率は高かった。しかし、原因不明群では13回以降の妊娠はみられなかった。抗精子抗体陽性群は最高11回迄のIVFが施行されたが殆どの回で妊娠は得られていた。

7. Prospective randomized study DAY3ETとDAY5ETの臨床的比較検討

○長木美幸, 平井香里, 工藤英子
 熊迫陽子, 宇津宮隆史

(セント・ルカ産婦)

【目的】近年、胚盤胞期移植の様々な報告がある。今回我々はDAY3ETとDAY5ETを比較し、その有用性を検討したので報告する。【方法】1999年9月1日から2000年7月19日までに当院でconventional IVF、ICSIを行った261症例、331周期を対象とし、prospective randomized studyで従来法のDAY3ETと新しいDAY5ETの比較を行った。GIFT、ZIFTや凍結胚移植は除外した。【結果】DAY3ETとDAY5ETで妊娠率には差が見られなかった。流産率はDAY5ET群でやや高かったが有意差は認められなかった。キャンセル率はDAY5ET群で有意に高い結果となった。【結論】妊娠率、流産率は従来法と比べて差は無く、胚盤胞期移植法については今後症例の選択、適応などについての検討が要された。

8. 子宮筋腫核出術後のESLLの有用性の検討

○徳田論道, 本田志寿恵, 今石裕人
 友成廉平, 宮嶋 諭, 牛嶋公生
 堀 大蔵, 杉山 徹, 西田 敬
 嘉村敏治 (久留米大産婦)

【目的】近年、婦人科領域での腹腔鏡下手術は繁用されるようになり、その応用としてEarly Second Look Laparoscopy(以下ESLL)を行うことがある。当科でも妊孕性温存の必要症例には、卵巣嚢腫摘出術や子宮筋腫術後のESLLを施行している。今回そのESLLの有用性について検討した。【成績】対象は過去5年間に筋腫核出術を施行した69症例中ESLLを行った28症例である。ESLLの腹腔内所見は、癒着無し7症例、癒着有り22症例であった。癒着は術後1週間以内であれ

ば、容易に剥離できたが、それ以上では剥離が困難な症例も認められた。【考案】筋腫核出後は、創部よりの出血により癒着を生じることが多く、そのため術後の不妊の原因となる可能性が推測される。また、手術の時期は剥離の容易さから、術後早期が望ましい。【結論】筋腫核出後の骨盤内癒着は不妊症の原因となるため、ESLL は妊孕性温存のためには有用と考えられた。

9. 腹腔鏡前後の患者の心理状態や精神的ストレス

○柴田令子, 實崎美奈, 指山実千代

宇津宮隆史 (セント・ルカ産婦)

【目的】不妊治療検査における、腹腔鏡検査前後の患者の心理状態の変化を知る。【対象・方法】当院で不妊治療中の腹腔鏡検査を受けた患者による質問紙調査。【結果】検査を勧められた時にすぐに受容できた者は 74% で、その理由は、「治療に絶対必要」「自分自身の体を知りたい」であったが、受容できない理由は、「検査に対する恐怖感」が最も多かった。入院後は、検査結果に対して不安を感じている者が最も多く半数以上を占め、手術後の痛みや、麻酔に対して不安を感じている者は少なかった。【考察】不妊症患者は、検査・治療に対して積極的であるが、入院後は検査結果に最も不安を感じており、検査や麻酔に対する不安より、不妊原因の不安のほうがより強いと考えられる。

10. 当科における子宮鏡下手術の現況

○沖 利通, 桑波田理樹, 山崎英樹

中江光博, 堂地 勉, 永田行博

(鹿児島大産婦)

【目的】子宮鏡下手術は低侵襲性手術として一般化しつつある。特に、粘膜下筋腫治療において子宮鏡下手術の果たす役割は大きい。今回、当科における子宮鏡下手術の現況につき報告する。【対象】対象は過去 5 年間に当科で子宮鏡検査および手術を行った 200 例である。【結果】当初、子宮体癌の頸部浸潤などの診断を目的として検査を行ってきた。1995 年前からは不妊症患者を対象とした診断、ポリープ切除。1998 年前からは、粘膜下筋腫核出まで対象範囲が広がり、単純子宮摘出を選択されていた症例も子宮鏡下手術で臨床症状や所見が改善されるようになった。また、子宮内膜ポリープ以外原因のない不妊患者に子宮鏡下ポリープ切除を積極的に応用し妊娠に至るケースもしばしば経験している。【結論】子宮鏡検査・手術は、子宮腔病変の捕捉

だけでなく、婦人科疾患や不妊治療の一技術としての位置を確立しつつある。

11. 治療に苦慮した hypergonadotropic hypogonadism の 1 例

○山崎英樹, 沖 利通, 中江光博

桑波田理樹, 堂地 勉, 永田行博

(鹿児島大産婦)

【はじめに】hypergonadotropic hypogonadism (HH) の排卵誘発は困難を極める。我々は、GnRH agonist + hMG による排卵誘発と IVF-ET で妊娠した症例を経験したので報告する。【症例】症例は 32 歳。子宮内膜症のため、25 歳時右卵巣摘出 + 左卵巣部分切除し、術後順調であった月経がなくなった。数カ所の産婦人科で治療不可能と診断され当科受診。血中 FSH: 58.5mIU/ml と HH であった。Kaufmann 療法後、酢酸 nafarelin 600μg, hMG (総投与量: 13,800IU) 投与し両側卵管閉塞のため IVF-ET 施行した。2 週間後に妊娠を確認。妊娠 6 週、多量の性器出血を認め緊急入院。入院時血中 P₄: 5.3ng/ml のため progesterone 補充し、現在妊娠継続中である。【考察】HH の妊娠例の報告は少なく、また luteal support 法についてもいまだ確立したものはない。【結論】高度卵巣機能不全の症例では、初期流産も多く、特殊な luteal support 法で厳重に管理する必要があると考えられる。

12. 内膜症治療薬 (MJR-35) が有効であった子宮内膜症の 1 例

○下村 修, 藤下 見, 北島道夫

宮村泰豪, 蓮尾敦子, 濱崎哲史

増崎英明, 石丸忠之 (長崎大産婦)

子宮内膜症に対する薬物療法としては、現在 GnHR-analogue 療法が高頻度に用いられているが、今回、治療薬 (MJR-35) を投与し、second look laparoscopy (SLL) で病巣を比較できた 1 例を経験したので報告する。患者は 28 歳。下腹痛を主訴に 8 月 12 日、近医を受診し、下腹部腫瘤を指摘された。挙児希望もあるため、精査目的で当科を紹介され、内膜症の診断で、同年 11 月 5 日腹腔鏡を施行した。膀胱子宮窩、腹壁腹膜および横隔膜下面にわたり広範囲にヘモジデリンの沈着を認め、内膜症 III 期であった。左チョコレート嚢胞に対してはアルコール固定を行った。術後 MJR-35 の投与を開始し、投与期間中、不正性器出血を認めたが、下腹痛などの臨床症状は改善した。6 カ月の

投与終了後、6月22日SLLを施行した。初回時に認められた横隔膜下面のヘモジデリン沈着は完全に消失し、膀胱子宮窩にyellow-brown病変を軽度認める程度に改善していた。

13. GnRH 単独欠損症の2症例

○松木俊二，植原久司，奈須家栄

宮川勇生

(大分医大産婦)

【目的】無月経は種々の原因によって生じるが，gonadotropin releasing hormone (GnRH) 単独欠損によると考えられる無月経の2症例を経験したので報告する。

【症例】症例1は15歳1カ月(高校1年生)で，症例2は24歳1カ月(主婦)。両者とも既往歴・家族歴・生活歴に特記事項なし。両者ともluteinizing hormone (LH)，follicle-stimulating hormone (FSH)の基礎値はともに測定感度以下でGnRH testによりLH，FSHともに反応は見られなかった。しかし，GnRH 100 μ gを1日2回，10日間連続皮下注射後に再びGnRH testを行ったところ，LH，FSHともに基礎値は上昇し，反応も改善を認めた。その他の下垂体機能検査および甲状腺，副腎皮質機能検査では異常は認めなかった。【結論】両者ともGnRH連続投与により下垂体でのGn合成・分泌機能が回復し，その他の下垂体機能には異常を認められないことからGnRH単独欠損症と考えられた。

第123回日本不妊学会関東地方部会

日時：平成13年2月17日(土)13:00~18:30

場所：ツムラ本社ビル(東京都)

1. 卵巣過剰刺激症候群(OHSS)における腹水濾過濃縮再灌流法の有用性

○伊藤嘉奈子，安部裕司，間崎和夫

渋井幸裕，塩川素子，祖母井英

中野由起子，雀部 豊，久保春海

平川 舜

(東邦大第1産婦)

酒井 謙

(同 腎センター)

【目的】重症の卵巣過剰刺激症候群(OHSS)の治療に対し，腹水濾過濃縮再灌流法を用いたextracorporeal ultrafiltration method (ECUM)が有用とされている。

我々は，腹水濾過濃縮液を血管ではなく腹腔に戻す腹水濾過濃縮再灌流法(以下再灌流法)を施行した症例を経験したので報告する。【対象】輸液療法，低用量

ドーパミン療法に抵抗を示した5症例を対象とした。

【結果】年齢は26歳から33歳(平均28.3 \pm 3.2歳)，再灌流法による平均除水量は2,920 \pm 661ml(2,300~4,000ml)であった。再灌流法前後の検査所見の変化は，Hb値は12.5 \pm 1.7g/dlから11.7 \pm 1.1g/dl，Hct値は36.9 \pm 5.2%から34.5 \pm 3.2%，WBC値は11,800 \pm 1,751/ μ lから9,900 \pm 2,869/ μ l，Alb値は3.0 \pm 0.4g/dlから3.2 \pm 1.4g/dlに改善した。OHSS症状はいずれも再灌流法施行直後に改善した。5症例のうち2例は双胎分娩，1例は単胎分娩，あとの2例は流産した。【考察】腹水濾過濃縮再灌流法は腹水を濾過濃縮し再度腹腔に戻すために，体に対してより自然であるうえ重症のOHSS症例に対し有用な治療法であると考えられた。

2. 多発性巨大筋腫に対し，TCRを3回施行後妊娠した1症例

○福嶺紀隆，紅露有子，中田敏英

白田三郎，伊東宏絵，鈴木良知

井坂恵一，高山雅臣

(東京医大産婦)

今回我々は，過多月経を主訴とし来院，Hb 5.8g/dlと重症の貧血を呈し，経腔超音波にて子宮粘膜下に直径70mmの筋腫を認めた症例に対し，3回の経頸管的切除術(TCR: transcervical resection)を行い健児を得ることができたので報告する。1回目のTCRは，ホルモンおよびGnRHa療法にて止血，貧血改善後に行い35gの筋腫核を削除した。その約1年後に貧血の再発，筋腫の増大を認めたため，2回目のTCRを行い45gの粘膜下筋腫を削除した。その後，妊娠を許可し外来にて半年おきに経過観察するも妊娠せず，再度粘膜下筋腫および筋層内筋腫の増大を認め，貧血を認めるようになったため，3回目のTCRと開腹による筋腫核切除術を施行した。その後は月経量も正常化し，3回目のTCR後約2年で妊娠した。妊娠経過は順調で，妊娠37週に帝王切開にて健児を得た。

3. 卵管結紮術後に，腹腔鏡下卵管峡部端々吻合術を行い，懐妊した1例

○山田清彦，上条隆典，安藤一道

水沼英樹，峯岸 敬

(群馬大産婦)

症例は3回の妊娠分娩のち卵管結紮術を受け，離婚さらに再婚が決まり挙児希望にて近医よりの紹介にて受診した。十分な説明の後，本人の意向を確認し，腹腔鏡的な卵管再疎通術を行った。AESOP2000にて視野を確保し，左右に5mmと3mmのポートを一対置

き、卵管閉鎖部を vasopressinn 局注ののち切断、近位遠位の断端を #6-0 vicryl で全層縫合2針で縫合し、卵管間膜を #4-0 PDS で閉鎖した。術後約半年後の HSG では、右側は開存し、左側は卵管口部で造影剤が滞っていた。術後約1年で、左黄体を認める周期に自然妊娠が成立した。この胎児は Prune-belly 症候群で流産し、現在新たな妊娠が正常な経過を辿っている。体外受精胚移植の発達などにより、卵管再建術は減少しているが、自然な形で妊娠を望む人も潜在的には多いと思われる。手術侵襲が小さく、術後成績も開腹術に劣らないとされる腹腔鏡下卵管再建術は、今後もっと試みられることが期待される。

4. 経膈的腹腔鏡 (THL) によるクラミジア (CT) 抗体陽性婦人の卵管病変の評価

○平野由紀, 出居貞義

(上都賀総合病院産婦)

柴原浩章, 藤原寛行, 種市明代

鈴木達也, 山内有子, 角田哲男

高見澤聡, 佐藤郁夫 (自治医科大学産婦)

【目的】CT 感染をはじめとする卵管性不妊症の診断上、腹腔鏡検査は有用とされる。今回我々は、transvaginal hydrolaparoscopy (THL) 所見と CT 抗体価の関係を分析した。【対象と方法】患者血中 CT 抗体価 (IgG/IgA) は ELISA 法で測定した。陽性者には薬物療法の後 HSG を行った。THL は 49 症例に施行したが、うち CT 抗体陽性は 14 症例であった。【結果】CT 抗体陽性患者では、卵管通過障害・卵管周囲癒着・異所性開口・卵管留水腫などを THL で診断できた。卵管周囲癒着は 59.3% (16/27 卵管) と高率に認めた。IgG 抗体価が 3 以上の患者において卵管通過障害を 66.7% (10/15 卵管) に認めたが、これは 3 未満の患者における 8.3% (1/12 卵管) に比べ有意に高率であった ($p = 0.0022$)。【考察】CT 感染既往婦人においては、HSG で診断困難な卵管因子を同定するため、その抗体価にかかわらず THL による診断が有用であった。

5. 男子不妊を主訴とした 46XY q- の 1 例

○湯村 寧, 菅野ひとみ, 小川毅彦

齋藤和男, 佐藤和彦, 澤田卓人

穂坂正彦 (横浜市大泌尿器)

岩崎 皓 (横浜赤十字病院泌尿器)

Y 染色体長腕の欠失 (46XY q-) は稀な疾患である。今回我々は男子不妊の患者に本疾患を認めたので若干

の文献的考察を加え報告する。患者: 34 歳。主訴: 2 年 5 カ月の不妊。1996 年 10 月に結婚し 1 年間の避妊後妊娠せず。3 月 2 日当院泌尿器科男子不妊外来を受診した。身長は 167cm, 体重 67kg。二次性徴は正常で体毛・恥毛も男子様。精巣容積右 12ml, 左が 15 ml。精管, 精巣上体, 前立腺に異常なし。内分泌検査にて FSH の軽度上昇が認められる以外は異常なし。精液検査では無精子症であった。各種負荷テストでは下垂体・性腺の内分泌機能に異常なし。精巣組織は Maturation arrest をみとめたが精細管の萎縮・基底膜肥厚・Leydig cell の過形成などはなかった。染色体の核型は 46XY だが Y 染色体長腕 11.2 以下の欠失があり 46XY q- と診断した。

6. FSH 高値患者における造精能の検討

○工藤貴正, 三浦一陽, 吉田 淳

永尾光一, 原 啓, 野沢英雄

西見大輔, 石井延久 (東邦大第 1 泌尿器)

【目的】血清 FSH 値が造精機能と強い相関を認める事が報告されている。我々は FSH 高値患者の造精機能を検討し報告した。【対象および方法】677 例の FSH 高値患者を閉塞性無精子症例を除外し検討した。【結果】FSH 値 15mIU/ml 以上例を 5mIU/ml で区分し検討したところ、35mIU/ml 以下では無精子症の発生頻度が強い相関 ($R^2 = 0.98$) を示したが、35mIU/ml 以上ではプラトーであった。また、精巣容積とも関係していた。非無精子症例群では無精子症群と比較し FSH の影響は少なかった。【結語】FSH 35mIU/ml 以下では非閉塞性無精子症の発生頻度と強い正の相関を認め定量的な検討が可能であった。FSH 異常高値であっても 10% 以上が非無精子症であった。

7. 日本人精巣の生後発達とベイシジン蛋白の発現

○湯浅譲治

(埼玉県厚生連幸手総合病院泌尿器)

外山芳郎, 前川真美子, 湯浅茂樹

(千葉大第 2 解剖学)

伊藤晴夫 (千葉大泌尿器)

正井基之 (帝京大市原病院泌尿器)

【目的】日本人精巣の生後発達を調べる。ベイシジン遺伝子欠損マウスでは無精子症となるが、ヒトでのベイシジン蛋白の発現パターンを調べてその機能を知ること。【対象】停留精巣患児 68 名の精巣のうち正常

発達していた20名の精巣を電子顕微鏡で観察。抗ヒトベシジン抗体で染色された7名の検体を免疫染色で調べた。【結果】日本人精巣の生後発達の特徴。精母細胞は4歳より、精子細胞は9歳から発達。セルトリ細胞結合装置は9歳で完成。筋様細胞は13歳で成熟。ライディヒ細胞は13歳で完成。ベシジン蛋白の局在。9歳までの精細管ではベシジン陽性反応なし。13歳で球形精子細胞まで分化し厚糸期精母細胞から球形精子細胞までの細胞膜と、それに接したセルトリ細胞膜に局在。【結論】日本人精巣の生後発達のパターンを示した。精母細胞、円形精子細胞セルトリ細胞においてベシジン蛋白が合成され、精子形成もしくは造精細胞の維持に必要な蛋白と考えられる。

8. Estrogen-rebound と GnRH-a を併用した新しい卵巣刺激法—Poor-Responder への応用 第1報—

○横田佳昌, 横田英巳, 横田美賀子
浅野目和広 (横田産婦医院)

【目的】当院の Poor responder (P.R) の患者に、Estrogen-rebound (E.R) と GnRH-a の flare-up を組合わせた新しい卵巣刺激法を応用して良好な成績が得られたので報告する。【対象・方法】当院で ART を施行した患者で採卵数4個以下であった Short-protocol (S-法) 7名, Long-protocol (L-法) 8名の計15名を P.R とし、月経周期5日目よりプレマリン 2.5mg を14日間投与した。プレマリン投与後4日目よりブセレリン 900mg/day と hMG 投与を同時に開始し総投与量、投与日数、卵胞数、採卵数 Estradiol (E_2) 値を前回の治療周期と比較検討した。【結果】1) 前回 S-法で卵巣刺激した7名の P.R の患者では、卵胞数、採卵数、 E_2 値はわずかな増加が認められ、1例が妊娠した。2) 前回 L-法で卵巣刺激した8名の P.R の患者では、卵胞数、採卵数、 E_2 値は有意に増加し、3例が妊娠した。【結論】E.R 周期と S-法の組合わせは、P.R に有用であると思われる今後症例を増やし検討していく予定である。

9. IVF, ICSI 症例における ET 後のホルモン値と luteal support に関する検討

○藤本見久, 藤原敏博, 末永昭彦
大井なぎさ, 小笠原綾子, 大須賀穰
矢野 哲, 堤 治, 武谷雄二
(東京大産婦)

GnRH を用いた IVF, ICSI 治療周期において、

luteal support の必要性は確立されているが、異なる protocol の比較については一致した見解がみられない。今回、1998年より2000年の3年間に当科において施行した IVF, ICSI (774 周期) について、luteal support と妊娠率の関係につき検討した。まず、プロゲステロンのみを補充した周期 (P support) の、ET 7日後のエストラジオール (E_2) 値と妊娠率を比較した。 $E_2 < 100\text{pg/ml}$ の症例では、それ以上の症例と比較して妊娠率は有意に低下していた。このような症例を次周期に2群に分け、一方に hCG を追加した (P+hCG support) ところ、P support 群に比べ妊娠率は有意に上昇した。このことより、P+hCG support は、P support で ET 後の E_2 値が低い症例に有効であることが示された。

10. GnRHα を併用しない簡易 HRT 法による凍結卵移植の成績

○佐藤芳昭, 長谷川剛志, 渡辺智子
鈴木麻理亜
(さとうやむきウイメンズクリニック)

最近では凍結卵保存の臨床応用が一般化しているが、症例によってはその成功率は必ずしも満足するものではない。また一般的な GnRHα を用いての方法ではコストも高くなり、患者負担も大きい。われわれはそのため自然排卵での胚移植を第一としているが、これで妊娠しない例や、PCO などのように排卵が自然では困難な例については、Gibbons らの方法に準じた、TTS (エストラーナ) を用いた HRT-ET を行った。結果として凍結融解し移植したものの67例であり、うち妊娠は18例 (26.9%) であった。方法論的には自然周期 ET で 21.1%, TTS・HRT 周期で 60.0% と良好な成績であった。TTS・HRT・ET は自然周期で着床しなかった例、高年齢で内膜の悪い例、PCO などの排卵障害を併発する例では有効な方法と考えられた。

11. 2種類の Gn-RH agonist 徐放性製剤投与時の体内動態と臨床効果との相関

○合阪幸三 (浜田病院)
越野哲郎 (東京大分院)
大岡史子, 貝原 学 (帝京大市原病院)
森 宏之 (帝京大産婦)

Buserelin 徐放性製剤 (スプレキア MP, B) は leuprorelin 徐放性製剤 (リュープリン 1.88, L) に比べて血中 estradiol 値が極端に低下しないことから、副作用

が発現しにくいとされている。そこで、この 2 種類の Gn-RH agonist を投与した際の血中各種ホルモン値、臨床効果を比較した。血中 gonadotropin および E_2 値は B に比べて L 投与群の方が有意に低下した。臨床効果は L の方が強かったが副作用の発現頻度も L で増加していた。体内動態では B は投与の方が初期放出が有意に多く、その結果その後の薬物放出速度は L の方が大きかった。懸濁直後の薬物放出試験でも L に比べて B では放出速度が有意に速かった。以上より両者に見られた臨床効果の違いは製剤設計の差によるものと考えられた。血中 E_2 値の抑制効果にも差が見られたことから、症例に応じた使い分けを行うことが必要であると考えられた。

12. 初回体外受精で受精ゼロ症例の検討

○児島孝久 (アモルクリニック)

通常の IVF での受精障害や、高度の精液不良例には ICSI が用いられる。しかし術前に IVF で可能と予測しても、実際には受精ゼロであった症例を検討した。対象は 2000 年 1 月～11 月当クリニックの ART (713 周期) 中、3 個以上の採卵できた 623 周期で、このうち通常の IVF が 264 周期、ICSI は 359 周期であった。通常 IVF を実施した 264 周期を対象とした。なお、採卵 2 個以下の 90 周期は女性因子を除くために対象外とした。通常 IVF 264 周期中、受精ゼロが 20 周期、低受精率 (~29%) 34 周期、中受精率 (30~59%) 52 周期、正常受精率 (60% 以上) が 158 周期であった。この受精ゼロ症例の SAMEN 所見を正常受精群と比較すると、精液は正常範囲であったが、濃度、運動率ともに有意に低値であった。精液所見が正常でも通常の IVF を実施すると受精率が低いグループが存在し、正常群と比して精子濃度、運動率が有意に低値であった。低受精群では妊娠例がほぼないことより、最初から ICSI が望ましいものの、この群を予め予測するのは不可能であった。

13. 再凍結胚による分娩成功例

○佐藤節子, 横田美賀子, 横田英巳
浅野目和広, 横田佳昌 (横田産婦医院)
荒木康久 (高度生殖医療技術研究所)
阿部宏之, 星 宏良
(機能性ペプチド研究所)

当院の胚凍結は、OHSS 予防や余剰胚の有効利用による妊娠率向上を目的として実施している。今回、

OHSS 予防のため前核期胚の全てを緩慢凍結法で保存し、後日ホルモン補充周期等に合わせて融解、体外培養 (IVM) させ、4 分割胚～胚盤胞を移植した。その余剰胚の再凍結胚移植による妊娠、出産に成功した一症例を報告する。緩慢凍結胚の様々な発育段階での移植を試みたが、着床しなかったため、桑実期胚移植の余剰胚をガラス化法で再凍結した。この再凍結胚を融解し、IVM にて胚盤胞まで発育させた 2 胚を移植したところ、2 胎嚢が確認され、順調な妊娠経過を辿り、36 週 5 日 (2000 年 11 月) で帝王切開にて健康な 2 女児 (1,854g, 2,248g) を得た。染色体核型はいずれも 46 XX で外表奇形は認められず、現在まで異常所見は認められていない。これまでに再凍結胚の形態を電子顕微鏡観察したが正常形態が保たれていた。ヒト胚がかなり過酷な状況下でも生存可能であることが示唆され、余剰胚の再凍結は有効な臨床応用につながると思われる。

14. 体外受精における各種培養液の臨床成績の検討

○中野由起子, 安部裕司, 洪井幸裕
伊藤嘉奈子, 祖母井英, 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】今回我々は培養液組成差によるヒト初期胚発育形態の検討を行った。【方法】対象は 2000 年 5 月から 11 月までに当院で IVF または ICSI を施行した 87 症例 87 周期とした。方法は long protocol における固定日採卵法で採卵後、各培養液で培養を行った。培養液は Irvine の HTF (HTF), Irvine の P-1 (P-1), Quinn's Advantage Cleavage Media (Quinn) の 3 種類を用いた。培養液の選択は無作為に行ない、HTF 48 例、P-1 19 例、Quinn 20 例であった。胚の形態学的評価は Day 2 で 2~4 細胞期、Day 3 で 4~8 細胞期でかつ Veeck 分類で Grade 1, 2 を良好胚とし、Day 2 で未分割、Day 3 で 4~8 細胞期未満、あるいは Veeck 分類で Grade 4, 5 を不良胚と評価した。【成績】受精率は 74.4% (361/485), 68.0% (100/147), 73.2% (134/183), 良好胚発生率は採卵数あたり 24.3% (118/485), 27.9% (41/147), 29.0% (53/183) で、受精卵あたり 32.7% (118/361), 41.0% (41/100), 39.6% (53/134) であった。不良胚発生率は採卵数あたり 28.2% (137/485), 183.4% (27/147), 19.7% (36/183) で、受精卵あたり 38.0% (137/361), 27.0% (27/100), 26.9% (36/134)

であった。【結論】各種培養液における発育胚形態の検討ではP-1とQuinnでHTFに比較して良好胚率が高く不良胚率が低い傾向を認めたが統計学的有意差は認められなかった。

15. 新しい培養液 (Sydney IVF) を用いた IVF-ET の治療成績

○高見澤聡, 柴原浩章, 鈴木達也
山内有子, 小原ひろみ, 角田哲男
佐藤郁夫 (自治医大産婦)
角田啓道 (同 付属病院臨床検査部)
平野由紀, 出居貞義
(上都賀総合病院産婦)

【目的】従来の患者血清添加 HTF にかえて, 新しいアルブミン添加培養液 (Sydney IVF) を用いた IVF-ET の治療成績を検討した。【方法】1996年1月~1999年5月に自家製 HTF を培養液として使用した113周期と, 1999年6月~2000年12月に Sydney IVF を使用した83周期を対象に, 培養卵あたりの受精率, 分割率, 分割胚あたりの良好胚 (Veek; G1+G2) 獲得率, ET 症例の着床率, 妊娠率について比較検討した。また, HTF, Sydney IVF 双方を用いた治療歴のある同一患者夫婦16組, それぞれ21治療周期についても比較検討した。【結果】Sydney IVF 使用により受精率 (73.8→80.2%), 分割率 (68.5→73.1%), 良好胚獲得率 (59.8→75.7%) は有意に改善し ($p<0.01$), 着床率 (12.8→16.0%), 妊娠率 (28.2→32.4%) の改善傾向を認めた。同一患者夫婦においても同様の結果を得た。【結論】従来の HTF に比較して採卵後2~3日目までの培養期間における Sydney IVF 使用の有用性が示唆された。

16. 精液パラメーターによる AIH 妊娠成立の予測—ROC カーブと多変量解析を用いた検討—

○小原ひろみ, 柴原浩章, 種市明代
田中寧子, 青谷利夫, 藤原寛行
小川修一, 高見澤聡, 大口昭英
佐藤郁夫 (自治医大産婦)

【目的】男性不妊症患者の AIH において, 妊娠を予測する精液パラメーターがどれであるかを検討する。【対象】1995年~1999年に AIH を施行した男性不妊症患者160人682周期。【方法】精子処理前と後に CASA を用い各パラメーターを測定し, 正常形態率は Kruger の方法に従った。合計36項目を検討した。【成績】

ROC カーブで解析したところ, 妊娠を予測するパラメーターは, 処理前正常形態率, 処理後の Rapid 率, 良好精子率, VAP, VCL, VSL の6項目であった。感度と特異度の和が最大となる cut off 値は, 15.5%, 25.5%, 25.5%, 63.65 μ m/s, 102.65 μ m/s, 52.25 μ m/s であった。これらを cut off 値以上であるか否かに分類し, Logistic 解析を行った。処理前正常形態率, 処理後 Rapid 率, 処理後 VCL が cut off 値以上である場合の妊娠の odds 比は, 2.2倍, 3.9倍, 3.2倍であった ($p=0.020, 0.029, 0.002$)。精子処理法, 妻年齢, 妻側不妊原因, 排卵誘発法で調製した odds 比も, ほぼ同様の値であった。【結論】男性不妊症の AIH では, 処理前正常形態率, 処理後 Rapid 率, 処理後 VCL が独立した妊娠の予測因子である。

17. SUPRASPERM SYSTEM[®] (Medi Cult) を用いた高橋ウイメンズクリニックにおける人工授精の成績

○高橋敬一, 西内あかね
(高橋ウイメンズクリニック)

【目的】MediCult 社製, 日本農産工業輸入販売の SupraSperm 法 (密度勾配遠心分離法) を使用した人工授精の結果を検討した。【対象】2000年の1年間, 24~28歳の234症例, 581周期を対象とした。【成績と考察】58例, 10%が妊娠した。内訳は, 自然周期で8.5%, セキシピット周期で9.1%, クロミフェン周期で9.2%, hMG 周期で14.7%だった。子宮外妊娠は3例5.2%, 流産は11例19.0% (外妊含む) だった。双胎は3例 (5.2%) で, 品胎は2例 (3.4%: hMG 周期) だった。39歳までは妊娠率が10%前後だったが, 40歳以上では2.1%と低下し, ART を考慮すべきと考えられた。hCG 投与時の子宮内膜が7mm未満では妊娠は1例 (1.4%) であり, 内膜の適正化も必要と考えられた。前医における AIH 歴の回数による妊娠率の低下は認めず, AIH 歴数によらず本法は施行意義があると考えられた。

18. 排卵確認後に行った AIH の成績

○熊切 順, 桜井明弘, 中野義宏
武内裕之 (順天堂大産婦)

AIH は血中または尿中の LH 値, 経陰超音波断層法による卵胞径をもとに排卵を予測して排卵前に施行されている (conventional AIH)。これは精子の生存期間が卵よりも長いためであるが, conventional AIH より

24時間遅く排卵後に行う delayed AIH について検討した。対象は2000年1年間に当科で AIH を施行した143例399周期を retrospective に conventional 群と delayed 群に分類した。患者背景として年齢・過排卵刺激法・精液所見、内分泌因子として排卵期・黄体中期の経腔超音波所見・血中 LH 値・血中 E₂ 値・血中 progesterone 値を検討したが両群間に有意差は認められなかった。妊娠率は対周期 6.0%、対症例で 16.8%、delayed 群の妊娠率は 7.8% で conventional 群の 5.5% よりも高い傾向がみられた。排卵後の受精可能な期間は長く、AIH の施行時期は比較的広いものと考えられた。

19. hCG にアレルギー反応を示した排卵障害症例

○松永竜也, 栃木明人, 武谷千晶
山下有紀, 水谷美貴, 吉永陽樹
山本樹生 (日本大産婦)
栃木武一 (川口市立医療センター産婦)

【はじめに】4年間の不妊を主訴に来院し、子宮筋腫術後に月経不順と黄体機能不全を認めた症例で、hCG にアレルギー反応を認めたため結合型エストロゲン投与による positive feed back で排卵し妊娠した症例を経験したので報告する。【症例】32歳、未妊婦、結婚27歳、身長155cm、体重76kg 家族歴特に無し、既往歴では31歳時子宮筋腫核出術を受けている。初潮12歳、月経周期30~90日、持続6日間。基礎体温はほぼ2相性であるが、高温相の短縮を認めた。月経周期7日目では LH:8.4, FSH:9.3mIU/ml, PRL:8.5ng/ml。排卵周期不整と黄体機能不全のためクロミフェン投与後 hCG 投与で投与上肢から肩胛に初赤、熱感を認めた。皮内反応では hCG, hMG に陽性反応を認めたが、pure FSH は陰性であった。7月30日の月経後、クロミフェン150mg/日を内服、月経10日と12日に pure FSH 150IU 投与、11日、12日に結合型エストロゲン20mg 静注、12日には乏精子症で AIH を施行した。排卵直前の卵胞径21mm、血中 E 449pg/ml、子宮内膜厚14mm、卵胞の消失と基礎体温の上昇後黄体ホルモンの補充を行い月経30日に尿中 hCG 25IU/l 陽性の後現在妊娠経過中である。【まとめ】hCG などにアレルギー反応を示す稀な症例を経験し、これは抽出過程での除去不能な物質によるものと考えられる。本症の様な例では positive feed back が排卵誘発に有効であることが示されたが、recombinant LH 出現の必要性が認めら

れた。

20. レプチンと多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の関係

○菊池信正, 安藤一道, 水沼英樹
峯岸 敬 (群馬大産婦)

【目的】肥満遺伝子産物であるレプチンは、卵巣顆粒膜細胞におけるホルモン産生抑制など生殖器官に対する報告が増えており、特に PCOS の卵胞発育作用に対するレプチンの関与も示唆されている。今回我々は PCOS におけるレプチンの関与を検討し、さらに体重別に肥満と非肥満の2グループに分け、内分泌的検討を試みた。【方法】PCOS 婦人40人を BMI 25 を境に2グループに分け、レプチン濃度を測定並び年齢、身長、体重、BMI、LH、FSH、PRL、LH/FSH、E₂、testosterone (T)、androstendione、Glucose、insulin、などの血中ホルモン値ならび身体所見を比較し統計学的処理を実施した【結果】PCOS 婦人の血中レプチン値は、BMI、体重、androstendione、Waist/Hip、と正の相関を認めた。また、PCOS 婦人を肥満と非肥満の2群に分けた場合、2群のレプチン値、体重、BMI、Testosterone、Androstendion、Waist/Hip に有意差を認めた。しかし、非肥満 PCOS 群でにおいて Androstendion と相関性を認めたが他の parameter と強い相関性を認めるものはなく、肥満 PCOS 群でも同様の結果となった。また75gOGTT においてレプチン値が高い程、インスリン抵抗性を示した。【結論】PCOS 婦人を体重別に分け検討してみるとレプチンと他因子の間に強い正の相関を示したものは、Androstendion のみでレプチンが PCO の病態に強くかかわっているとの結論には至らなかった。しかし、PCOS に特徴的なインスリン抵抗性についてはレプチンが関与している可能性も示唆され、今後の検討課題として残った。

21. フォリスタチンの発現調節

○松田弘子, 井上京子, 中村和人
五十嵐茂雄, 土屋 恵, 峯岸 敬
(群馬大産婦)

卵巣における follistatin の発現調節について、ヒト卵巣組織とヒト卵巣癌の cell line を用いて検討した。【方法】①患者の同意を得て、医学的根拠に基づき手術時に摘出した正常卵巣組織より total RNA を抽出し、Northern blot にて follistatin (FL)・Activin receptor type I, IIA (AR) mRNA の発現を検討した。②

OVCAR3 細胞に, Activin・PMA を添加し FL mRNA の発現の経時的变化と用量依存性を検討した。【結果】①卵胞で control・黄体に比し, FL・AR mRNA 発現の有意な増強を認めた。② Activin 50ng/ml 添加後 24 h をピークに FL mRNA の発現は増強した。また, それは用量依存性を認めた。PMA 10nM 添加での発現は 6h で最低となりその後回復した。これに関しても用量依存性がみられた。【考察】FL は, 卵巣では Activin と同様の量的変化を示すことが判明した。OVCAR3 細胞は今後 FL の発現調節を検討する上で有用な系であると考えられた。

22. マウス胚発育におけるセロトニンの効果

○谷内麻子, 栗林 靖, 石田恵理
阿部有子, 斎藤 要, 石塚文平
(聖マリアンナ医大産婦)

岡本美奈子, 山田陽子, 佐藤嘉兵

(日本大生物資源科学動物細胞)

【目的】今回我々は, *in vitro* で得られたマウス受精後の胚に 5-HT を添加しその後の胚発育能について検討した。【方法】ICR 系マウスに過排卵処理後体外受精 (IVF) を行い, 媒精後 4 時間の培養液中に 5-HT を 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M の各濃度で添加し, その後の胚発育能への効果を受精後 120 時間まで調べた。【結果】5-HT を IVF 後のマウス卵に 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M の各濃度で添加すると, 受精率は各濃度の添加群において非添加群に比し有意に低下した。しかし, 胚盤胞胚への発育は, 非添加群と 5-HT 添加群間に有意差は認めなかった。【考察】IVF 後のマウス受精卵に 5-HT を添加すると 2 細胞期胚への発育は抑制された。しかし, 生存し得た 2 細胞期胚のうち胚盤胞期胚へ発育した率は, 対照群に比べ高いことが示された。

投稿規定

(2001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(臨床材料を含む)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、その他の編集に関する事項については、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. 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. 投稿論文は、ワードプロセッサまたはコンピュータソフトを用いて作成する。原稿は、A4版用紙に和文では35字×25行の横書きとし、現代仮名づかいと常用漢字を用いる。英文論文では、12ポイントの字体でダブルスペースで印字する。1ページ当たり25行とする。なお、専門家に校閲を受けておくこと。ただし、編集委員会で校閲が必要と認められた場合にはその費用を著者負担とする。原稿は、原本1部と査読用コピー2部を添え、写真は原稿を含めて3部とする。

論文は、審査終了後に最終原稿1部と原稿を記録したフロッピディスク(FD)を送付する。FDのラベルには、機種、ソフト等を記入する。
7. 原著、総説、論説、臨床報告などには、必ず600字以内の和文ならびに、200words以内の抄録(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。
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。なお、投稿原稿、図表、写真は返却しない。
9. 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。
10. 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DNAゾール投与の効果. 日不妊会誌 40:104-109

b) 単行本の場合

著者名(年次)題名、書名、編者名、発行所、発行地、pp 頁-頁とする。(英文の場合は編者名、書名、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

11. 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。
12. 同一著者による論文の掲載は同一号に1編のみとする。
13. 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。
14. 特別掲載を希望する論文は、受付順によらず、速やかに審査掲載される。なお、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。
15. 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。
16. 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
17. 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

新年度が始まり、会員の皆さまにはお忙しい毎日をお過ごしのことと存じ上げます。2001年から本雑誌の印刷所の変更があり、表紙や本文の意匠に変更がありました。印象はいかがでしょうか。

さて、ご存知のように、本雑誌は英文誌化を目前に控え、和文誌あるいは学会機関誌としての役割を再考する時期になっています。私個人としては、これらの機能は学会ホームページを立ち上げその中の項目として補完可能ではないかと考えています。しかし、その場合でもインターネットに接続できない会員についてどのように扱うのかなど今後の議論が必要であることは確かです。会員の皆さまの忌憚ないご意見を学会本部編集委員会あてにいただければ幸いです。

(編集委員 押尾 茂)

編集委員

遠藤 克 (委員長)

| | | |
|--------|--------|--------|
| 安部 裕 司 | 安藤 索 | 石川 博 通 |
| 石塚 文 平 | 押尾 茂 | 末岡 浩 |
| 田原 隆 三 | 中村 幸 雄 | 永尾 光 一 |
| 新村 末 雄 | 三浦 一 陽 | |

Editorial Board

Tuyoshi ENDO (Editor-in-Chief)

| | | |
|-----------------|----------------|--------------------|
| Yuji ABE | Motomu ANDO | Hikomichi ISHIKAWA |
| Bunpei ISHIZUKA | Shigeru OSHIO | Kou SUEOKA |
| Ryuzo TAHARA | Yukio NAKAMURA | Koichi NAGAO |
| Sueo NIIMURA | Kazukiyo MIURA | |

日本不妊学会雑誌 第46巻第2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: funin-g@vinet.or.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

2001年3月25日印刷

2001年4月1日発行

第 46 回 日本不妊学会総会および学術講演会

< 2001 年 11 月 8 日(木)~9 日(金) / 東京都・京王プラザホテル >

ご宿泊の案内

宿泊利用のご案内

※ 1泊朝食付・サービス込、税金別のお一人様の宿泊代金です。

| 略号 | ホテル名 | 料金 | 詳細 |
|----|-------------------------|----------|---|
| A | 京王プラザホテル (シングルルーム) | ¥ 21,000 | 会場。JR新宿駅西口より徒歩5分。地上47階(南館34階)、地下3階。レストラン(世界各国料理)、喫茶、バー、ラウンジ、プール、サウナ、エグゼクティブサービスセンター等有。デラックスな超高層ホテル。 |
| B | 京王プラザホテル (ツインルーム) | ¥ 13,000 | |
| C | 新宿ワシントンホテル (シングルルーム) | ¥ 13,500 | 会場まで徒歩3分。JR新宿駅南口より徒歩8分。地上25階、地下4階。レストラン(和・洋)、喫茶、バー有。約1300室の大型ホテル。 |
| D | サンルートホテル東京 (シングルルーム) | ¥ 12,500 | 会場まで徒歩10分。JR新宿駅南口より徒歩3分。レストラン(和・洋・中)、喫茶、スナック・パブ有。交通至便でビジネスに好適。 |

お申し込み方法

① 宿泊申込書に必要事項をご記入の上、下記宛にファックスにてお送り下さい。

申込締切日 2001 年 9 月 21 日

② 10 月 10 日までに宿泊券類、請求書をご送付致します。

※ 手配手数料としてお一人様 800 円申し受けます。

③ ご請求書着後、1 週間以内に必ずお振込み下さい。

※ ご入金を確認できない場合、予約取消しとなることもございます。

※ E-mail でのお申し込みも受け付けます。申込書の記載事項に基づき送信して下さい。E-mail にてご回答申し上げます。E-mail: tyoicic@blue.ocn.ne.jp

※ 満室になり次第、締め切りとなりますので、お早めにお申し込み下さい。

※ ワシントンホテル、サンルートホテル東京のツインルームをご希望の方は、申込書の通信欄にその旨ご記入下さい。

取り消し料

お取り消しの際は、手配手数料の他に下記手数料がかかります。ご返金は、会議終了後となります。尚、お取り消しは、当社の営業時間(平日 09:00~17:45)のみ受け付けます。

| | | | |
|------------------|------------------|--------------|----------------|
| 14 日前以降: ¥ 1,000 | 3 日前以降: 宿泊代の 50% | 当日: 宿泊代の 80% | 無連絡: 宿泊代の 100% |
|------------------|------------------|--------------|----------------|

三喜 I C I C ・三喜トラベルサービス(株) 国土交通大臣登録旅行業第 321 号

〒170-0002 東京都豊島区巣鴨 1-20-9 巣鴨ファーストビル7階

電話: 03-3947-1511 / FAX: 03-3947-1529 / E-mail: tyoicic@blue.ocn.ne.jp

担当: 藤沢、富川

