

## 2. 誘発排卵妊娠による心身障害発生に関する研究

### ② 成熟マウスにおける PMS-HCG

#### 誘発排卵による奇形発現に関する検討

東北大学医学部産科婦人科学教室

鈴木 雅 洲      五十嵐      彰  
阿 保 秀 夫      赤 間 正 弘

#### I 研究目的

ゴナドトロピン(以下「ゴ」)の臨床応用は、1931年にE. Novakらが機能性子宮出血や無排卵性の治療にHCGを用いたことに始まり、今日では、無排卵症の有力な治療法としてPMS-HCG及びHMG-HCG療法が用いられ、更に月経周期後半の黄体機能の回復や切迫流産の治療法としてHCGが常用されている。

しかし、生殖生理学的領域からみれば、未だ検討を要する諸問題を残しており、早急な解明が望まれている。事実この「ゴ」使用による排卵誘発後の妊娠においては、通常の妊娠に比して、流産・染色体異常・子宮外妊娠及び多胎妊娠等の頻度が高いと云われている。更に「ゴ」誘発排卵により妊娠した婦人が、無脳児を出生したとの報告もみられる。

我々は、「誘発排卵妊娠による心身障害発生に関する研究」の一環として、「人工排卵の卵と人工操作卵の異常による先天異常の発現に関する研究」を計画した。そして、その初年度における実験として、「成熟マウスにおけるPMS-HCG誘発排卵による奇形発現に関する検討」を試み、いささかの知見を得たので報告する。

#### II 実験材料並びに方法

実験動物として成熟ICR-JCL系マウスを使用し、「ゴ」排卵誘発群(処置群)と自然排卵群(無処置対照群)について、以下の如き項目に関する実験、観察を試み、その各項目の観察結果を比較検討した。

##### [1] 排卵卵子に関する観察

9-14週令のICR-JCL系Virginマウスを、処置群及び対照群に各々20匹づつ使用した。

処置群に対して性周期に関係なく、PMS及びHCGを各々5i.u. づつ48時間の間隔で腹腔内に注射して排卵を誘発した。対照群では外陰部視診及び膣脂垢像によって自然排卵日を判定した。

次に処置群ではHCG注射後14-16時間で、対照群では排卵日の午前5時-7時に、各々エーテル麻酔死させて開腹し、卵管膨大部における排卵卵子の有無とその数を観察した。

##### [2] 交配及び妊娠に関する観察

実験動物として、14-18週令のICR-JCL系Virginマウスを、処置群80匹、対照群60匹、合計140匹使用した。

「ゴ」による排卵誘発には[1]と同じ方法を用いた。前もって受精能力を有することを確認した、18-25週令の同系統の雄マウスを用いて、自然交配を行なった。

膣栓形成を確認した日を妊娠0日目とし、妊娠18日目に頸椎脱臼によって屠殺、開腹し、交配率、妊娠率の調査に供した。

##### [3] 胚及び胎仔に関する観察

[2]における妊娠雌マウスの剖検時に、子宮及び卵巣の状態、胎仔の子宮内分布状況、着床痕数、胎盤遺残数、死亡胎仔数、生存胎仔数、胎仔の体重、外表異常の有無の各項目につき観察した。各胎仔は外形観察の後、内性器により性別を判定し、更に骨格標本の作製に供した。

#### III 研究結果

[1] 排卵卵子に関する観察結果( Table 1 参照)。

平均排卵数は、処置群で28.6、対照群で12.5であった。従ってこの「ゴ」処置により所謂過排卵が誘発されることを確認した。

[2] 交配及び妊娠に関する観察結果 (Table 2. 参照)

交配率は処置群では 38.8% , 対照群では, 56.7% であった。妊娠率は処置群では 35.0% 対照群では 51.7% であった。即ち, 交配率・妊娠共に, 処置群は対照群に比して頻度が低下した。処置群の一匹は妊娠 15 日目に死亡し, 対照群の一匹は妊娠 18 日目の朝自然分娩した。その他の妊娠マウスは全例妊娠 18 日目に開腹, 観察した。

[3] 胚及び胎仔に関する観察結果 (Table 3 参照)

①平均胎仔数は, 処置群では 12.4, 対照群では 10.0 であり, 処置群の方が有意に多かった ( $P < 0.05$ )。

②平均着床数は, 処置群では 14.9, 対照群では 10.7 であり, 処置群の方が有意に多かった ( $P < 0.05$ )。

③着床数に対する着床痕の率は, 処置群では 10.9%, 対照群では 4.0% であり, 処置群の方が有意に頻度が高かった。 ( $P < 0.05$ )。

④着床数に対する胎盤遺残率は, 処置群では 5.5%, 対象群では 2.5% であり, 処置群の方が頻度が高い傾向がみられた。

⑤着床数に対する死亡胎仔の率は, 処置群では 16.2%, 対照群では 2.2% であり, 処置群の方が有意に頻度が高かった ( $P < 0.01$ )。

⑥着床数に対する生存胎仔の率は, 処置群では 6.74%, 対照群では 9.13% であり, 処置群の方が頻度が低い傾向にあった。

⑦生存胎仔の平均体重は, 処置群では 1.12g, 対照群では 1.38g であり, 処置群の方が有意に軽かった ( $P < 0.01$ )。

⑧生存胎仔を持った母体総数に対する, 外表奇形を有する生存胎仔を持った母体数の割合は, 処置群では 7/22 (31.8%), 対象群では 1/30 (3.3%) であった。

⑨生存胎仔総数に対する外表奇形を有する生存胎仔の発現頻度は, 処置群では, 4.80%, 対照群では 0.34% であり, 処置群の方が有意に発現頻度が高かった ( $P < 0.01$ )。

⑩外表奇形の種類としては, 処置群では眼瞼開存が 9 匹, 左前肢の短肢症および乏指症が 2 匹,

内反足が 1 匹, 短尾が 1 匹であった。対照群では短尾が一匹認められた。

⑪生存胎仔の性比 ( $\delta/\eta$ ) は, 処置群では 1.05, 対照群では 1.14 であり, 有意差はなかった。

⑫骨格異常の検索は, 現在骨格標本の整理中であり, その結果発表は後日にゆずりたい。

#### IV 考 察

医学の進歩は伝染性疾患をはじめとする多くの疾病を征圧した。そして近年, 之等の医学の進歩の成果に取残された人類の敵として先天異常がクローズアップされて来た今日における先天異常に関する研究の進歩は, Warkany ら (1940) による一連の催奇形実験, Gregg (1941) による風疹ウィルスと人奇形発現の因果関係の発見報告, 更に Lenz (1961) によるサリドマイドとアザラン奇形発現の因果関係の発見報告の 3 つの画期的大事件に刺激されて, 過去 35 年間に達成されたと言われている。

臨床的にしばしば用いられる先天異常の区分法としては, 発達生物学の立場からなされた次の区分法が有名である。則ち, その先天異常発現の原因が, 個体発生のどの段階に存在したかによって, 各々, ①遺伝子病, ②配偶子病, ③胎芽病, ④胎児病の 4 つに区分する方法である。この区分法によれば, 「ゴ」誘発排卵による先天異常が有るとすれば, さしずめ, 配偶子病と云うことになる。

排卵誘発剤を使用した場合の卵子の成熟と排卵の過程が, 無処理の場合とほぼ同様の過程を経て行なわれ, 排卵直後における異常卵子の割合も多くない事が知られている。

一般に, 器官形成期の胚が何等かの障害をうけた場合, その胚は死滅するか奇形となるが, 未分化胚が障害をうけた場合には, 死滅するか, 或いは完全修復が行なわれ正常な個体発生の過程をとるかのはいずれかであることは多くの実験奇形学の研究報告から知られている。妊娠前における「ゴ」による排卵誘発処置によって卵細胞が何等かの障害をうけると仮定すると, その障害は未分化胚が障害をうけた場合と同様の経過, 即ち悉無律に従

った経過をとることが予想される。そして、もしこの仮定が事実ならば「ゴ」誘発排卵による心身障害児発生の問題は起らない。

しかし、「ゴ」による排卵誘発処置が、無処置の場合に比して、排卵を遅延させることも知られており、卵子の濾胞内過熟、遅延排卵、卵子の卵管内過熟、遅延受精等の一連の過程が起る可能性があり、そのためその異常過程の程度如何によっては、発生異常や性比の変化が起る可能性も否定できないと言われている。そして、もしこの可能性が否定出来ないとすれば、PMS-HCGによる排卵誘発処置は、単独処置の場合よりも更にその影響が大きいと考えられ、そこには当然、心身障害児発生の問題が生じてくる。

PMS-HCG処置による排卵誘発が先天異常発現及び性比変化の原因となるかどうかを目的とした、成熟マウスを用いた *in vivo* における最近の実験報告としては、Elbling (1973, 1975) 及び Smith (1975) の報告がある。Elbling (1973) は、Swiss albino 系マウスを用いて実験を行ない、「ゴ」処置群では、対照群に比して、指趾の奇形が多いこと、雄の出生率が高いことをあげ、両群の間には有意の差があったと述べている。一方、Smith (1975) は、同様な実験を、ICR 系マウス及び J 系マウスを用いて行ない、処置群と対照群の間には奇形及び性比に関して差はなかったと報告している。

今回の我々の実験では、ICR-JCL 系マウスを用い、処置群の 7 匹の母体から 13 匹の外表面奇形を有する胎仔を得、対照群に比し有意差が認められた。しかし、この奇形胎仔発現が真に「ゴ」そのものの影響によるものか、過排卵による通例以上の多胎妊娠による子宮内の物理的圧迫によるものか、或いは遺伝的因子によるものか等々、今後の検討を要する点であると思われる。

処置群の 13 匹の外表面奇形胎仔は、眼瞼開裂が 9 匹、左前肢異常が 2 匹、内反足が 1 匹、短尾が 1 匹であるが、勝矢 (1975) の催奇形実験対照群の基礎的資料に記載されている。ICR-JCL 系マウス 41,533 の着床数の中から得られた外表面異常の累計値をみると、眼瞼開存、内反足、尾の異常、指趾の異常の報告数は比較的多いが、四肢

矯小は 1 例のみであり、我々の実験の処置群の中に、左前肢短小が 2 例出現したことは注目したい。

性比に関しては有意差はなかった。「ゴ」の投与にともなって排卵数の増加、それに伴う排卵時間の延長、卵子下降の促進による受精・着床条件の変化、更に胚胎環境の変化等が起りやすくなるためか、投与量の増加に平行して受精率・妊娠率・分娩率・生仔平均体重及び哺育率が低下し、一方、黄体数、着床数及び死亡胚胎仔率が増加すると云う報告は少なくない。

今回の我々の実験でも「ゴ」処置群は対照群に比し、交配率、妊娠率、生仔平均体重が低く、平均着床数・死亡胚胎仔率・平均胎仔数が高かった。

## V 要 約

今回、我々は、PMS-HCG 処置による排卵誘発が、奇形発現の原因となる可能性があるか否かを検討すべく、成熟 ICR-JCL 系マウスを用いて実験的研究を試み次の結果を得た。

(1) 「ゴ」処置による排卵誘発群では、対照群（無処置群）に比して、交配率、妊娠率、生仔平均体重が低く、一方、平均着床数、死亡胚胎仔率、平均胎仔数、外表奇形出現率が高かった。

(2) しかし、「ゴ」処置と外表奇形発現の因果関係については今後の検討にまつことが多い。

(3) 「ゴ」処置による性比の変化に関しては、対照群と比して有意の差はなかった。

先天異常発現の病理発生の因果関係を解明するには、ヒトにおける臨床統計の方法から動物使用による基礎実験的方法まで多くの研究法を用いての追求が要求される。今回我々は、マウスを用いて、*in vivo* に於ける実験を試みたのであるが、*in vivo* に於ける実験には多くの不明因子の関与が考えられ、実験結果の解析もクリアカットに行かない面が多い。今後は、ヒトに於ける統計学的解析法、動物を用いた *in vivo* に於ける実験学と併行して、*in vitro* に於ける基礎実験をおしすすめることが大切であると思われる。

表 1

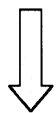
Number of Ovulated Ova in ICR/JCL Mice Induced with Gonadotrophins		
Experimental groups	Treated (Gonadotrophin-induced)	Control (Spontaneous)
No. of litters	20	20
Ovulated rate	100 %	90 %
No. of ovulated ova (mean $\pm$ s. e.)	28.6 $\pm$ 1.6	12.5 $\pm$ 1.0

表 2

Observations on Pregnant Females Following Gonadotrophin Treatment and Normal Mating		
	Treated Number (Examined%)	Control Number (Examined%)
Examined	80	60
Mated	31 (38.8%)	34 (56.7%)
Pregnant	28 (35.0%)	31 (51.7%)
	Number (Pregnant%)	Number (Pregnant%)
Deaths	1 (3.6%)	0
Normal delivery	0	1 (3.2%)
Blocked delivery	27 (96.4%)	30 (96.8%)

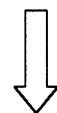
表 3

Reproductive Performance of Gonadotrophin-treated Females		
	Treated	Control
No. of litters	27	30
Average litter size	12.4 $\pm$ 2.9	10.0 $\pm$ 1.5
No. of implants (mean)	402 (14.9)	321 (10.7)
Implantation sites	10.9 %	4.0 %
Placental remnants	5.5 %	2.5 %
Dead foetuses	16.2 %	2.2 %
No. of viable foetuses	271, 67.4 %	293, 91.3 %
Mean body weight (g)	1.12 $\pm$ 0.07	1.38 $\pm$ 0.02
Sex ratio ( $\delta/\text{♀}$ )	1.05	1.14
External malformation	13 (4.80%)	1 (0.34%)
Open eyelids	9	
Micromelia and oligodactylism	2	
Pes varus	1	
Short tail	1	1



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



### 研究目的

ゴナドトロピン(以下「ゴ」)の臨床応用は、1931年に E.Novak らが機能性子宮出血や無排卵性の治療に HCG を用いたことに始まり、今日では、無排卵症の有効な治療法として PMS-HCG 及び HMG-HCG 療法が用いられ、更に月経周期後半の黄体機能の回復や切迫流産の治療法として HCG が常用されている。