

## 男性不妊における抗精子抗体に関する臨床的研究

神戸大学医学部泌尿器科学教室（主任：石神襄次教授）

松 本 修

CLINICAL STUDY ON ANTI-SPERM IMMUNITY IN  
MALE INFERTILITY

Osamu MATSUMOTO

*From the Department of Urology, School of Medicine Kobe University*

The relationship between male infertility and sperm immunity was studied on 237 patients of male infertility; 159 oligozoospermia, 33 functional azoospermia, 13 obstructive azoospermia and 32 men from unexplained infertile couples. Twelve vasectomized and 52 fathered men were also studied as controls. For detection of antibodies, their sera were tested by tube-slide agglutination test, sperm immobilization test, indirect immunofluorescent antibody technique, and in some cases gelatin agglutination test. Seminal plasma was tested by sperm immobilization test and agglutination tests in some cases. Kremer's in vitro sperm penetration test was done on cases with positive antisperm antibodies.

The results are as follows:

1) The proportion of positive antisperm antibodies in serum showed significantly high value in the patients of obstructive azoospermia and post-vasectomy compared with normal controls. Indirect immunofluorescent antibody technique particularly showed high positive rate as in the obstructive azoospermia group being the highest as 92.3%. Accordingly, this method seemed to be helpful for diagnosis of obstructive azoospermia. On the other hand, in the cases of functional azoospermia the positiveness was particularly low.

2) There was no significant difference in the positive rate between the group with impaired function of sperm production and the group with normal sperm counts. In obstructive azoospermia, the function of sperm production remained normal on testicular biopsy despite antisperm antibodies in serum. There seemed to be a little possibility that antisperm autoimmunity caused impairment of sperm production.

3) Sperm autoagglutination correlated with the results of tube-slide agglutination test. But more definite correlation was shown with gelatin agglutination test according to the fact that all the 10 cases with sperm autoagglutination were positive and their antibody titers showed relatively good correlation with the degree of sperm autoagglutination. It was suggested that sperm autoagglutination was caused by sperm agglutination antibodies.

4) No correlation was seen between impaired sperm motility rate and sperm immobilizing antibody. There were found cases with normal sperm motility in spite of their high titered sperm immobilizing antibodies.

5) According to the data of Kremer's test with semen of men with antisperm antibodies, sperm agglutinating and immobilizing antibodies were confirmed to impair sperm penetration through the cervical mucus. Therefore these antibodies can be the cause of infertility. On the other hand, antibody which could be detected by indirect immunofluorescent antibody technique did not impair sperm

penetration.

6) In summary, antisperm antibodies may not cause the disturbance of function of sperm production, but can be a cause of infertility in some patients with them.

It can be concluded that detection of antisperm antibodies is necessary for clarifying the cause of male infertility clinically even though the semen findings are normal.

## 結 言

1899年 Landsteiner<sup>1)</sup> は、ウシ精液で免疫したモルモットの腹腔内にウシ精子を注入したところ、その運動性が消失することを発見した。精子免疫による抗体産生というこの注目すべき報告を受けて、雌性動物を睾丸または精子で免疫する数多くの動物実験がなされた結果、雌性動物に抗精子循環抗体が出現し不妊が発生するという事実<sup>2)</sup> が明らかにされた。ヒトでも売春婦に不妊が多いのは、炎症性卵管閉塞のためだけでなく頻回の性交による精子免疫が関与するとの見解が1921年に発表され<sup>3)</sup>、不妊に免疫という概念が導入される契機となった。またその後、婦人を精子で免疫すると一時的に不妊の状態が認められたという報告<sup>4)</sup> がなされ、免疫による不妊がヒトにも存在することが示唆された。1964年 Franklin & Dukes<sup>5)</sup> が原因不明不妊夫婦の婦人血中に高率に精子凝集抗体が存在すると報告して以来、臨床的に女性不妊に関与する免疫学的因子の追求がなされてきた。最近では Isojima<sup>6)</sup> の報告した精子不動化抗体を中心とする免疫因子が女性不妊の原因の1つとして確立されつつある。

男性においても抗精子自己抗体が産生されうること、およびそれが不妊の原因となりうるものが Wilson<sup>7)</sup> により報告されて以来、男性不妊に関与する免疫因子の研究がなされてきた。しかし、女性におけるほど男性不妊と免疫の関連性は確かなものとされていないのが現状である。さて、男性不妊の大部分はその成因が不明な造精機能障害、すなわちいわゆる特発性男性不妊である<sup>8)</sup>。また精子数からみて充分妊孕可能であると思われるのに不妊である症例も少なからず存在する。このように男性不妊の多くはその本質が不明であると言っても過言ではない。このことから男性不妊に免疫因子が関与しているか否かということは興味ある問題である。男性不妊における免疫の関与の可能性としては、睾丸を場とする自己免疫的变化による造精機能障害や、抗精子抗体が精子に直接影響することによる精液所見の変化などが考えられる。

そこで、男性不妊に対する免疫学的因子の関与を臨床的に研究する目的で、男性不妊患者における血中抗精子抗体の出現率、抗精子抗体と精子数、精子自己凝

集、精子運動率など精液所見との関連、抗精子抗体と精子の頸管粘液貫通性の関連につき検討した。

## 対 象

神戸大学医学部泌尿器科不妊外来を受診した男性不妊患者237名を対象とした。年齢分布は25~39歳、平均年齢32.5歳である。対象はつぎの4群より構成されている。1) 乏精子症159名で、精子数別に分けると  $15 \times 10^6/\text{ml}$  以上 (grade I) が64名、 $15 \sim 5 \times 10^6/\text{ml}$  (grade II) が48名、 $5 \times 10^6/\text{ml}$  未満 (grade III) が47名である。2) 明らかな睾丸萎縮が認められて、生検にて germ cell aplasia あるいは spermatogenic arrest を呈した機能性無精子症33名。3) 精路通過障害による閉塞性無精子症13名で、両側精管欠損7名、両側副睾丸精管移行部癒合不全3名、両側精管閉塞2名および射精管閉塞1名よりなり、これら13症例はすべて睾丸生検にて正常造精機能を呈していた。4) 精子数  $45 \times 10^6/\text{ml}$  以上、精子運動率60%以上で充分妊孕可能と思われる、また配偶者にも何ら婦人科的異常を認めない、いわゆる原因不明不妊夫婦の夫32名である。対照は年齢層の一致する、妻子を有し精液所見正常の男性52名とした。また精管結紮術後の12名(術後1カ月2名、2カ月1名、3カ月7名、5年、12年各1名)についても検討した。

## 方 法

それぞれの患者および対照から末梢血10mlを普通採血し、採血した血清を  $56^\circ\text{C}$ 、30分間の加熱処理にて非働化の後  $-20^\circ\text{C}$  凍結保存、2週間以内に血清中抗精子抗体を検索した。施行した抗体検出法は精子凝集試験、精子不動化試験、および精子間接蛍光抗体試験の3種である。精子凝集試験は Franklin-Dukes<sup>5)</sup> の micro-agglutination test の変法 (Shulman の変法) の tube-slide agglutination test<sup>9,10)</sup> によった。その方法は、Baker's buffer にて1:4希釈した被検血清0.5mlと Baker's buffer にて  $50 \times 10^6/\text{ml}$  に調整した運動率良好な新鮮精液0.05mlを混和し、小試験管内で incubate する。  $37^\circ\text{C}$  4時間の incubation 後1滴を静かにスライドガラス上にとり、カバーガラスをかけて鏡検する。数視野を観察し、凝集運動精子

数を数えて総運動精子数の10%以上の場合を陽性と判定する。また凝集のパターンを、head-to-head (H-H), tail-to-tail (T-T), head-to-tail (H-T) の3種 (Fig. 1 W.R. Jones<sup>11)</sup>) に分類し記録した。陽性の場合には、高希釈血清で試験を行ない抗体価を決定した。

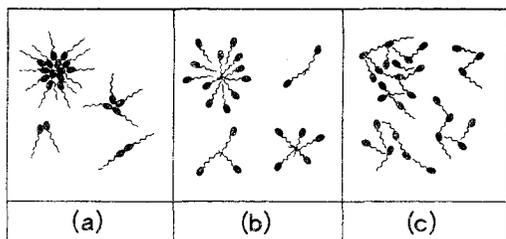


Fig. 1. Sperm microagglutination patterns.  
(a) head-to-head, (b) tail-to-tail, (c) head-to-tail.

精子不動化試験は Isojima の方法<sup>9,10)</sup> によった (Table 1)。精液は精子数  $70 \times 10^6/\text{ml}$  以上、運動率70%以上のものを使用し、10%非働化未婚女性血清含有生食水で精子を洗浄して精子浮遊液を調整した。補体には、九価  $200 \text{ C'H}_{50}$  以上で、ヒト精子に対し毒性がないことを確認したモルモット血清を使用した。対照血清として不動化抗体陰性未婚女性血清を使用し、3時間まで1時間毎に精子運動率を記録した。判定は1時間 incubation における精子不動化値 (SIV) が2 以上の場合を陽性とした。陽性血清については、さらに希釈血清系列による定量的精子不動化試験<sup>10,12)</sup> を行ない、 $\text{SI}_{50}$  (50% sperm immobilization unit) を決定した。

精子間接蛍光抗体試験は Hjort & Hansen<sup>13)</sup> の方法に準じた (Table 2)。無蛍光スライドガラス上にて風乾した精子を、30分間 absolute methanol にて固

定し抗原として使用する間接蛍光抗体法である。被検血清を PBS にて 1:4, 1:10, 1:20 に希釈したもので incubate した後、FITC-conjugated anti-human immunoglobulin goat serum (富士臓器 F/P ratio 1.8) 1:40の希釈液にて incubate した。落射型蛍光顕微鏡 (Zeiss: Standard 18 FL) で観察し、全精子の50%以上に明らかな蛍光を認めた場合に陽性と判定し、その蛍光パターンを記録した。各検査時には、予備実験にて既知の陽性、陰性血清、PBS、モルモット血清を被検血清の代りに incubate した4種類の対照プレパラートを作製し判定の基準とした。1:20 希釈血清にて陽性の場合には 1:20, 1:40, 1:80 希釈血清で再度試験を行ない抗体価を決定した。精子はつねに同一人の、精子数  $70 \times 10^6/\text{ml}$  以上、運動率70%以上の良好な精液を使用し、固定精子プレパラートは毎試験時新たに作製した。本試験陽性の一部の症例につき FITC-anti-human IgG, IgM, IgA rabbit serum (Behringwerke, F/P ratio IgG: 2.0, IgM: 2.6, IgA: 2.8) を使用して同様の試験を行ない、抗体の immunoglobulin level を決定した。これに際しては、さらに non-labeled anti-human IgG, IgM, IgA serum (Behringwerke) の preincubation による blocking test を施行して確認した。

つぎに、精子凝集抗体と射精精液中の精子自己凝集 (粘液糸、白血球、上皮などにより精子が凝集している pseudo-agglutination は除外した) が全運動精子の10%以上認められた10症例については、とくに Kibrick<sup>14)</sup> の macroagglutination test を modify した gelatin-agglutination test<sup>10)</sup> (Table 3) を施行した。また、精漿中の凝集抗体、不動化抗体についても検討した。

精子不動化抗体がいわゆる精子無力症あるいは精子死滅症に関連している可能性を検討するため、精子運

Table 1. Procedure of sperm immobilization test.

Test serum (inactivated)	0.25ml	} incubated —————> sperm motility 32°C, 60 min. (T %)
Sperm suspension ( $40 \times 10^6/\text{ml}$ )	0.025ml	
Complement (guinea pig serum)	0.05ml	
Control serum (inactivated)	0.25ml	} incubated —————> sperm motility 32°C, 60 min. (C %)
Sperm suspension ( $40 \times 10^6/\text{ml}$ )	0.025ml	
Complement (guinea pig serum)	0.05ml	

$$\text{SIV : sperm immobilization value} = \frac{\text{C}}{\text{T}}$$

SIV  $\geq 2$  ..... positive

< 2 ..... negative

Table 2. Indirect immunofluorescent antibody technique for spermatozoa.

- ① centrifugation of normal ejaculates  
at 1500 X g for 3 min.
- ② washing sperms three times in PBS (pH 7.2)  
at 600 X g for 3 min.
- ③ re-suspension in PBS. ( $10 \times 10^6$  spermatozoa / ml)
- ④ dropping on slides and drying.
- ⑤ fixing in absolute methanol for 30 min.
- ⑥ washing three times for 5 min. each in PBS.
- ⑦ incubation at 4 °C for 30 min. with test serum  
in moist chamber. (dilution = 1 : 4, 1 : 10, 1 : 20)
- ⑧ washing in PBS.
- ⑨ incubation at 4 °C for 60 min. with FITC-conjugated  
goat anti-human immunoglobulin.
- ⑩ washing in PBS.
- ⑪ mounting in buffered glycerin.
- ⑫ examination in fluorescence microscopy.

動率不良の症例において精漿精子不動化試験を施行した。方法は血清精子不動化試験に準じた。

つぎに、抗精子抗体が精子の頸管粘液貫通性に影響しているかどうかをみるため、原因不明不妊夫婦の夫で血中抗体陽性の症例を中心に、6例において Kr-mer in vitro 精子貫通性試験<sup>13)</sup>を施行した。排卵前正常頸管粘液をヘマトクリット用毛細管に吸引し、一端を閉じ他端を被検精液貯留槽に浸し、精子の時間的上昇距離を30分、1、2、3、6時間後に顕微鏡下で

Table 3. Procedure of gelatin agglutination test.

- ① serum samples may be inactivated by heating  
at 56 °C for 30 min.
- ② serum dilutions are prepared, using Baker's buffer\*  
as diluent, beginning with the 1 : 4 dilution.
- ③ a fresh semen sample with good sperm motility is  
diluted with Baker's buffer to  $40 \times 10^6$  sperms/ml.
- ④ a suitable volume of the sperm suspension is warmed  
to 37 °C and mixed with an equal volume of a 10%  
gelatin solution in Baker's buffer.
- ⑤ 0.2 ml of each serum dilution and an equal volume  
of the semen-gelatin mixture are mixed in a test  
tube.
- ⑥ each mixture is then transferred to a kibrick tube,  
which is 3 mm i.d. and 3 cm long, and incubated at 37 °C  
for 2 hrs.
- ⑦ white floccules of the sperm agglutination are  
recorded at 1 hr and 2 hrs.

\*Baker's buffer (pH 8.1)

3.00 g glucose  
0.46 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$   
0.20 g NaCl  
0.01 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   
water to bring the volume to 100 ml.

判定した。この対照として血清抗精子抗体陰性者の、ほぼ同程度の精子数、運動活性を有する精液を使用し、同一頸管粘液に対する精子貫通性を比較した。

## 結 果

### 1. 精子凝集試験 (tube-slide agglutination test)

結果は Table 4 に示した。対照の妻子のある正常男性では52例中1例 (1.9%) に陽性であった。これに対し、全不妊患者237例中19例に (8.0%) 陽性とやや

Table 4. Results of tube-slide agglutination test in males.

category of patients	No. of patients	No. of positive	agglutination pattern and titer <sup>▲</sup>
oligozoospermia	159	12 (7.5%)	
grade I ( $15 \leq < 45 \times 10^6/\text{ml}$ )	64	7 (10.9%)	H-4, H-4, H-8, M-8, M-8, H-32, M-64
grade II ( $5 \leq < 15 \times 10^6/\text{ml}$ )	48	2 (4.2%)	T-4, H-16
grade III ( $0 < < 5 \times 10^6/\text{ml}$ )	47	3 (6.4%)	H-4, H-32, H-64
functional azoospermia	33	1 (3.0%)	H-4
obstructive azoospermia	13	3 <sup>†</sup> (23.1%)	H-4, H-16, H-32
male from unexplained infertile couple	32	3 (9.4%)	H-4, T-8, H-64
post-vasectomy	12	6* (50.0%)	H-4, H-8, M-8, M-16, M-16, H-256
control (fathered male)	52	1 (1.9%)	H-4

▲ : H- : head to head agglutination  
T- : tail to tail agglutination  
M- : head to tail agglutination

H-4 : head to head type,  
titer X 4

† : p < 0.05      \* : p < 0.001

Table 5. Results of serum sperm immobilization test in males.

category of patients	No. of patients	No. of positive	SI <sub>50</sub>
oligozoospermia	159	4 (2.5%)	
grade I ( $15 \leq < 45 \times 10^6/\text{mL}$ )	64	2 (3.1%)	1.4, 28.0
grade II ( $5 \leq < 15 \times 10^6/\text{mL}$ )	48	1 (2.1%)	1.2
grade III ( $0 < < 5 \times 10^6/\text{mL}$ )	47	1 (2.1%)	7.6
functional azoospermia	33	0 (0%)	
obstructive azoospermia	13	4* (30.8%)	1.3, 1.5, 2.8, 4.8
male from unexplained infertile couple	32	2 (6.3%)	32.4, 45.8
post-vasectomy	12	2† (16.7%)	1.1, 8.0
control (fathered male)	52	0 (0%)	

† :  $p < 0.05$ \* :  $p < 0.001$ 

高頻度であった。乏精子症159例では12例(7.5%)が陽性で、この中では grade I が64例中7例(10.9%)と grade II (4.2%) および grade III (6.4%) よりやや高頻度であった。無精子症では、機能性無精子症33例中1例(3.0%)と陽性率が低いのに対し、閉塞性無精子症では13例中3例(23.1%)陽性と高頻度であった。閉塞性無精子症を対照と比較すると、 $\chi^2$  検定(Yatesの補正による)にて推計学的に有意( $P < 0.05$ )に高い陽性率であった。原因不明不妊夫婦の夫32例でも3例(9.4%)が陽性であった。精管結紮術後の12例では50%にあたる6例が陽性で、対照に比し有意に( $P < 0.001$ )高頻度の陽性率であった。精子数正常の84例(対照と原因不明不妊夫婦の夫)と造精機能障害192例(乏精子症と機能性無精子症)の両群の陽性率を比較すると、それぞれ4.8%(4例)と6.8%(13例)で著明な差異を認めなかった。精子凝集のパターンについてみると、全陽性26例中 head-to-head agglutination が19例と最も多く、head-to-tail が5例でこれにつき、tail-to-tail agglutination はわずかに2例であった。抗体価は4~256にわたったが、26例のうち対照で陽性の1例も含め9例が抗体価4と、比較的低い抗体価のものが多かった。

## 2. 精子不動化試験

結果は Table 5 に示した。全不妊患者237例中10例(4.2%)に陽性であったのに対し、対照52例には陽性例を認めなかった。乏精子症では grade I が2例、II, III 各1例の計4例(2.5%)に陽性であった。機能性無精子症33例には陽性例を認めなかった。閉塞性無精子症の13例では4例(30.8%)と高頻度に陽性例を認め、対照と比較して  $P < 0.001$  で推計学的に有意差を認めた。同様に精管結紮術後の12例でも2

例(16.9%)と対照に比し有意に( $P < 0.05$ )高率に陽性であった。原因不明不妊夫婦の夫32例では2例(6.3%)に陽性であった。精子数正常群(対照と原因不明不妊夫婦の夫)84例と造精機能障害群(乏精子症と機能性無精子症)192例における陽性率は、それぞれ2.4%(2例)と2.1%(4例)で両群に差異はなかった。本試験では1時間 incubation の結果で  $SIV \geq 2.0$  を陽性と判定したが、3時間 incubation 後の  $SIV$  から判定しても対照には陽性例はなかった。これに対し、この判定では閉塞性無精子症では6例(46.2%)が陽性となり、また乏精子症でも2例の陽性例の増加を認め、弱い精子不動化抗体を有すると考えられた。SI<sub>50</sub>は原因不明不妊夫婦の夫で陽性の2例が32.4および45.8と高い抗体価を示したのが注目された。また、乏精子症 grade I の比較的精子の多い症例で陽性の2例のうち、1例の SI<sub>50</sub> が28.0と比較的高い抗体価を示した。他は、陽性率の高い閉塞性無精子症も含めて、抗体価は低値であった。

## 3. 精子間接蛍光抗体試験

血清希釈1:80以上で蛍光を認めた症例は1例もなかった。Table 6には、抗体価4, 10, 20, 40における累積頻度を示した。たとえば、1:40にても陽性の血清は、抗体価  $\geq 4$ ,  $\geq 10$ ,  $\geq 20$ ,  $= 40$  のそれぞれの項において陽性として数えられている。抗体価  $\geq 4$  では、対照男性52例においても約半数の25例に陽性と陽性率は高く、不妊患者における頻度がやや高いとはいえ、有意な差異は認めない。抗体価  $\geq 10$  を陽性と考えると、対照が7例(13.5%)と比較的高頻度に陽性となる。全不妊患者237例では56例(24.5%)が陽性と、対照よりやや高頻度にすぎない。しかし、閉塞性無精子症では13例中12例(92.3%)に陽性で、対照と

Table 6. Titer of indirect immunofluorescent antibody test in males.

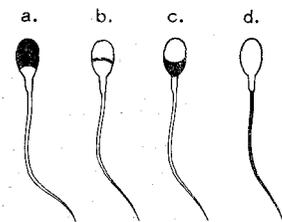
category of patients	No. of patients	No. of positive			
		titer $\geq 4$	titer $\geq 10$	titer $\geq 20$	titer = 40
oligozoospermia	159	95 (59.7%)	34 (21.4%)	8 (5.0%)	1 (0.6%)
grade I ( $15 \leq < 45 \times 10^6/m\bar{l}$ )	64	37 (57.8%)	14 (21.9%)	4 (6.9%)	1 (1.6%)
grade II ( $5 \leq < 15 \times 10^6/m\bar{l}$ )	48	32 (66.7%)	12 (25.0%)	3 (6.3%)	0
grade III ( $0 < < 5 \times 10^6/m\bar{l}$ )	47	26 (55.3%)	8 (17.0%)	1 (2.1%)	0
functional azoospermia	33	20 (60.6%)	6 (18.2%)	0	0
obstructive azoospermia	13	12 (92.3%)	12* (92.3%)	12* (92.3%)	5 (38.5%)
male from unexplained infertile couple	32	15 (46.9%)	6 (18.8%)	1 (3.1%)	0
post-vasectomy	12	10 (83.3%)	10* (83.3%)	3 <sup>§</sup> (25.0%)	0
control (fathered male)	52	25 (48.1%)	7 (13.5%)	0	0

§ : p &lt; 0.01

\* : p &lt; 0.001

の間に有意差 ( $P < 0.001$ ) を認めた。また、精管結紮術後群でも12例中10例 (83.3%) と対照に比し有意に ( $P < 0.001$ ) 高率に陽性であった。抗体価  $\geq 20$  では全不妊患者の8.7% (21例) に陽性であったのに対し、対照では1例も陽性例を認めなかった。このことから、抗体価20以上を本試験の陽性と考えるのが適当と思われた。乏精子症159例では8例 (5.0%) に陽性であったが、grade 別にみた頻度には特別の差異を認めなかった。機能性無精子症では1例の陽性も認めなかった。閉塞性無精子症では13例中12例 (92.3%) が陽性で、対照に比し有意差 ( $P < 0.001$ ) を認めた。精管結紮術後の12例では3例 (25%) が陽性で、やはり対照との間に有意差 ( $P < 0.01$ ) を認めた。原因不明不妊夫婦の夫にも32例中1例 (3.1%) の陽性をみた。正常精子数群84例と造精機能障害群192例の陽性率は、それぞれ1.2% (1例) と4.2% (8例) で、やや後者の頻度が高いが有意差はなかった。抗体価40のものは乏精子症1例と閉塞性無精子症の5例のみであった。蛍光パターンは、acrosomal, equatorial, postacrosomal (postnuclear cap), および main tail piece の4つのパターン (Fig. 2~5) を認めた。Table 7 には1:4希釈血清にて陽性の全症例についてのパターン別分布を示し、Table 8 にはそれぞれのパターンの抗体価を示した。なお、症例の中にはたとえば acrosomal  $\times 20$ , equatorial  $\times 40$  と両方のパターンを示した場合があり、その時には2つのパターンとして算入したので、陽性症例数と Table 7 および 8 のパターン別度数の合計は一致していない。Table 7 に示されるように acrosomal pattern が最も多く148例を数え、ついで equatorial pattern の47例, main tail piece の8例で、post-acrosomal pattern はわずか3例のみ

であった。このうち post-acrosomal pattern は乏精子症例のみに、main tail piece pattern は乏精子症7例と原因不明不妊夫婦の夫1例に認められ、いずれも対照には認められなかった。また、これら両パターンは Table 8 に示すように抗体価20以上のものはなく、main tail piece の1例が抗体価10であった以外はすべて抗体価4であった。なお、main tail piece pattern はすべて acrosomal pattern と同時に陽性として観察されたものである。Table 7 からわかるように、対照では2つの蛍光パターンが同時に認められた症例はなく、機能性無精子症でも同様であった。これに対して乏精子症、閉塞性無精子症では2つのパターンが同時に認められることが多く、とくに acrosomal, equatorial の両パターンの同時出現が最も多かった。この場合、たとえば1:20希釈血清では whole acrosomal の蛍光が認められ、しかも equatorial region の蛍光が強く、1:40では equatorial pattern のみ認めるといふ具合に、equatorial の抗体価の方が高かった。抗体価20以上の24症例につき抗体の immunoglobulin



a : acrosomal                      b : equatorial  
c : post-acrosomal  
d : main tail piece

Fig. 2. Immunofluorescent staining patterns.

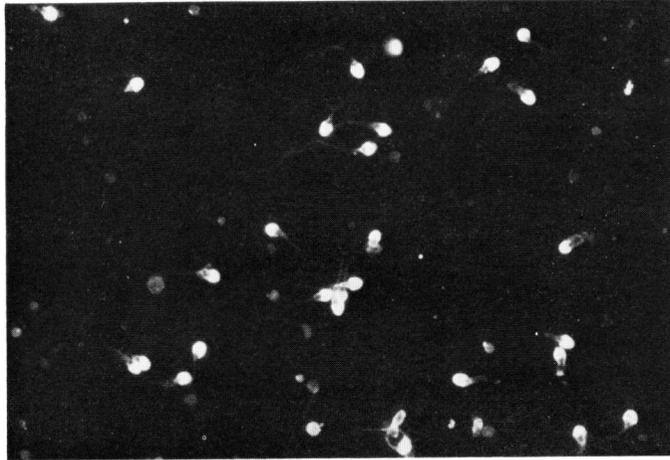


Fig. 3. Acrosomal immunofluorescent staining ( $\times 400$ ).

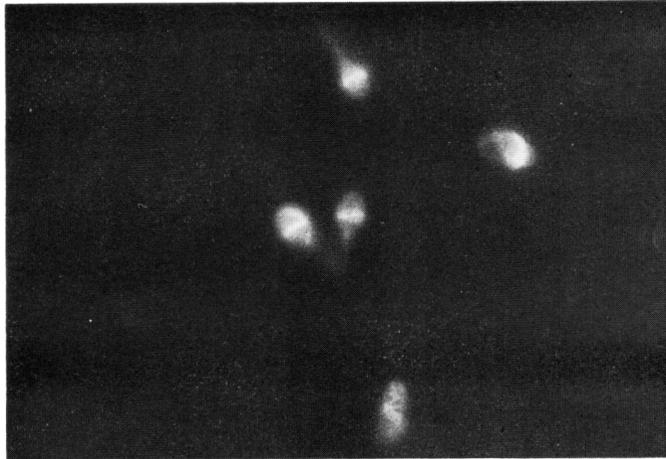


Fig. 4. Equatorial immunofluorescent staining ( $\times 1,000$ ).

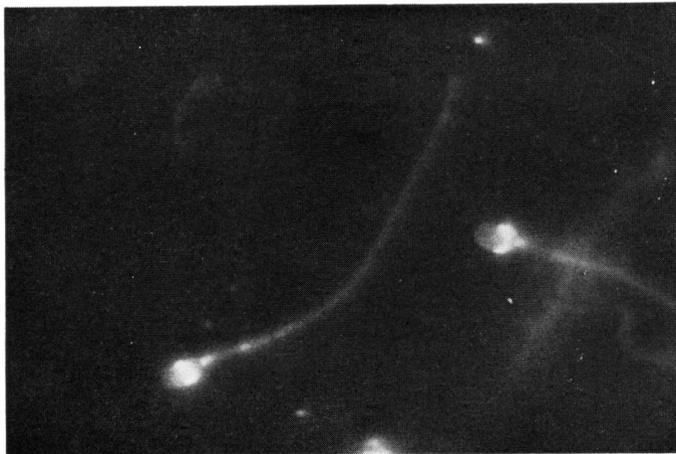


Fig. 5. Post-acrosomal immunofluorescent staining ( $\times 1,000$ ).

Table 7. Immunofluorescent patterns of indirect immunofluorescent antibody test in males.

category of patients	No. of patients	No. of positive	immunofluorescent pattern			
			acrosomal	equatorial	post-acrosomal	main tail piece
oligozoospermia	159	95	75	30	3	7
functional azoospermia	33	20	18	2	0	0
obstructive azoospermia	13	12	12	4	0	0
male from unexplained infertile couple	32	15	13	3	0	1
post-vasectomy	12	10	10	1	0	0
control (fathered male)	52	25	20	5	0	0
total	301	177	148	47	3	8

Table 8. Immunofluorescent pattern and titer.

pattern	titer				total
	×4	×10	×20	×40	
acrosomal	88	46	12	2	148
equatorial	20	16	7	4	47
post acrosomal	3	0	0	0	3
main tail piece	7	1	0	0	8

level を検討した結果は、acrosomal pattern を呈した14例では IgG 3例, IgG+M 5例, IgM 6例で、equatorial pattern 11例は IgG 5例, IgG+M 4例, IgM 2例であった。すなわち acrosomal, equatorial の両パターンとも抗体は IgG または IgM, あるいは

その両者という結果であった。

#### 4. 以上3種の試験のまとめ

閉塞性無精子症のなかには、3種の試験がすべて陽性である症例が認められた。しかし、一般的には3試験の間に明確な相関を認めず、とくに精子間接蛍光抗体試験は他2種の試験とは別の抗体を検出すると思われる。3種の試験のいずれか1つでも陽性となる症例を Table 9 に示した。実子のある対照では52例中1例(1.9%)のみが陽性であった。これに対し乏精子症159例では21例(13.2%)が陽性で、対照との間に有意差 ( $P < 0.05$ ) を認めた。機能性無精子症では33例中1例(3.0%)のみが陽性であった。閉塞性無精子症では13例中12例(92.3%)、精管結紮術後では12例中7

Table 9.

category of patients	No. of patients	No. of positive at least one of the three tests*
oligozoospermia	159	21 (13.2%) $p < 0.05$
functional azoospermia	33	1 (3.0%)
obstructive azoospermia	13	12 (92.3%) $p < 0.001$
male from unexplained infertile couple	32	5 (15.6%)
post vasectomy	12	7 (58.3%) $p < 0.001$
control (fathered male)	52	1 (1.9%)

\*tube-slide agglutination test  
sperm immobilization test  
indirect immunofluorescent antibody test (positive: titer  $\geq 20$ )

例 (58.3%) が陽性で、いずれも対照との間に有意差 (ともに  $P < 0.001$ ) を認めた。原因不明不妊夫婦の夫 32例では 5例 (15.6%) が陽性であった。正常精子数群 (対照と原因不明不妊夫婦の夫) 84例と造精機能障害群 (乏精子症と機能性無精子症) 192例を比較すると、陽性はそれぞれ 6例 (7.1%) と 22例 (11.5%) で、両群の陽性率に有意差を認めなかった。

### 5. 精子自己凝集と精子凝集抗体

運動精子の10%以上に自己凝集を認めた症例は10例 (乏精子症 grade I 9例, 原因不明不妊夫婦の夫 1例) で、乏精子症および原因不明不妊夫婦の夫の計 191例の 5.2% にあたる。10例の血清および精漿の精子凝集試験 (tube-slide agglutination test, gelatin agglutination test) と精子不動化試験の結果を Table 10 に示した。精子自己凝集のパターンを head-to-head (H-H), tail-to-tail (T-T) および mixed type (H-H あるいは T-T と明確に区別できないもの) に分類すると、10例のうち 7例が T-T type, 3例が mixed type で、H-H type の自己凝集はなかった。10例の血清の tube-slide agglutination test の結果では 4例が陽性であった。乏精子症 grade I および原因不明不妊夫婦の夫の計 96例中、tube slide agglutination test が陽性のものは10例であるが、そのうちの 4例 (40%) に自己凝集を認めた。この頻度は陰性の86例中 6例 (7.0%) に比較して有意に ( $P < 0.01$ ) 高かった。このように、精子自己凝集と血清 tube-slide agglutination test の結果に関連性はあったが、逆に血清に H-H type, 抗体価64の凝集抗体を保有していた原因不明不妊夫婦の夫には精子自己凝集の傾向がみられなかった。

tube-slide agglutination test 陽性で精子自己凝集を呈した 4例のうち 3例は mixed type の自己凝集であった。精漿の本試験では陽性例は認めなかった。

血清 gelatin agglutination test は10例全例に陽性で、精子自己凝集と強い関連を示した。とくに抗体価 4096, 1024と高い症例では、free sperm がないほど強い精子自己凝集を呈するなど、その抗体価と精子自己凝集の程度に関連がみられた。精漿の本試験では、血清の抗体価の高い 4例のみが陽性であった。またその抗体価は、血中のそれよりもずっと低かった。10例のうち 2例において、血清精子不動化抗体が陽性であった。

### 6. 精子運動率と精子不動化抗体

精子数  $10 \times 10^6/\text{ml}$  以上の90症例を対象とし、精子運動率と精子不動化抗体の関連を検討した。90例のうち精子運動率30%未満の症例は18例であった。血清精子不動化試験の結果は、精子運動率30%以上の72例中 2例 (2.8%) が陽性なのに比して、30%未満の18例中 1例 (5.6%) 陽性で、両者に有意差を認めなかった。また、血清精子不動化抗体の強い原因不明不妊夫婦の夫 2例 ( $SI_{50}$ : 32.4, 45.8) の精子運動率はともに70%で、運動活性も良好であった。

精漿中の局所産生抗体による精子運動障害の可能性も考え、精漿の精子不動化試験を施行した。Table 11 にその結果を示したが、精子運動率不良の18例では 3時間の incubation 結果でも SIV が最高1.2と全く不動化を示さなかった。精子運動率良好な乏精子症34例の精漿も同様に全く不動化を示さなかった。また、血清中に精子不動化抗体を保有する12例の精漿でも、本

Table 10. Sperm autoagglutination and anti-sperm antibodies in serum and in seminal fluid.

	semen analysis		serum antibody test			seminal antibody test		
	sperm count (/ml) & sperm motility rate	type & degree of autoagglutination	tube-slide aggl.test	gelatin aggl.test	SI test ( $SI_{50}$ )	tube-slide aggl.test	gelatin aggl.test	SI test
1	$35 \times 10^6$ 70%	Mixed	10% × 4 H-H	×	32	—	—	—
2	$38 \times 10^6$ 70%	T-T	20% —	×	256	—	—	—
3	$30 \times 10^6$ 45%	T-T	20% —	×	512	—	×	8
4	$18 \times 10^6$ 50%	T-T	100% —	×	1024	—	×	64
5	$19 \times 10^6$ 70%	Mixed	100% × 64 H-T	×	4096	28.0	×	128
6	$40 \times 10^6$ 55%	Mixed	60% × 32 H-H	×	256	—	×	4
7	$32 \times 10^6$ 60%	T-T	50% —	×	128	—	—	—
8	$28 \times 10^6$ 70%	T-T	30% —	×	64	—	—	—
9	$31 \times 10^6$ 55%	T-T	10% —	×	16	—	—	—
10	$62 \times 10^6$ 70%	T-T	40% × 8 T-T	×	256	32.4	—	—

Table 11. Results of seminal plasma sperm immobilization test.

	No. of Patients	No. of positive
patients with SI-antibody in serum	12	0
oligozoospermia ( $10 \leq < 45 \times 10^6 / ml$ ) with poor sperm motility rate (<30%)	18	0
oligozoospermia with normal sperm motility rate	34	0

試験陽性例はみられなかった。しかし、このうち SI<sub>50</sub> が45.8と強い血清精子不動態抗体を保有する原因不明不妊夫婦の夫の精漿では、精漿精子不動態試験3時間 incubation の結果、SIV=1.6 と軽度の不動態傾向が見られた (Table 12 A)。このため、患者洗浄精子に精子毒性のない十分量の補体を加えて不動態が起こるかどうかを調べた (Table 12 B)。その結果、SIV=1.9 (3時間 incubation) と不動態傾向を認めた。

7. 血清抗精子抗体保有男性における精子の頸管粘液貫通性

Table 13 に示したように、血清抗精子抗体を保有する原因不明不妊夫婦の夫5例、および軽度の乏精子症1例 (case 6) の計6例について Kremer test を施

行した。Case 1 は Table 12 の症例である。Case 2, 6 はそれぞれ Table 10 の Case 10, 2 に相当し、精子自己凝集を伴う症例である。Kremer test の結果、対照精液ではいずれも精子の頸管粘液貫通性は良好で、30分後にはすでに5 cm まで上昇がみられた。これに対して、精子不動態抗体を有する case 1 では、粘液内に侵入した精子の運動性はある程度保たれているにもかかわらず精子の上昇は不良であった。Case 2 は精子の粘液内侵入も不良で、侵入精子の上昇も不良であった。tube slide agglutination test 陽性の Case 3, 4 については、抗体価の低い Case 3 では精子上昇の抑制はほとんどなかったが、抗体価の高い Case 4 では精子上昇は不良であった。間接蛍光抗体試験のみ陽性の Case 5 では正常との結果を得た。gelatin agglutination test 陽性の Case 6 では、精子の粘液内侵入、上昇ともに不良であった。なお、各症例ともに精液貯留槽の精子は、6時間後にも十分な運動活性を有していた。症例も少なく、Case 2, 6 は精子自己凝集を伴っているため、結論づけるのは問題かと思われるが、以上をまとめると、強い精子不動態抗体や強い精子凝集抗体を保有する男性の精子の頸管粘液貫通性は障害されるという結果であった。

Table 12.

	sperm motility rate			SIV
	1 hr.	2 hrs.	3 hrs.	
A. ( patient's seminal plasma + normal sperm + C' )	65	54	43	1.6
( " " + " - C' )	70	65	67	
B. ( normal virgin serum + patient's washed sperm + C' )	67	56	36	1.9
( " " + " - C' )	64	66	68	

Table 13. Results of Kremer test in males with anti-sperm antibodies in serum.

	sperm penetration distance (cm)					serum anti-sperm antibodies			
	30'	1hr.	2hrs.	3hrs.	6hrs.	tube-slide aggl.	gelatin aggl.	SIT	IFT
case 1	1.0	1.0	1.0	2.5	2.5			SI <sub>50</sub> 45.8	
2	0	0	0.5	1.0	1.0	T-T×8	×256	SI <sub>50</sub> 32.4	
3	2.5	3.5	>5	>5	>5	H-H×4			
4	0.5	1.0	1.0	1.5	1.5	H-H×64			
5	3.5	>5	>5	>5	>5				equatorial×20 acrosomal×10
6	0.5	0.5	0.5	1.0	1.0		×256		
control	>5	>5	>5	>5	>5				

## 考 察

ヒト男性に抗精子自己抗体が産生されうること、およびそれが不妊の原因となりうることが1954年 Wilson<sup>7)</sup>によって初めて報告された。彼は2名の男性の射精精液中で精子が自己凝集したことを報告し、その血中および精漿中に精子凝集抗体が存在していることを証明した。また、その配偶者がAIDにより妊娠したことから、不妊の原因は精漿中の凝集抗体であるとした。ほぼ同時に Rumke<sup>16)</sup>も血中に精子凝集抗体を有する高度の乏精子症患者2名について報告し、そのうち1名の血清は補体存在下で精子不動化作用を有していたとした。その後 Rumke & Hellinga<sup>17)</sup>は Kibrick test にて血清中精子凝集抗体を検索し、実子ある男性416名には抗体価32以上の抗体を有するものがなかったのに対し、不妊男性2015名には67名(3.3%)存在し、両者に有意差を認めた。このことは男性不妊と抗精子抗体の関連性を示唆するものである。また、血清中凝集抗体陽性の無精子症21名のうち16名が閉塞性無精子症であったのに対し、抗体陰性の無精子症172名には閉塞性のもはわずか45名で両群に有意差を認めたとしている。これらの報告以後、男性不妊と抗精子抗体の関連についての研究がなされてきた。

さて、男性不妊に精子免疫が関与する可能性としてつぎの3点が考えられる。①睾丸の自己免疫的变化の結果として造精機能障害が生じる、すなわち臨床的に乏精子症または無精子症が発症する。②抗精子抗体が精子を反応の場とした場合に精子自己凝集、あるいは精子不動化、死滅化による精子運動率の低下などの精液所見の変化を引き起こす。③抗精子抗体の影響により、たとえば精子の頸管粘液貫通性の障害などの精子授精能障害が生じる。ここで①の可能性の1つの根拠として動物における実験的自己免疫性睾丸炎(AIAO)がある。Freundら<sup>18)</sup>はモルモット睾丸ホモジネートあるいは精子を complete adjuvant とともにモルモット皮下に注射し、実験的に精細胞破壊および無精子症を伴う睾丸萎縮を発症せしめることに成功した。Freundらの報告にひきつづき、液性抗体および細胞性抗体出現を伴う多くのAIAOが報告されている。また、ヒトにおいても自己睾丸ホモジネートと Freund's adjuvant による免疫により、他側睾丸に軽微ながら免疫性睾丸炎が発症する<sup>19)</sup>ことが報告されている。臨床的に①、②、③の可能性を検討する場合には、①ではとくに正常精子数を有する者と乏精子症、無精子症患者の抗精子抗体出現頻度の比較、②においては精子自己凝集あるいは精子運動率不良を示す患者

における抗精子抗体の検索、③では実子のある男性と原因不明不妊夫婦の夫の抗精子抗体陽性率の比較、および抗体保有患者における精子の頸管粘液貫通性の検討などが重要で、不妊と免疫の問題解決の一助となると思われる。

凝集抗体検出法としてよく使用されているのは、gelatin agglutination test, tube-slide agglutination test, および tray agglutination test<sup>10,20)</sup>である。今回は tube-slide agglutination test を施行したが、その凝集パターンは H-H type が多かった。文献的にも H-H type agglutination に感受性が強い<sup>21,22)</sup>とされており、これに一致する結果であった。Shulmanら<sup>21)</sup>は不妊男性における陽性頻度を5%と報告しているが、今回の成績では全不妊患者の8.0%に陽性でほぼ同頻度であった。閉塞性無精子症では23.1%と有意に高率に陽性であったが、これは Girgisら<sup>23)</sup>の28%に近い陽性率であった。対照男性1例でも抗体価は低いが陽性であったが、この試験の問題点として、IgG または IgM に属する抗体以外にある種のステロイドと結合した  $\beta$ -lipoprotein など非抗体性凝集素によっても陽性反応となる危険性<sup>24)</sup>が指摘されている。

精子不動化抗体は補体の存在下でしか作用しない補体依存性抗体である。女性においては、凝集抗体が妊婦でも高率に陽性になるのに対し、不動化抗体は原因不明不妊婦人のみに陽性となり<sup>25)</sup>、抗精子抗体としての特異性が高いと考えられている。今回の男性における成績でも対照の実子ある男性には1例も陽性例がなく、これに対して全不妊患者では4.2%が陽性で、やはり抗精子抗体としての特異性が高いことを思わせた。また、原因不明不妊夫婦の夫2例における SI<sub>50</sub> が大きかったことも、不動化抗体と不妊の関連を思わしめた。文献上、男性不妊患者における陽性頻度は6.0%(Schoenfeld<sup>26)</sup>)、6.9%(Fattah<sup>27)</sup>)で、患者構成の違いを考えるとほぼ一致する結果であった。

精子間接蛍光抗体試験は、methanol 固定した精子を抗原とする方法が Hjortら<sup>13)</sup>により発表された。彼らは、この固定により安定した結果を得ることができるとしている。また、精子の head, equatorial area, post nuclear region, tail (とくに main tail piece) に蛍光を示す4つの staining pattern を報告した。今回の成績もこれに一致する staining pattern であった。Tung<sup>28)</sup>は精管結紮術の術前後における抗体出現頻度の検索において、このうち acrosomal, equatorial, post-acrosomal antibody は術前患者にも高頻度にみられることから、natural antibody でありあまり有意義ではないとした。また、acrosomal, equatorial

antibody の頻度は思春期前に peak があったことなどから, microorganism との交叉抗原の存在による, 感染のための抗精子抗体の出現である可能性を示唆した<sup>29)</sup>. この点, 精子膜と細菌細胞壁の炭水化物の抗原交叉性の報告<sup>30)</sup>もあわせて考えると, 可能性もあると思われる. 今回の成績でも, 抗体価 4, 10 では正常対照にも高率に陽性所見を得ており, Tung<sup>28)</sup> と一致する結果であった. しかし, 抗体価 20 以上では正常対照に陽性例がなく, 不妊患者のみに陽性例を認めたことは, 少なくともこの抗体価では不妊と関連しているものと考えられた. この点, 抗体価 30 以上では acrosomal, equatorial antibody と blood donor には陽性例がなく, 不妊患者のみに認めたとする Husted<sup>31)</sup> の成績と比較的近いものであった. post-acrosomal および main tail piece pattern は抗体価は低いながら不妊患者のみに認められ, この 2 種の pattern と不妊との関連を示唆するとも考えられるが, 症例が少ないため断定はできない. acrosomal, equatorial の抗体について immunoglobulin level を検索した結果, どちらも IgG か IgM あるいはその両者に属していたが, これは equatorial antibody の一部に IgA に属するものが存在するとした Husted<sup>31)</sup> の結果とは異なり, Tung<sup>28)</sup> の結果と一致した. 本試験は施設によって結果に差異を認める傾向がある<sup>22)</sup>とされている. この原因の 1 つとして, background fluorescence あるいは non-specific staining というべきものが往々にしてみられる, ということがある. これは, immunoglobulin がその Fc-fragment により精子の Fc-receptor に結合するためと考えられる. 最近 Hjort ら<sup>32)</sup> は本試験に使用する被検血清にペプシン処理を加え, F(ab)<sup>2</sup> として使用する方法により良好な結果を得たと報告している. また, 精子プレパラート作製手技, たとえば精子洗浄の際の遠沈速度<sup>33)</sup>, あるいはプレパラートの冷凍保存<sup>34)</sup>などが結果に影響を及ぼす. これらのことから, 本試験施行上は常に手技を一定にし, またプレパラートは新鮮正常精液から毎回作製し, 判定をより客観的にするために対照プレパラートを必ず同時に検査することが重要であると考えられる.

3 種の抗精子抗体検出試験を通じて, 閉塞性無精子症および精管結紮術後患者における陽性率は有意に高率であった. 閉塞性無精子症<sup>17, 23, 26, 35)</sup>および精管結紮術後患者<sup>36, 37)</sup>において高頻度に抗精子抗体が出現することは, 文献にみられる成績と一致する. とくに精子間接蛍光抗体試験は閉塞性無精子症において 92.3% と高率に陽性であり, 閉塞性無精子症診断の一助となると考えられた. 抗精子抗体出現の成因としては,

上記精路通過障害のほか, 淋菌性あるいは結核性<sup>17)</sup>を含む副睾丸炎<sup>27, 38)</sup>, 前立腺炎<sup>27, 38)</sup>, 精のう炎<sup>39)</sup>, 睾丸炎<sup>27, 40)</sup>などの生殖器感染症および睾丸の外傷<sup>41)</sup>などが報告されている. しかし, 今回の症例では, 精路通過障害以外の明確な病変のため抗体が出現したと思われるものはなかった. 特に精子不動化抗体においては, 上記のような明らかな成因もない原因不明不妊夫婦の夫 2 例で, 閉塞性無精子症にもみられない程の強い抗体を認めたことは注目される.

#### 〔抗精子抗体と造精機能障害〕

正常精子数群 (正常対照と原因不明不妊夫婦の夫) と造精機能障害群 (乏精子症と機能性無精子症) の両群を設定し, 3 種の血清抗精子抗体のうち 1 つでも認めた場合を陽性として抗精子抗体陽性率を検討したところ, 両群間に差を認めなかった. これは抗精子抗体と造精機能障害とは相関しないことを示唆するものである. また, 抗精子抗体が高頻度に認められる閉塞性無精子症, とくに長期間にわたり抗精子抗体陽性が持続しているであろう両側精管欠損などにおいても睾丸生検像がほとんど正常であったことから, 抗精子抗体陽性であることがただちに造精機能障害を惹起しないことを示唆している. この点, 抗精子抗体と無精子症に相関を認めず<sup>42)</sup>, また正常精子数の患者に凝集抗体, 不動化抗体の強陽性のものが多い<sup>31)</sup>ことから, 抗精子抗体は造精機能に影響しないと Husted の考えと一致する. ただ, 乏精子症群と正常対照群とを 3 種の抗体陽性率を総合した数値で比較した場合 (Table 9) に, 乏精子症群で抗体陽性率が高く, 対照群と有意差を認めた. しかしこれは, 機能性無精子症には抗体陽性例がほとんどないことから, 乏精子症例の造精機能障害の原因として抗精子抗体を考えるよりも, むしろ睾丸・副睾丸における精路系の部分閉塞や炎症など, 抗精子抗体を結果として生ぜしめるような他の原因が影響しているためと考える方が妥当であると思われる. けれども, 乏精子症または無精子症において, 精子に対する細胞性免疫陽性率が正常に比して有意に高率であるとする Wall ら<sup>43)</sup>の成績や, 精細胞欠如例と HLA 抗原の関連性<sup>44)</sup>の報告および, 精管結紮術後の抗精子抗体出現と HLA 抗原との関連<sup>45)</sup>の報告があることなどから, 造精機能障害の原因としての抗精子免疫の可能性を全く否定するわけにはいかならないと思われる. したがって, 今後, 抗精子抗体陽性例について精液所見など長期間の観察をすることも必要であろう. また, 造精機能障害例の睾丸組織における免疫グロブリン抗体の沈着について検討することも重要と思われる.

## 〔精子自己凝集と精子凝集抗体〕

精子自己凝集を呈した10例の凝集パターンは tail-to-tail が大部分で、その他が mixed type であり head-to-head type は1例もなかったが、これは Friberg ら<sup>46)</sup>の結果と一致する。これは、血中 H-H agglutination antibody が IgM に属している<sup>47)</sup>ことと、精漿中に IgM が存在しない<sup>48)</sup>ことから考えて、H-H agglutination antibody が精液中に移行していないためと考えられる。精子自己凝集と tube-slide agglutination test 陽性に相関を認めたと、文献的にも2, 3同様の報告<sup>49), 50)</sup>がある。しかし一般的には、gelatin agglutination test との相関<sup>26, 27, 31, 39)</sup>を強調するものが多く、また血清抗体価との相関<sup>27, 31, 46)</sup>を示す報告もあるが、今回の成績でも gelatin agglutination test の抗体価の高いものに精子自己凝集の強いものも多く、一致する成績であった。tube-slide agglutination test よりも gelatin agglutination test の結果により強く関連していたのは、前者がおもに H-H type、後者がおもに T-T type agglutination antibody を detect する<sup>21, 22)</sup>のに対し、精子自己凝集がおもに T-T agglutination antibody による<sup>46)</sup>ためと考えられる。精漿の gelatin agglutination test では血清抗体価の高いものだけが陽性で、その抗体価も血清のそれよりずっと低かったが、これは Friberg ら<sup>46)</sup>の tray agglutination test による成績と一致するものであった。精漿の場合、陰性であっても精子凝集抗体が存在しないのではなく、非常に少ないために検出できないものと考えるのが妥当であろう。精子自己凝集のなかには、細菌、ウィルス、マイコプラズマ、pH の変化、上皮細胞、白血球、その他種々の因子によって引き起こされるものがある<sup>46)</sup>。しかし、今回の成績では、純粋な精子自己凝集は精子凝集抗体により引き起こされることが示唆される。

## 〔精子運動率と精子不活化抗体〕

高度の乏精子症では精子奇形率が多いなど、他の因子により精子運動率が不良となる場合が多いと考えられ、精子運動と精子不活化抗体の関係を論じる対象としては適当ではないので、精子数が  $10 \times 10^6/\text{ml}$  以上の症例にしばって両者の関連を検討した。その結果、血清中精子不活化抗体と精子運動率の良、不良には関連が認められず、Husted<sup>42)</sup>の成績と一致した。すなわち、血清不活化抗体が陽性でしかも抗体価の高い症例においても、その精子運動率は全く良好であった。そのような症例の洗浄精子に十分量の補体を加えると精子運動率が低下したことから、血清中の精子不活化抗体が少量精液中に移行し、抗原である精子表面に結

合していると考えられた。これは、精子不活化抗体が補体依存体であるため、精液中の少量の補体存在下では精子運動に障害を及ぼさないことを示唆している。

精漿精子不活化試験においては、血清抗体陽性の症例も含めて陽性例を認めなかった。運動率不良の症例において、精液中に局所産生抗体が存在している可能性が考えられるが、あったとしてもそれは量的に少ないと思われる。

以上のことから、精子不活化抗体が臨床的に精子運動率不良の原因となる可能性はきわめて少ないと考えられる。

## 〔抗精子抗体と精子頸管粘液貫通性〕

血清精子不活化抗体陽性の症例で、精子運動性その他の精液所見は正常と判定されたにもかかわらず、精子の頸管粘液貫通性が障害されるものが認められた。前述のように、この症例では精子表面に精子不活化抗体が存在していると考えられるため、この抗体の影響により精子貫通性が障害されたものと推測される。精子に不活化抗体 IgG を結合させた場合に精子の頸管粘液貫通性が障害される<sup>51)</sup>が、これを IgG の Fc が粘液 micelle に存在すると思われる Fc 受容体に捕捉されるためであろう<sup>25)</sup>とする報告が議島らによってなされている。この見解は、前記現象を非常によく説明し得ると考える。

また、高い抗体価の精子凝集抗体を有する男性においても精子の頸管粘液貫通性が障害されている結果であったが、このうち gelatin agglutination test 陽性の症例では、精子自己凝集もみられたため、精子に結合した T-T 凝集抗体による影響が考えられた。しかし、tube-slide agglutination test にて H-H agglutination 陽性の症例でも精子貫通性の障害がみられたことは、前述のごとく H-H 凝集抗体が IgM に属する<sup>47)</sup>一方、精液中には IgM は存在しない<sup>48)</sup>とされていることを考えると、この貫通性の障害を H-H 凝集抗体のためと説明することは困難である。今後症例を重ねてさらに検討したいと考える。精子不活化抗体および凝集抗体 (gelatin agglutination test による) と精子貫通性の関連は文献的にも報告がみられる<sup>52~55)</sup>。精子凝集抗体価と精子貫通性の相関が認められたとする報告もあり、これらは凝集抗体と不妊の関連を示唆するものと思われる。

間接蛍光抗体は精子貫通性に影響を及ぼさないという結果を得たが、2, 3同様の報告<sup>54, 55)</sup>を認めた。したがって、この抗体に関しては、不妊に影響しているか否かが不明であった。

Rümke ら<sup>56)</sup>は精子凝集抗体価と妊娠率に逆相関あ

りとする注目すべき報告をしているが、今後、不妊に対する抗精子抗体の影響をさらに詳しく調べていく上で、同様の follow up を抗精子抗体陽性例について行うことが重要であろう。

## 結 語

男性不妊と抗精子抗体の関連を臨床的に検討するため、血清の精子凝集試験、精子不動化試験、および精子間接蛍光抗体試験を施行した。対象は男性不妊患者237名（乏精子症159名、機能性無精子症33名、閉塞性無精子症13名、原因不明不妊夫婦の夫32名）および精管結紮術後患者12名で、正常対照は実子ある男性52名とした。一部症例では精液中の抗精子抗体の検索を、また抗精子抗体保有症例においては Kremer in vitro 精子貫通試験を施行した。得られた成績は以下のとおりである。

(1) 閉塞性無精子症および精管結紮術後症例の血清中抗精子抗体陽性率は、すべての試験で正常対照に比して有意に高頻度であった。とくに間接蛍光抗体試験は閉塞性無精子症で92.3%と高率に陽性で、その試験の一助となると考えられた。

機能性無精子症では、凝集試験が1例で陽性の他はすべて陰性であった。

(2) 正常精子数群と造精機能障害群の抗体陽性率に有意差は認めなかった。また、抗精子抗体陽性の閉塞性無精子症でも、その睪丸生検像はほとんど正常であった。したがって、抗精子自己免疫が造精機能障害の原因となっている可能性は少ないと考えられた。

(3) 精子自己凝集は精子凝集抗体によるものと考えられた。とくに gelatin agglutination test は精子自己凝集を認めた10例全例に陽性で、抗体価と自己凝集の程度にも相関がみられた。

(4) 精子運動率不良群と良好群の血清精子不動化抗体陽性率には有意差がなかった。また、血清精子不動化抗体が陽性の症例でも精子運動率は正常であって、精子不動化抗体が臨床的に精子運動率不良の原因になるとは考えられなかった。

(5) 血清中に強い精子不動化抗体あるいは凝集抗体を保有する男性では、精子の頸管粘液貫通性が障害されていた。間接蛍光抗体陽性例では、そのような障害は観察されなかった。

(6) 精液所見が正常でも血清精子不動化抗体が陽性であれば、精子貫通性が障害されて不妊の原因になりうることから、男性不妊においては血清の抗精子抗体の検索がその原因究明の上で重要であると考えられる。

稿を終えるにあたり、終始御指導ならびに御校閲を賜りました恩師石神襄次教授に深甚なる感謝の意を表します。また本研究に際し直接御指導、御助言をいただきました守殿貞夫助教授に深謝するとともに御協力いただいた教室の諸先生方に感謝いたします。

本論文の要旨は第24回日本不妊学会総会において発表した。

## 文 献

- 1) Landsteiner, K.: Zur Kenntnis der spezifisch auf Blutkoreperchen wirkenden Sera. *Centbl. f. Bakteriolog.*, **25**: 546, 1899.
- 2) Isojima, S., Graham, R.M. and Graham, J.B.: Sterility in female guinea pigs induced by injection with testis. *Science*, **129**: 44, 1959.
- 3) Editorial: Have spermatozoa functions or effects other than fertilization? *JAMA*, **77**: 42, 1921.
- 4) Baskin, M.J.: Temporary sterilization by the injection of human spermatozoa. A preliminary report. *Am. J. Obst. Gynecol.*, **24**: 892, 1932.
- 5) Franklin, R.R. and Dukes, C.D.: Antispermatozoal antibody and unexplained infertility. *Am. J. Obst. Gynecol.*, **89**: 6, 1964.
- 6) Isojima, S., Li, S.T., and Ashitaka, Y.: Immunologic analysis of sperm-immobilizing factor found in sera of women with unexplained sterility. *Am. J. Obst. Gynecol.*, **101**: 677, 1968.
- 7) Wilson, L.: Sperm agglutinins in human semen and blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **85**: 652, 1954.
- 8) Ishigami, J. and Kamidono, S.: Clinical evaluation of male infertility. *Gunma Symp. on Endocr.*, **13**: 95, 1976.
- 9) Shulman, S. and Shulman, J.F.: Spermagglutinating activity in man and guinea pig. *Fertil. Steril.*, **22**: 633, 1971.
- 10) Rose, N.R. et al.: Techniques for detection of iso- and auto-antibodies to human spermatozoa. *Clin. Exp. Immunol.*, **23**: 175, 1976.
- 11) Jones, W.R.: Immunological aspects of infertility. In: *Immunology of Human Reproduction*. Scott, J.S. (ed.) p.375, Academic Press, London, 1976.
- 12) 香山浩二・磯島晋三: 不妊婦人に存在する精子不動化抗体とその検出法. *ホルモンと臨床*, **4**: 617, 1976.

- 13) Hjort, T. and Hansen, K.B.: Immunofluorescent studies on human spermatozoa. I. The detection of different spermatozoal antibodies and their occurrence in normal and infertile women. *Clin. exp. Immunol.*, **8**: 9, 1971.
- 14) Kibrick, S., Belding, D.L. and Merrill, B.: Methods for the detection of antibodies against mammalian spermatozoa. 11. A gelatin agglutination test. *Fertil. Steril.*, **3**: 430, 1952.
- 15) Kremer, J.: A simple sperm penetration test. *Int. J. Fertil.*, **10**: 209, 1965.
- 16) Rümke, P.: The presence of sperm antibodies in the serum of two patients with oligozoospermia. *Vox Sang*, **4**: 135, 1954.
- 17) Rümke, P. and Hellinga, G.: Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. *Am. J. Clin. Pathol.*, **32**: 357, 1959.
- 18) Freund, J., Lipton, M.M. and Thompson, G.E.: Aspermatogenesis in guinea pig induced by testicular tissue and adjuvant. *J. Exp. Med.*, **97**: 711, 1953.
- 19) Mancini, R.E.: Immunopathology of animal and human testis. In: *Human semen and Fertility Regulation in Men*. Hafez, E.S.E. (ed.) p.287, Mosby. St. Louis. 1976.
- 20) Friberg, J.: A simple and sensitive micro-method for demonstration of sperm-agglutinating activity in serum from infertile men and women. *Act. Obst. Gynecol. Scand.*, (Suppl.) **37**: 21, 1974.
- 21) Shulman, S., Harlin, B., Davis, P. and Reyniak, J.V.: Immune infertility and new approaches to treatment. *Fertil. Steril.*, **29**: 309, 1978.
- 22) Boettcher, B. et al.: Auto- and iso-antibodies to antigens of the human reproductive system. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, Sect. C., (Suppl) **258**: entire issue, 1977.
- 23) Girgis, S.M., Ekiadios, E.M., Iskander, R.M. and Ghishn, F.K.: Serum sperm antibodies in cases of azoospermia: Comparative diagnostic value of separate and combined, agglutination, immobilization and cytotoxic serological tests. *Andrologia*, **11**: 417, 1979.
- 24) Boettcher, B., Kay, D.J., Rümke, P. and Wright, L.E.: Human sera containing immunoglobulin and non-immunoglobulin spermagglutinins. *Biol. Reprod.*, **5**: 235, 1971.
- 25) 磯島晋三：精子免疫・不妊症の特殊型。代謝16巻臨時増刊，性 II，p. 569，中山書店，1979。
- 26) Schoenfeld, C., Amelar, R.D. and Dubin, L.: Sperm antibody testing in infertile men. *Arch. Androl.*, **1**: 111, 1978.
- 27) Fattah, A.A., Azim, A.A., Habeib, M. and Rafik M.: Studies on infertility in males. *Fertil. Steril.*, **33**: 157, 1980.
- 28) Tung, K.S.K.: Human sperm antigens and antisperm antibodies. I. Studies on vasectomy patients. *Clin. exp. Immunol.*, **20**: 93, 1975.
- 29) Tung, K.S.K. et al.: Human sperm antigens and antisperm antibodies. 11. Age-related incidence of antisperm antibodies. *Clin. exp. Immunol.*, **25**: 73, 1976.
- 30) Sarkar, S.: Carbohydrate antigens of human sperm and autoimmune induction of infertility. *J. Reprod. Med.*, **13**: 93, 1974.
- 31) Husted, S.: Sperm antibodies in men from infertile couples. *Int. J. Fertil.*, **20**: 113, 1975.
- 32) Hjort, T. and Poulsen, F.: Reactivity of F(ab)/fragments of sperm antibodies in agglutination, immobilization and immunofluorescent tests. *Arch. Androl.*, **1**: 83, 1978.
- 33) Kay, R. and Alexander, N.J.: Immunofluorescence titers of sperm centrifuged at different speeds. *Clin. exp. Immunol.*, **32**: 299, 1978.
- 34) Alexander, N.J. and Kay, R.: Antigenicity of frozen and fresh spermatozoa. *Fertil. Steril.*, **28**: 1234, 1977.
- 35) Phadke, A.M. and Padukone, K.: Presence and significance of autoantibodies against spermatozoa in the blood of men with obstructed vas deferens. *J. Reprod. Fertil.*, **7**: 163, 1964.
- 36) Ansbacher, R.: Vasectomy: Sperm antibodies. *Fertil. Steril.*, **24**: 788, 1973.
- 37) Hellema, H.W.J. and Rümke, P.: Sperm autoantibodies as a consequence of vasectomy. I. Within 1 year post-operation. *Clin. exp. Immunol.*, **31**: 18, 1978.
- 38) Bandhauer, K.: Untersuchungen über immunbiologische Ursachen der männlichen Sterilität. *Klin. Med.*, **18**: 205, 1963.
- 39) Fjallbrant, B.: Immunoagglutination of sperm in cases of sterility. *Acta Obst. Gynecol. Scand.*, **44**: 474, 1965.

- 40) Cruickshank, B. and Stuart-Smith, D.A.: Orchitis associated with sperm agglutinating antibodies. *Lancet* **1**: 708, 1959.
- 41) Haensch, R.: Fluoreszenzimmunologische Spermienautoantikörper Befunde bei männlichen Fertilitätsstörungen. *Arch. Gynaekol.*, **208**: 91, 1969.
- 42) Husted, S.: Immobilizing and cytotoxic sperm antibodies in serum and seminal plasma and their relation to other sperm antibodies. *Acta path. microbiol. Scand., Sect. C*, **83**: 338, 1975.
- 43) Wall, J.R. et al.: Immunologic studies of male infertility. *Fertil. Steril.*, **26**: 1035, 1975.
- 44) Kamidono, S., Matsumoto, O., Ishigami, J., Nakao, Y. and Tsuji, K.: Infertility and HLA antigen-male infertility and infertile couples. *Andrologia*, **12**: 317, 1980.
- 45) Law, H.Y. et al.: The immune response to vasectomy and its relation to the HLA system. *Tissue Antigens*, **14**: 115, 1979.
- 46) Friberg, J. and Friberg, I.T.: Spontaneous sperm agglutination in ejaculates from men with head-to-head or tail-to-tail spermagglutinating antibodies in serum. *Fertil. Steril.*, **28**: 658, 1977.
- 47) Friberg, J.: Immunological studies on spermagglutinating sera from men. *Acta Obst. Gynecol. Scand., (Suppl.)* **37**: 43, 1974.
- 48) Rümke, P.: The origin of immunoglobulins in semen. *Clin. exp. Immunol.*, **17**: 287, 1974.
- 49) DeCooman, S.E., Abadallah, M.A. and Schirren C.: Sperm autoagglutination. Clinical, morphological and immunological study. *Andrologie*, **4**: 61, 1972.
- 50) Makler, A.: Case report: Sterility due to sperm autoagglutination. *Int. J. Fertil.*, **21**: 130, 1976.
- 51) 伊熊健一郎・ほか: 抗精子抗体の種類粘液内精子貫通性に及ぼす影響. *日本不妊誌*, **25**: 157, 1980.
- 52) Fjallbrant, B.: Sperm antibodies and sterility in men. *Acta Obst. Gynecol. Scand.*, **47**: Suppl.4 (entire issue), 1968.
- 53) Kremer, J. and Jager, S.: The sperm-cervical mucus contact test. A preliminary report. *Fertil. Steril.*, **27**: 335, 1976.
- 54) Morgan, H. et al.: Sperm/cervical-mucus cross hostility testing and antisperm antibodies in the husband. *Lancet* **1**: 1228, 1977.
- 55) Hendry, W.F., Morgan, H. and Stedronska, J.: The clinical significance of antisperm antibodies in male subfertility. *Brit. J. Urol.*, **49**: 757, 1977.
- 56) Rümke, P. et al.: Prognosis of fertility of men with sperm agglutinins in the serum. *Fertil. Steril.*:25St, 393 1974.

(1981年1月19日迅速掲載受付)