

体外受精のための新しい卵巣刺激法(bromocriptine-rebound method): 卵成熟の改善と妊娠率の上昇

杏林大学医学部産婦人科学教室

神野 正雄 生方 良延 佐藤 学
勝又木綿子 吉村 泰典 中村 幸雄

A Novel Method of Ovarian Stimulation for In Vitro Fertilization (Bromocriptine-rebound Method) Increases Developmental Potential of Oocytes and Pregnancy Rate

Masao JINNO, Yoshinobu UBUKATA, Manabu SATOU, Yuuko KATSUMATA,
Yasunori YOSHIMURA and Yukio NAKAMURA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Kyorin University, Tokyo

概要 体外受精の新しい卵巣刺激法(bromocriptine-rebound法:BR法)を考案し,その有効性および機序を検討した。GnRH agonist併用hMG法のlong protocol(L法)にて体外受精不成功の既往をもつ,40歳未満の正常月経周期(PRL値も正常)を有する症例を対象とした。卵巣刺激は以下の3種を用いた。BR法:前周期低温期第4日より連日bromocriptine 2.5mgを内服し,高温期4日目よりbuserelin acetateを経鼻投与した。月経開始後3~14日目にbromocriptine内服を中止し,その7日後よりhMGを連日投与し,主席卵胞径16~18mmでhCGを投与した。bromocriptine-continuous法(BC法):bromocriptineをhCG投与日まで内服,それ以外はBR法と同じ。L法:bromocriptineを投与しない,それ以外はBR法と同じ。以上の3種の卵巣刺激法による成績を比較した。採卵術あたり妊娠率は,BR法(70周期)で56%,L法(46周期)で33%,BC法(7周期)で29%と,BR法で有意に高かった。採卵数・卵あたり受精分割率は,BR法で8.3・59.1%,L法で8.3・46.3%,BC法で7.0・49.0%と,採卵数には差がなかったが,受精分割率はBR法で有意に高かった。良好形態胚の割合は,BR法57.3%,L法48.0%,BC法41.7%と,BR法で有意に高かった。hMG投与開始日の血清PRL値(ng/ml)は,BR法 14.9 ± 1.5 ,L法 7.9 ± 1.7 ,BC法 2.5 ± 0.7 と,BR法で有意に高かった。BR法での血清PRL値は,bromocriptineの投与により,有意に低下し,投与中止後に有意に上昇し,この上昇レベルはbromocriptine投与前の値に比しても有意に高く,PRL分泌抑制の反動が認められた。以上の結果から,BR法は卵の受精・胚発育能を向上して妊娠率を増加し,その機序としては血清PRL値の正常範囲内での上昇が関与していると考えられた。

Synopsis A novel method of ovarian stimulation for IVF is reported. Endocrine-normal ovulatory women with a history of unsuccessful IVF attempts by means of a long protocol of a GnRH agonist/hMG regimen (L regimen) were studied. Ovaries were stimulated by the three regimens described below. The bromocriptine-rebound (BR) regimen consisted of bromocriptine (B) 2.5mg/day administered daily beginning on day 4 of the preceding cycle and buserelin acetate administered beginning in early high phase. Administration of B was discontinued in the low phase of the IVF cycle and daily administration of hMG was begun 7 days later. HCG was administered when dominant follicles reached 16-18mm in diameter. The bromocriptine-continuous (BC) regimen was the same as the BR regimen, except that B was administered until the administration of hCG. The L regimen was the same as the BR regimen, except that no B was administered. The pregnancy rate per oocyte retrieval was significantly higher on the BR regimen (56% in 70 cycles) than the L regimen (33% in 46 cycles), and lowest on the BC regimen (29% in 7 cycles). The rate of fertilization and cleavage

per oocyte and the proportion of morphologically-good embryos were significantly higher on the BR regimen (59.1% and 57.3%, respectively) than the L regimen (46.3% and 48.0%, respectively), and lowest on the BC regimen (49.0% and 41.7%, respectively). Serum PRL concentrations (ng/ml) at the time hMG was started were 14.9 ± 1.5 , 7.9 ± 1.7 and 2.5 ± 0.7 on the BR, L and BC regimens, respectively. The results of this study show that the BR regimen increases the developmental potential of oocytes and the pregnancy rate, probably because of increasing serum PRL levels to within the normal range.

Key words: Ovarian stimulation • Bromocriptine • Prolactin • In vitro fertilization • Pregnancy rate

緒 言

体外受精において、複数の至適に成熟した卵を得ることは、良好な妊娠率を得るための要点の一つである。そこで clomiphene citrate¹⁾・human menopausal gonadotropin (hMG)²⁾・gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a)³⁾などを使用する諸種の卵巣刺激法が考案・検討され、その結果、過半数の症例で良好な成熟卵が安定して得られるようになった。しかしながら、卵胞発育が起きなかったり著しく不良な poor responder や⁴⁾、多数の卵胞が発育するにもかかわらず卵の質が悪い症例など⁵⁾、現在の卵巣刺激法で良好な卵の得られない症例も少なくない。これに対し、growth hormone (GH) の併用が有効との報告もあるが⁶⁾、無効の報告もあり⁷⁾、いまだ結論に至っていない。

そこで、我々は、体外受精のための新しい卵巣刺激法 (bromocriptine-rebound method: BR 法) を考案し、卵成熟の改善と妊娠率の上昇を得ることができたので報告する。

研究方法

1. 対象

GnRH-a 併用 hMG 法の long protocol (L 法) にて体外受精不成功の既往をもつ、40歳未満の正常月経周期を有する症例84人を対象とした。ただし重症男性不妊と子宮性不妊は除外した。さらに、対象としたすべての症例で、自然周期の卵胞・排卵・黄体各期の血清 prolactin (PRL) 値は正常範囲であり、TRH 刺激試験も正常であった。対象は、以下に詳述する3種の卵巣刺激法: L 法・BR 法および bromocriptine-continuous 法 (BC 法) に、prospective に割当てられ、その結果、L 法で46周期、BR 法で70周期、BC 法で7周期の体外受精を施行した。対象84人の振り分けは、23人は L 法のみ、38人は BR 法のみ、5人は BC 法のみ、16人は L 法と BR 法の両方に、2人は L 法と BC 法の両方に割当てられた。3群における既往 L 法不成功回数 (mean±SEM) は、L 法群: 1.3 ± 0.1 , BR 法群: 1.6 ± 0.1 , BC 法群: 1.3 ± 0.3 であり、3群間に有意な差を認めなかった (分散分析)。これらの3群の体外受精成績を、

表1 各群における年齢と不妊原因の比較

	初回 Long protocol (N=154)	既往 Long protocol 不成功症例			ANOVA 又は χ^2 検定
		Long protocol (N=46)	Bromocriptine-rebound (N=70)	Bromocriptine-continuous (N=7)	
年齢	$32.5 \pm 0.3^*$	33.6 ± 0.5	33.5 ± 0.4	34.4 ± 1.1	NS
不妊原因#] NS
T	95	27	43	5	
M	21	4	9	0	
T+M	11	3	3	1	
E	9	1	3	0	
I	18	11	12	1	

* mean±SEM

T: 卵管性不妊, M: 男性不妊, E: 子宮内膜症, I: 原因不明

同時期に初めてL法にて体外受精を行った症例(L法初回群:154周期)の成績とともに,比較検討した。なお,4群における年齢・適応には有意の差を認めなかった(表1)。

2. 卵巣刺激法

比較した3種の卵巣刺激法を以下に詳述し,その要点を図1に示す。

1) GnRH-a併用hMG法のL法

高温相第4日よりGnRH-aのbuserelin acetate (Suprecur; Hoechst, 東京) 900 μ g/日を連日経鼻投与し,約3週間後に血清estradiol (E_2)値が20pg/ml未滿,かつ経腔超音波断層法で卵胞径が12mm未滿であることを確認したうえで,hMG (Humegon; Organon, 東京)の連日筋注投与を開始した。hMGの1日投与量は,3アンプル(FSH 75IU+LH 75IU/1アンプル)で開始し,血清 E_2 値が200pg/mlを超え,主席卵胞径が13mmを超えたとき2アンプルに減量した。主席卵胞径が16~18mmで,かつ血清 E_2 値が400pg/ml以上に達した日に,最後のhMGを1アンプルに減量投与し,その日の夜にhuman chorionic gonadotropin (hCG) 10,000IU (Gonatotrin; 帝国臓器, 東京)を筋注投与し,buserelin acetate投与を中止した。hCG 36時間後に,経腔超音波断層法監視下に卵胞を穿刺・吸引して採卵した。

2) BR法

前周期低温相第4日よりbromocriptine (Parlodol; Sandoz, 東京)を就寝前に1回連日内服した。投与量は1.25mg/日より開始し,3~4日後2.5mg/日に増量し,これを維持した。高温相第4

日よりbuserelin acetateを投与し,月経開始後3~14日に血清 E_2 値<20pg/mlかつ卵胞径<12mmを確認したうえでbromocriptine内服を中止し,その7日後よりhMG投与を開始した。この際,buserelin acetate投与期間が約3週間となるようにhMG開始日を設定し,その7日前をbromocriptine中止日とした。buserelin acetateとhMGの投与量,hCGの投与日決定と投与量,およびhCGから採卵までの時間は,すべてL法と同じとした。要約すると,hMG投与開始の前にbromocriptineを内服した点以外はL法と同じであった。

3) BC法

bromocriptine内服をhMG投与開始の前に中止しないで,hCG投与まで継続した。それ以外の点は,BR法と同じであった。

3. 体外受精・胚移植

採卵は,hCG投与36時間後に,経腔超音波断層法監視下に卵胞を穿刺・吸引して行った。体外受精・胚培養は,不活化患者血清⁸⁾を10%添加したhuman tubal fluid medium (HTF medium; #9962, Irvine, U.S.A.)を用い,既報⁹⁾のごとく行った。精子処理は,男性因子正常者に対しては,遠沈洗浄を2回繰り返した後,swim-up 45分にて運動精子を回収して媒精に供した。男性不妊においては,精液を30%,80%percoll 2層法にて遠沈洗浄し,再度遠沈にてpercollを除去した後,swim-up 30分にて運動精子を回収して媒精に供した。媒精は,採卵後2~6時間に,前進運動精子150,000/mlにて行った。媒精後16~20時間に前核形成を確認して受精を判定した。媒精後36~48時間に胚分割を観察し,Veeck⁹⁾の形態分類に基づき胚のgradeを評価した。その結果grade 1とgrade 2(割球の大きさが均等でかつfragmentationが全くないかごく少量であるもの)を良好胚とした。媒精後36~48時間において経頸管的に子宮腔内に胚移植し,移植日より連日progesterone 25mg (Oophormin luteum; 帝国臓器, 東京)を筋注投与した。採卵後10日目および14日目に血清hCG値を測定し,その上昇をもって妊娠と判定した。さらに,妊娠14週を超えて正常に経過した

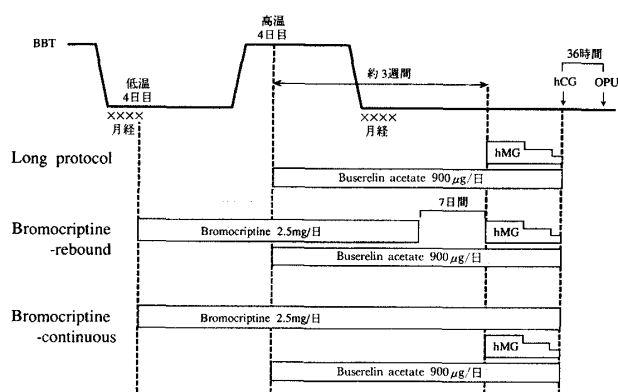


図1 各種卵巣刺激法の要点。OPU: oocyte pick-up

妊娠 (出産例を含む) を継続妊娠と定義した。

4. ホルモン測定

血清 PRL 値・E₂ 値および GH 値は, radio-immunoassay (スパック-S PRL, 第一ラジオアイソトープ, 東京・E₂ キット, DPC, 東京および GH キット第一, 第一ラジオアイソトープ, 東京) により測定した。血清 PRL 値・E₂ 値および GH 値測定の感度は, それぞれ 1.0ng/ml・10pg/ml および 0.01ng/ml であった。同時測定内変動係数および測定間変動係数は, 血清 PRL 値測定に関して, それぞれ 6.3% および 6.9%, 血清 E₂ 値測定に関して, それぞれ 5.6% および 6.8%, 血清 GH 値測定に関して, それぞれ 5.3% および 6.9% であった。血清 LH 値および hCG 値は, radial partition fluorometric enzyme immunoassay (Stratus system; Baxter, 東京) により測定し, その感度・同時測定内および測定間変動係数は, 血清 LH 値測定に関して, それぞれ 0.3IU/l・5.1% および 8.6%, 血清 hCG 値測定に関して, それぞれ 1.9 IU/l・5.8% および 7.5% であった。

5. 統計

結果は χ^2 検定・Fisher 直接検定・分散分析・Fisher PLSD および t 検定により適宜分析し, $p < 0.05$ をもって有意と判定した。

研究成績

採卵数および卵あたり受精・胚発育率の比較を図 2 に示す。採卵数は, L 法で 8.3 ± 0.6 個, BR 法で 8.3 ± 0.8 個, BC 法で 7.0 ± 1.8 個と, L 法と BR 法には差がなかったが, BC 法では有意でないながら低下の傾向が示唆された。卵あたり受精・胚発育率は, L 法で 46.3% と, 初回 L 法での 61.1%

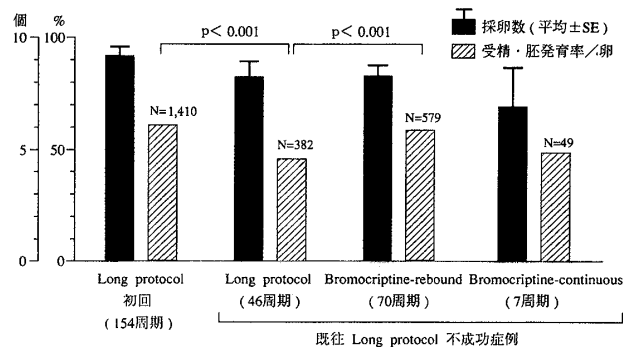


図 2 採卵数および卵あたり受精・胚発育率

より有意に低下した ($p < 0.001$, χ^2 検定)。これに対し, BR 法では 59.1% と L 法の 46.3% より有意に高く ($p < 0.001$, χ^2 検定), 受精胚発育の改善効果が認められた。BC 法での受精胚発育率は 49% と低く, BR 法で認められたような受精胚発育の改善効果は認められなかった。

分割胚において良好胚 (Veeck の形態分類⁹⁾ による grade 1 および 2) の占める割合を図 3 に示す。初回 L 法では 61.0% が良好胚であったが, L 法で不成功の既往をもつ症例に再度 L 法を用いたときには, 48.0% と有意に減少した ($p < 0.01$, χ^2 検定)。これに対し, L 法で不成功の既往をもつ症例に BR 法を用いると, 良好胚の割合は 57.3% と, L 法の 48.0% より有意に高かった ($p < 0.05$, χ^2 検定)。BC 法では 41.7% と低く, BR 法で認められるような胚発育の改善効果は認められなかった。

各卵巣刺激法における採卵術あたりの妊娠率を図 4 に示す。初回 L 法の全妊娠率は 58% であったが, 既往 L 法不成功症例に対して L 法を再度用い

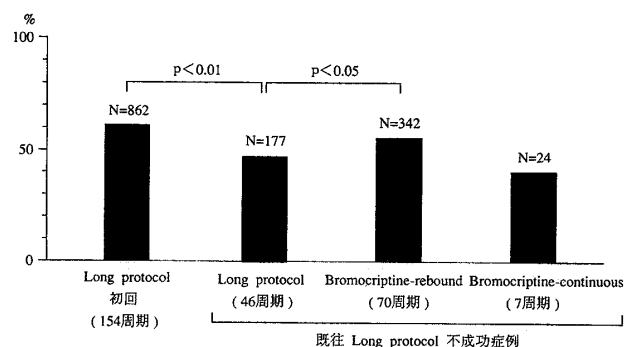


図 3 分割胚において良好胚の占める割合。良好胚は, Veeck の形態分類⁹⁾ による grade 1 および 2 とした

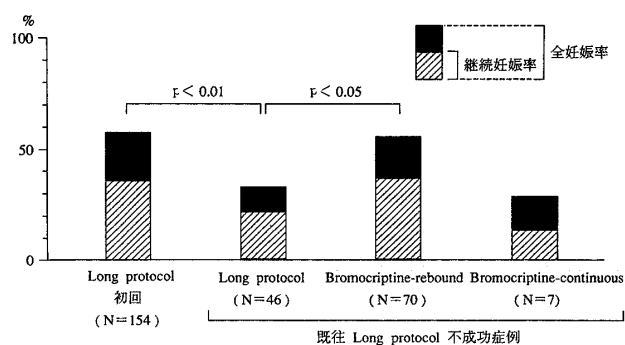


図 4 採卵術あたり妊娠率

表2 卵胞発育に関する各種パラメーター (mean±SEM)

	初回 Long protocol (N=154)	既往 Long protocol 不成功症例			ANOVA p
		Long protocol (N=46)	Bromocriptine-rebound (N=70)	Bromocriptine-continuous (N=7)	
hCG 投与日の					
主席卵胞径 (mm)	17.1±0.1*	17.5±0.2	17.9±0.2	17.7±0.7	0.01
卵胞数 (≥12mm)	10.7±0.5	10.4±1.0	11.1±0.8	7.9±1.2	NS
E ₂ (pg/ml)	1,065±52	965±81	999±77	847±124	NS
LH (IU/l)	1.6±0.1	1.6±0.2	1.3±0.1	1.1±0.4	NS
平均 GH (ng/ml)	6.2±0.4	6.4±0.6	6.0±0.5	7.5±1.4	NS
hMG	7.0±0.1#	7.6±0.2	7.9±0.2	7.3±0.5	0.0001
	1,292±26#	1,554±71	1,560±44	1,339±119	0.0001

* p<0.05 vs Bromocriptine-rebound

p<0.05 vs 2回目 Long protocol/Bromocriptine-rebound] Fisher PLSD

ると、全妊娠率は33%に有意に低下した (p<0.01, χ^2 検定). これに対し、既往 L 法不成功症例に対する BR 法の全妊娠率は56%で、L 法の全妊娠率33%に比し有意に高かった (p<0.05, χ^2 検定). また、統計的に有意でないながら、BC 法の全妊娠率は29%と最も低かった. 継続妊娠率も、BR 法で37%と高く、L 法で22%と低く、BC 法で14%と最も低かったが、その差は統計的には有意でなかった.

卵胞発育に関する各種パラメーターを表2に示す. 比較したパラメーターは、hCG 投与日における主席卵胞径・卵胞数 (≥12mm)・E₂値・LH 値、hMG 投与期間中の平均血清 GH 値、および hMG の投与日数と総投与量である. 既往 L 法不成功症例に対する3種の卵巣刺激法に関しては、いずれのパラメーターにも有意の差を認めなかった. 4群間での比較では、初回 L 法で、hMG 投与日数および総投与量が、既往 L 法不成功症例に対する L 法および BR 法に比し有意に少なく (p<0.05, Fisher PLSD), また hCG 投与日における主席卵胞径が、既往 L 法不成功症例に対する BR 法に比し有意に小さかった (p<0.05, Fisher PLSD).

既往 L 法不成功症例に対する3種の卵巣刺激法に関して、血清 PRL 値の推移を比較した (図5). BR 法では、PRL 値は bromocriptine の投与により有意に低下したが (p<0.0001, t 検定, 前周期低温4日 vs 前周期高温4日・低温3日および bromocriptine 最終日), bromocriptine 投与中止

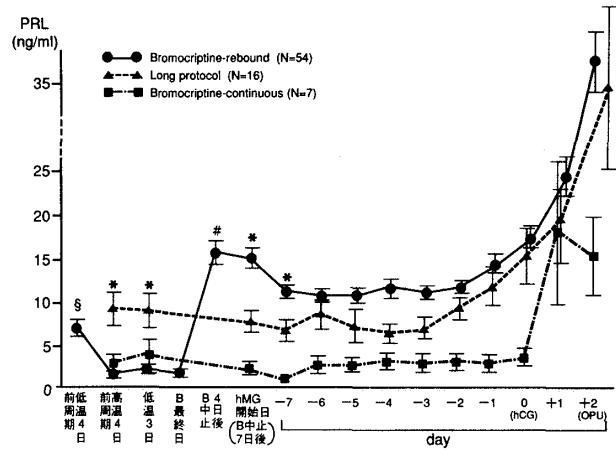


図5 既往 L 法不成功症例における各種卵巣刺激法での血清 PRL 値の推移. B: bromocriptine, OPU: oocyte pick-up. §: p<0.0001 (vs 前周期高温4日・低温3日および B 最終日), #: p<0.0001 (vs B 最終日および前周期低温4日), *: p<0.05 (BR 法 vs L 法)

4日後には bromocriptine 最終日に比し有意に上昇していた (p<0.0001, t 検定). この bromocriptine 投与中止4日後の値は、bromocriptine 投与前の前周期低温4日の値に比しても有意により高く (p<0.0001, t 検定), 抑制解除の反動つまり rebound が起きていると考えられた. その後、PRL 値はやや低下するも、bromocriptine 投与前の PRL 値より高い約11~12ng/ml のレベルを day -2まで保った. day -1より徐々に再度上昇をし始め、hCG 投与後上昇は加速して有意の上昇を示した (p<0.05, day 0 vs day +1; p<0.01,

day +1 vs day +2). L 法では, PRL 値は, hMG 投与前および投与中 day -2まで約7~9ng/ml のレベルを保ち, day -1より上昇し, hCG 投与後加速した. BC 法では, PRL 値は bromocriptine の投与により低下し, 投与中止の day 0まで約3~4 ng/ml の低値を保った. bromocriptine の投与中止後, day +1に day 0に比し有意に上昇するも ($p < 0.0001$, t 検定), day +2に若干低下傾向を認めた.

結局, hMG-hCG 投与中の PRL レベルは, BR 法で正常範囲内ながら高く, L 法で中間レベル, BC 法で低値であった. hMG 開始日および day -7の PRL 値は, L 法に比し BR 法で有意に高かった ($p < 0.05$, t 検定).

考 察

血清 PRL 値は, 正常月経周期の卵胞期において血清 E_2 値の上昇と一致して上昇する¹⁰⁾. また, ヒト卵巣には PRL receptor の存在が示されており¹¹⁾, PRL がヒト卵巣機能発現に生理的な役割を果たしていると考えられる. ウサギ卵の体外成熟実験において, 培養液への PRL 添加は卵成熟とくに細胞質成熟を促進し, 受精後の胚発育率が上昇するとの報告がみられる¹²⁾. ヒト体外受精においても, 妊娠に至った受精卵の由来する卵胞では, 妊娠に至らなかった卵胞に比し, 卵胞液中 PRL 濃度が約2倍高いことが報告されている¹³⁾. また, 低 PRL 血症は卵巣の steroid 産生能に有害な影響を及ぼすことが示されている¹⁴⁾. 臨床的にも, 体外受精前3日間の平均 PRL レベルから低・正および高 PRL 血症の3群に分けたとき, 低 PRL 血症群では受精率および胚分割率が有意に低いことが認められた¹⁵⁾. さらに, bromocriptine 投与による低 PRL 血症でも, 体外受精の受精率が低下することが観察されている¹⁶⁾. これらの所見は, 本研究の BC 法で卵の受精・胚発育能が劣化する傾向が認められたことと一致する. このように, PRL は生理的な卵の発育・成熟に重要な役割を果たしており, そのレベルが高すぎても低すぎても卵の発育・成熟が不良となると考えられる.

GnRH が PRL 分泌を刺激することは以前より報告されており¹⁷⁾¹⁸⁾, これは gonadotropin と

PRL の神経内分泌学的分泌調節機構が共通点を有するためと考えられている¹⁹⁾. 一方, GnRH associated peptide は, PRL 分泌を抑制すると報告されている²⁰⁾. GnRH-a の血清 PRL 値に及ぼす影響としては, 上昇するとの報告²¹⁾²²⁾, 低下するとの報告²³⁾²⁴⁾, 初めの2週間は上昇させ, その後の2週間では投与前のレベルに戻る²⁵⁾など, さまざまな報告がみられる. 我々も, GnRH-a の PRL 分泌能に及ぼす影響を調べるために, 初回 L 法において GnRH-a 投与による下垂体脱感作の前後で PRL 分泌刺激テスト (TRH テスト) を施行した. その結果 PRL 分泌能は, GnRH-a 投与により, 妊娠群 (対象の44%) では増加し, 非妊娠群 (対象の56%) では低下の傾向を認めた (unpublished data). したがって, L 法を用いるとき, GnRH-a 投与により PRL 分泌能が亢進する症例と低下する症例が約半々あり, 低下する症例では PRL 不足のために卵の発育・成熟が不良となり, そのため妊娠率が低下したと考えられた. こうした既往 L 法不成功症例に BR 法を用いると, GnRH-a による PRL 分泌能の低下が BR 法により補正され, 至適な PRL レベルとなって卵の発育・成熟が改善し, その結果, 妊娠率が増加したと考えられた. PRL レベルを上昇させるには metoclopramid や sulpiride を投与することも可能であるが, 過剰となって高 PRL 血症となり, 卵の発育・成熟がかえって不良となることも推測される. この点 BR 法では, 生理的な PRL レベルの調節機構が維持されるため, 卵の発育・成熟にとって至適な PRL レベルへの補正が可能となるものと考えられる.

体外受精成績と PRL レベルに関しては, 多数の報告があるが, ほとんどすべての報告が, 排卵期における一過性高 PRL 血症についての検討であり, 本研究で問題としている tonic な PRL レベルの高低とは異なる事象についてである. 排卵期における一過性高 PRL 血症は, 自然周期¹⁰⁾および卵巣刺激周期²⁶⁾でしばしば認められ, 血清 E_2 値の上昇と関連して発生し, midcycle gonadotropin surge と連動した PRL の放出と考えられ²⁷⁾, 本来生理的な現象であろうとの見解が有力である. 排卵期一過性高 PRL 血症の体外受精成績に

及ぼす影響については、大多数の報告は影響しないと結論しており¹⁶⁾²¹⁾²⁶⁾、少数の報告で悪影響²⁸⁾や好影響¹⁵⁾が認められた。本研究では、L法・BR法の両群において血清PRL値はhCG投与2日後で最も高く、両群で同様に排卵期一過性高PRL血症が観察された。

本研究は、体外受精のための新しい卵巣刺激法としてBR法を考案・検討し、その高い有効性を示した。さらに、低PRL血症の不妊原因としての意義も示唆され、BR法は機能性不妊の一部の症例に対しても治療効果が期待されうると考える。

文 献

1. Trounson AO, Leeton JF, Wood C, Webb J, Wood J. Pregnancies in humans by fertilization in vitro and embryo transfer in the controlled ovulatory cycle. *Science* 1981; 212: 681-682
2. Jones HW Jr, Jones GS, Andrews MC, Acosta A, Bundren C, Garcia J, Sandow B, Veeck L, Wilkes C, Witmyer J, Wortham JE, Wright G. The program for in vitro fertilization at Norfolk. *Fertil Steril* 1982; 38: 14-21
3. Porter RN, Smith W, Craft IL, Abdulwahid NA, Jacobs HS. Induction of ovulation for in-vitro fertilisation using buserelin and gonadotropins. *Lancet* 1984; 2: 1284-1285
4. Jones GS, Muasher SJ, Rosenwaks Z, Acosta AA, Liu H-C. The perimenopausal patient in in vitro fertilization: The use of gonadotropin-releasing hormone. *Fertil Steril* 1986; 46: 885-891
5. Muasher SJ. Stimulation protocols for patients with "atypical response". *Ann NY Acad Sci* 1988; 541: 82-95
6. Ibrahim ZHZ, Matson PL, Buck P, Lieberman BA. The use of biosynthetic human growth hormone to augment ovulation induction with buserelin acetate/human menopausal gonadotropin in women with a poor ovarian response. *Fertil Steril* 1991; 55: 202-204
7. Shaker AG, Fleming R, Jamieson ME, Yates RWS, Coutts JRT. Absence of effect of adjuvant growth hormone therapy on follicular response to exogenous gonadotropins in women: Normal and poor responders. *Fertil Steril* 1992; 58: 919-923
8. Jinno M. Comparison of media used for human in vitro fertilization and embryo transfer programs—A new method of serum preparation—. *Acta Obstet Gynaecol Jpn* 1986; 38: 102-110
9. Veeck LL. Oocyte assessment and biological performance. *Ann NY Acad Sci* 1988; 541: 259-274
10. Schulz KD, Geiger W, Del Pozo E, Kunzig HJ. Pattern of sexual steroids, prolactin, and gonadotropic hormones during prolactin inhibition in normally cycling women. *Am J Obstet Gynecol* 1978; 132: 561-566
11. Saito T, Saxena BB. Specific receptors for prolactin in the ovary. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1975; 80: 126-137
12. Yoshimura Y, Hosoi Y, Iritani A, Nakamura Y, Atlas SJ, Wallach EE. Developmental potential of rabbit oocyte matured in vitro: The possible contribution of prolactin. *Biol Reprod* 1989; 40: 26-33
13. Laufer N, Botero-Ruiz W, DeCherney AH, Haseltine F, Polan ML, Behrman HR. Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 58: 430-434
14. Kauppila A, Martikainen H, Puistola U, Reinila M, Ronnberg L. Hypoprolactinemia and ovarian function. *Fertil Steril* 1988; 49: 437-441
15. Oda T, Yoshimura Y, Takehara Y, Kohriyama S, Sano Y, Tanabe K, Kobayashi T, Nakamura Y, Ohno T, Nozawa S. Effects of prolactin on fertilization and cleavage of human oocytes. *Horm Res* 1991; 35: 33-38
16. Gonen Y, Casper RF. The influence of transient hyperprolactinemia on hormonal parameters, oocyte recovery, and fertilization rates in in vitro fertilization. *J Vitro Fert Embryo Transfer* 1989; 6: 155-159
17. Yen SSC, Hoff JD, Lasley BL, Casper RF, Sheehan KL. Induction of prolactin release by LRF and LRF-agonist. *Life Sci* 1980; 26: 1963-1967
18. Tan YM, Steele PA, Judd SJ. The effect of physiological changes in ovarian steroids on the prolactin response to gonadotrophin releasing factor. *Clin Endocrinol* 1986; 24: 71-78
19. Mais V, Yen SSC. Prolactin-releasing action of gonadotropin-releasing hormone in hypogonadal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 1089-1092
20. Nicolics K, Mason AJ, Szonyi E, Ramachandran J, Seeberg PH. A prolactin inhibiting factor

- within the precursor for human gonadotropin releasing hormone. *Nature* 1985 ; 316 : 511—517
21. *Meldrum DR, Cedars MI, Hamilton F, Huynh D, Wisot A, Marr B.* Leuprolide acetate elevates prolactin during ovarian stimulation with gonadotropins. *J Assisted Reprod Genetics* 1992 ; 9 : 251—253
 22. *Crosignani PG, Maini MC, Negri E, Ragni G.* Human prolactin release induced by follicle stimulating hormone, luteinizing hormone and human chorionic gonadotrophin. *Hum Reprod* 1991 ; 6 : 1070—1073
 23. *Rubio MA, Torres-Aleman I, Calle JR, Cabranes JA, Schally AV, Charro AL.* D-Trp⁶-luteinizing hormone-releasing hormone inhibits sulpiride-induced hyperprolactinemia in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1987 ; 65 : 368—369
 24. *Rubio MA, Cabranes JA, Schally AV, Charro AL.* Prolactin-lowering effect of luteinizing hormone-releasing hormone agonist administration in prolactinoma patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1989 ; 69 : 444—447
 25. *Urbancsek J, Rabe T, Gor U, Schulte B, Grunwald K, Papp Z, Runnebaum B.* Wirkung des GnRH-Analogons Buserelin auf die Serum-Spiegel von Sexualhormonen in Abhängigkeit von Behandlungsbeginn und Behandlungsdauer. *Geburtsh Frauenheilk* 1991 ; 51 : 617—625
 26. *Hummel WP, Clark MR, Talbert LM.* Transient hyperprolactinemia during cycle stimulation and its influence on oocyte retrieval and fertilization rates. *Fertil Steril* 1990 ; 53 : 677—681
 27. *Gonen Y, Casper RF.* Transient hyperprolactinemia is associated with a midcycle luteinizing hormone surge. *Fertil Steril* 1990 ; 54 : 936—938
 28. *Reinthaller A, Bieglmayer C, Deutinger J, Csaicsich P.* Transient hyperprolactinemia during cycle stimulation : Influence on the endocrine response and fertilization rate of human oocytes and effects of bromocriptine treatment. *Fertil Steril* 1988 ; 49 : 432—436

(No. 7675 平7・8・11受付)