

子宮内膜症腹腔内貯留液のマウス胚発生に及ぼす影響

東京大学医学部産科婦人科教室

郭 宗明 武谷 雄二 綾部 琢哉 五味淵秀人
矢野 哲 堤 治 水野 正彦Influence of Peritoneal Fluid with Endometriosis on the
Development of Mouse EmbryosTsong-Ming KUO, Yuji TAKETANI, Takuya AYABE,
Hideto GOMIBUCHI, Tetsu YANO, Osamu TSUTSUMI
and Masahiko MIZUNO*Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo*

概要 子宮内膜症(EM)合併不妊婦人においては腹腔内に炎症性変化が生じており、それと不妊機序との関連が示唆されている。EMに伴う不妊の機序の一端を解明する目的で腹腔内貯留液(PF)のマウス初期胚発生に及ぼす影響を検討した。

マウス2細胞期胚にEMのPF(5%)を添加して24時間培養しても胚発生には影響しなかつた。しかし実際に初期胚発生が進行する場合は卵管内であり、しかも卵管腔は腹腔内と連続した空間であることより、PFは卵管を介して胚発生に影響する可能性がある。そこで2細胞期胚をマウス卵管とco-cultureして、EMのPFを添加すると卵分割は有意に抑制された。PFの抑制作用は4細胞期胚にも認められたが、8細胞期胚には影響しなかつた。

次にEMのPFによる卵分割の抑制機序を調べるために、EMのPF中に増加しているinterleukin 1(IL-1)に注目し、その卵分割への影響をみた。するとEMのPFと同様、2細胞期胚のみの培養系にIL-1を添加しても影響がみられなかつたが、卵管とco-cultureすると有意に抑制された。この時のconditioned mediumは2細胞期胚に直接作用して卵分割を抑制した。IL-1の抑制作用は4細胞期胚に対してもみられたが8細胞期胚には影響しなかつたことにおいても、IL-1とEMのPFの作用は酷似していた。

IL-1の卵分割抑制作用はprostaglandin(PG)産生を低下させるindomethacinやlipocortinにより消失した。またIL-1は卵管に作用してPGE₂を放出させ、PGE₂は直接2細胞期胚の卵分割を抑制した。EMのPFによる卵分割抑制もIL-1同様indomethacinにより消失した。PGE₂は卵のRNA合成には影響しないが蛋白合成を抑制した。以上、EMのPFは卵管に作用して初期胚発生を阻害する可能性を示した。その機序としてPF中のIL-1が卵管に作用してPGE₂を過剰に分泌し、それが卵の蛋白合成を阻害する結果胚発生が阻害されることが示唆された。

Synopsis To clarify the mechanism of infertility associated with endometriosis (EM), the effect of peritoneal fluid (PF) on early embryogenesis was examined. The addition of PF (5%) had no effect on the development of mouse 2-cell embryos. Since the PF is supposed to enter the oviductal cavity, PF may influence reproductive processes by modulating the intraoviductal microenvironment. As expected, PF with EM inhibited the development of 2-cell embryos co-cultured with oviducts whereas PF without EM had no effect. An increase in interleukin 1 (IL-1) has been identified in PF with EM. As with PF with EM, IL-1 inhibited the development of 2-cell embryos inasmuch as the oviducts were co-cultured. Indomethacin, an inhibitor of prostaglandin (PG) synthesis, effectively abolished the inhibitory action of both PF with EM and IL-1 on embryonic development. Moreover, PGE₂ directly inhibited embryonic development. PGE₂ was shown to inhibit the synthesis of protein by early embryos. These results demonstrate that PF with EM inhibits the development of early mouse embryos by acting on the oviducts. From these results it seems that an increase in IL-1 may be a causative factor in the embryo-toxic properties of PF with EM. We further suggest that PGE₂ secreted from the oviducts by stimulation with PF with EM, may be an ultimate contributing factor in embryo-toxicity by inhibiting protein synthesis by early embryos.

Key words: Endometriosis • Peritoneal fluid • Early embryogenesis • Interleukin 1 • Prostaglandin

緒 言

子宮内膜症 (endometriosis: 以下 EM と略す) が不妊と密接に関係することは、周知の事実であるが、その機序は必ずしも明らかでない。EM においては、癒着性病変により卵管が閉塞した場合には不妊原因は明白であるが、卵管の完全閉塞例は全体の10%にも達せず⁴⁾、多くの場合、EM による機能的な異常が生殖現象を阻害している可能性が考えられる。

最近 EM 患者の腹腔内貯留液 (peritoneal fluid: PF) の増量⁸⁾¹⁴⁾、腹腔内の macrophage の数の増加や活性化¹³⁾¹⁶⁾、さらに macrophage の主要産物である interleukin 1 (IL-1) の濃度の増加³⁾などが報告され、EM の腹腔内には炎症性変化が生じているものと考えられる。そこで EM における不妊機序を解明する一環として、EM の PF に着目し、そのマウス初期胚発生に及ぼす影響ならびにその機序について検討を加えた。

研究対象ならびに方法

実験材料

pregnant mare serum gonadotropin (PMS) は帝国臓器、human chorionic gonadotropin (hCG) は持田製薬、IL-1 β 、recombinant は Cistron Biotechnology 社、indomethacin は Sigma 社、prostaglandin (PG)E₂ および F_{2 α} はフナコシ薬品、lipocortin recombinant は協和発酵工業、L- [³H]-amino acid mixture (1mCi/ml)、[5,6-³H] uridine (1mCi/ml) は NEN 社より各々購入した。

PF の採取

不妊原因の検索および治療の目的で卵胞期中～後期に施行した腹腔鏡検査または開腹術施行時に EM が確認された症例15例においてダグラス窩より PF を採取した。また対照として EM を認めず、乏精子症や卵管因子が不妊症の原因と思われた症例10例より PF を採取した。採取した PF は速やかに遠沈 (600g, 10分) し、上澄を実験に供するまで -80℃ にて凍結保存した。なお症例の年齢分布は24歳より39歳にわたった。

卵の採取

8 週齢の ICR 系成熟雌マウスに PMS 5 単位を腹腔内投与し、さらに48時間後に hCG 5 単位を投与し過排卵処理を行った。hCG 投与後、同系成熟雄マウスと交配させ、翌朝腔栓の確認ができたものを実験に使用した。hCG 投与48～50時間後に頸椎脱臼法にて屠殺し卵管を取り出し、その卵管を実体顕微鏡下にて灌流することにより卵を無菌的に採取した。受精卵は通常2細胞期胚のみを選択したが、一部の実験では hCG 投与後60時間、72時間後に各々4細胞期胚、8細胞期胚を採取した。卵は plastic organ culture dish (Falcon 社) に移し、modified BWW 液²¹⁾を用い、37℃、5% CO₂、95%air の条件下でインキュベーター内にて培養した。培養液に種々の物質を添加して卵を24時間培養し、位相差顕微鏡下にて卵分割の程度を観察した。なおこの際、通常80個以上の卵を用いて卵分割の程度を評価した。一方、卵管切片を同時培養する実験では同系マウスの長さ約5mm の卵管切片を添加し卵と共に培養した。なおこの際の培養液中の pH や浸透圧は変わらなかった。

PGE₂ の測定

培養液中に分泌された PGE₂ の濃度は NEN 社の PGE₂ RIA キットにて測定した。assay の感度は0.25pg/assay であり、intraassay と interassay の変異係数は各々6.3、9.5%であった。また PGE₁ との交叉反応は3.7%であり、その他PGA₂、PGF_{2 α} 、PGD₂などはいずれも0.5%以下であった。

卵の蛋白および RNA 合成

卵の蛋白合成は [³H]-amino acid mixture を5 μ Ci/ml の濃度で培養液に添加し、24時間後に卵を取り出し、phosphate buffered saline (PBS) で3回洗浄した。その後10% trichloroacetic acid (TCA) 4℃で10分間処理後、5% TCA に移し、90℃、10分間処理しさらに ethanol にて2回洗浄した。その後1% sodium dodecyl sulfate (SDS) 含有 PBS (500 μ l) に卵を移し、その放射活性をシンチレーションカウンターにて計測し、それを蛋白合成量とした。なお蛋白合成量は蛋白合成阻害

剤である cycloheximid の添加により95%低下した。卵の RNA 合成は ^3H -uridine を $5\mu\text{Ci/ml}$ の濃度で培養液中に添加し、24時間後に卵を取り出し PBS で3回洗浄した。その後10%および5% TCA で各々4℃、10分間処理し、ethanol にて2回洗浄後1%SDS 含有 PBS ($500\mu\text{l}$) に卵を移し放射活性を測定し、それを RNA 合成量とした。RNA 合成系は RNA 合成阻害剤である actinomycin D の添加により96%低下した。

統計処理

卵分割の割合の比較は χ^2 検定により、PG 濃度、蛋白および RNA 合成量の比較は student t 検定によった。

研究成績

I. PF の胚発生への影響

最初に preliminary な実験として正常の PF を10%含有する培養液で培養すると、マウス2細胞期胚の発育が遅延したが、5%では有意な影響はみられなかつた。したがって以下の PF を添加する実験ではすべて濃度は5%とした。なお、この濃度では培養液の pH や浸透圧は変化しなかつた。

次に5%の PF の胚発生に与える影響を調べた。培養液のみの群ではいずれも60%以上の卵において、卵分割の進行がみられた。そこで50%以下にしか卵分割が進行しないものを embryo-toxic とすると、対照である非子宮内膜症の PF 添加群は8例中1例、EM の PF 添加群は8例中2例が toxic であつたが両者の間に有意差は認められなかつた (図1)。

II. 卵管切片存在下で PF の胚発生への影響

実際に初期胚発生が進行するのは卵管内である。また卵管内腔は PF により浸されていることを考えると、PF は卵管に作用して、そこから何か液性因子を分泌し、胚発生に影響する可能性がある。そこで卵管切片を卵と同時に培養し、PF の効果をみた。すると、培養液のみの群ではいずれも卵分割が進行した割合は50%を越えていた。一方、対照の PF 添加群は10例中9例が50%を越えていたが、EM の PF 添加群では10例中8例が50%以下となり、EM の PF は対照の PF と比較し有意

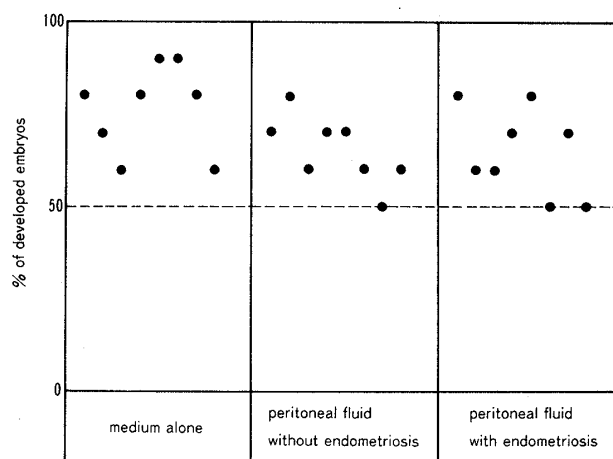


図1 Effect of peritoneal fluid (5%) with or without endometriosis on the cleavage of mouse 2-cell embryos during 24h incubation

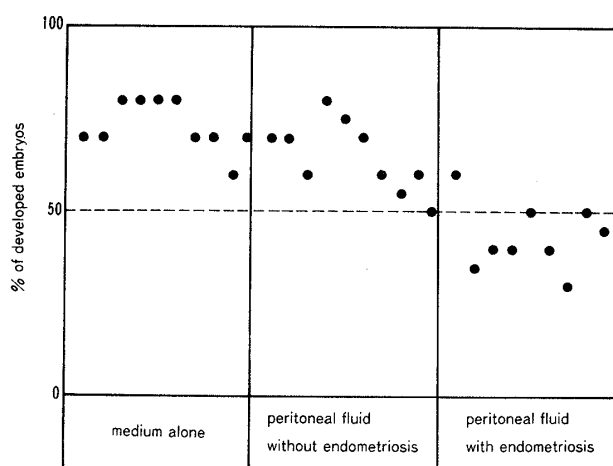


図2 Effect of peritoneal fluid (5%) with or without endometriosis on the cleavage of mouse 2-cell embryos in the presence of oviducts during 24h incubation

($p < 0.01$) に胚発生を抑制した (図2)。以上より EM の PF は卵管切片存在下で胚発生を抑制することが示された。次に4細胞期胚に対する影響について検討した。培養24時間後、16細胞期胚以上に発育がみられた頻度をみたが、培養液のみの群が55%、対照の PF 添加群が45%あつたのに対し、EM の PF 添加群は16%と前二者と比較し有意 ($p < 0.05$) に低率であつた。しかし8細胞期胚に対しては、培養液のみ、対照の PF 添加群、EM の PF 添加群の桑実胚に達した割合は各々88%、81%、76%と三者間で有意差を認めなかつた。

III. IL-1の胚発生への影響

これまでの実験から EM の PF は卵管切片共存下では初期胚発生を抑制することが示された。次に、その機序を調べるために、EM の PF 中に高率に検出される IL-1 に注目し、IL-1 のマウス胚発生に及ぼす影響を検討した。培養後24時間で対照群83%に対して、IL-1 (10 IU/ml) 添加群では78%に卵割が進行しており、有意差はみられなかつた。次に卵管切片存在下で2細胞期胚を24時間培養すると、卵分割が進行した卵の割合は対照群が86%であるのに対し、IL-1 添加群は45%と有意 ($p < 0.001$) な卵分割抑制がみられた。さらに、4細胞期胚の培養では16細胞以上まで卵分割した割合は対照群が50%であるのに対し、IL-1 添加群は16%と有意 ($p < 0.05$) な抑制がみられた。しかし、8細胞期胚では、桑実胚までの発育は対照群85%に対して、IL-1 添加群は76%と卵分割抑制はみられなかつた。次に、IL-1 を添加して卵管切片を24時間培養した培養液 (conditioned medium) の卵分割への影響をみた。IL-1 を含まない conditioned medium における2細胞期胚の卵分割の進行した割合は85%であつたのに対し、IL-1 を添加した conditioned medium では35%と有意 ($p < 0.01$) な卵分割抑制がみられた。次に、IL-1 の卵発育が可逆的か否かを調べる目的で6時間、12時間卵管切片存在下で IL-1 に作用させ、その後 IL-1 free の培養液で培養した。すると6時間 IL-1 に作用させた場合でも24時間終始 IL-1 を作用させた群とほぼ同様の卵分割の抑制が認められ、少なくとも6時間 IL-1 にさらされるとその効果は24時間まで持続されることが示された。

IV. PG の胚発生への影響

IL-1 は in vitro 系で PG 分泌を促進することが知られている⁵⁾⁶⁾。そこで今回 IL-1 の初期胚発生抑制機序に PG が関与しているか否かを検討した。まず PG 合成阻害剤である indomethacin を IL-1 と同時添加して卵割への影響をみた。すると卵管切片存在下で培養液のみの対照群において卵分割が促進した割合は85%であつた。一方、IL-1 添加群が51%と有意 ($p < 0.01$) に抑制されたが、IL-1 および indomethacin の同時添加群は74%と培養液のみの群と有意な変化がみられなかつた (図3)。

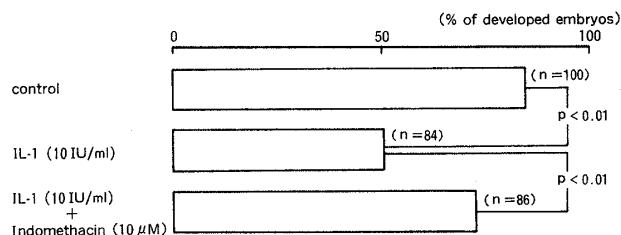


図3 Reversible effect of indomethacin on the inhibition of mouse embryo development by interleukin 1 during 24h incubation

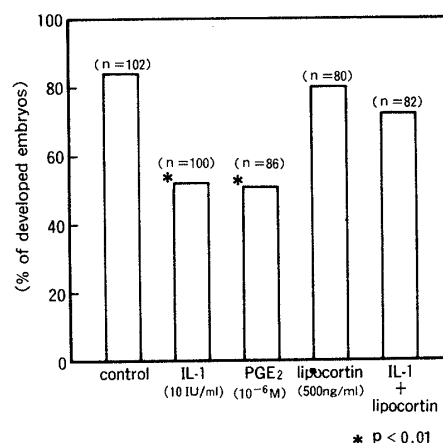


図4 Effect of various agents on the development of mouse 2-cell embryos co-cultured with oviducts during 24h incubation

以上より IL-1 の作用を PG が仲介する可能性が示唆された。次にアラキドン酸 cascade の first step である phospholipase A₂ の特異的 inhibitor である lipocortin の作用を検討した。すると lipocortin (500ng/ml) を IL-1 と同時添加すると、indomethacin と同様に IL-1 の抑制効果は消失した (図4)。次に PG が直接卵分割へ影響するか否かをみた。対照群において卵分割が進行した割合は80%であるのに対し、PGE₂ (10^{-6} M) の添加は35%と有意 ($p < 0.01$) に抑制した。しかし PGF_{2 α} (10^{-6} M) の添加では有意な変化はみられなかつた。次に実際に IL-1 を添加した系で PGE₂ が分泌されるか否かを検討した。すると培養液中の PGE₂ の濃度は対照群 103 ± 3 ng/ml ($M \pm SE$) であるのに対し、IL-1 添加群は 740 ± 10 ng/ml と約7倍の高値を示した。また PG 合成阻害剤である indomethacin (10μ M) を添加すると、IL-1 の有無にかかわらず、PG の分泌量は検出感度以下であつ

た. なお, EM の PF を卵管切片存在下で添加した際の卵分割の抑制も indomethacin 添加により消失した. したがって EM の PF による抑制機序にも PG が関与している可能性が示唆された.

V. PGE_2 による胚発生の抑制機序

これまでの成績より EM の PF や IL-1 は卵管に作用して PGE_2 を分泌し, それが直接初期胚発生を抑制していることが推定された. 続いて, その機序をみる目的で卵の蛋白や RNA の合成に及ぼす影響をみた. まず 2 細胞期胚を卵管切片共存下で IL-1 と 24 時間培養した時の蛋白合成量は対照群 $480 \pm 65 \text{dpm}/24\text{h}/\text{embryo}$ ($M \pm SE$) に対し, IL-1 ($10 \text{ IU}/\text{ml}$) 添加群は $180 \pm 40 \text{dpm}/24\text{h}/\text{embryo}$ と有意 ($p < 0.01$) に抑制された. 一方, [^3H]-uridine の酸不溶性分画への取り込みでみた RNA 合成には対照群が $406 \pm 35 \text{dpm}/24\text{h}/\text{embryo}$ に対し, IL-1 添加群は $405 \pm 45 \text{dpm}/24\text{h}/\text{embryo}$ と影響を与えなかった. 次に 4 細胞期胚を 24 時間培養した際の蛋白合成量をみたが, 対照群 $305 \pm 45 \text{dpm}/24\text{h}/\text{embryo}$ に対して IL-1 添加群は $105 \pm 35 \text{dpm}/24\text{h}/\text{embryo}$ と蛋白合成の抑制がみられた ($p < 0.01$) が RNA 合成に関しては影響がみられなかった. 一方 8 細胞期胚に対して, IL-1 は卵割に影響を与えなかったが, 蛋白合成, RNA 合成ともに変化がみられなかった. 2 細胞期胚に PGE_2 (10^{-6}M) を添加して培養した場合も IL-1 と同様, 蛋白合成量は有意 ($p < 0.01$) に抑制されているが, RNA 合成量は変化がみられなかった.

考 案

最近 EM において, PF 量の増加がみられたり⁸⁾¹⁴⁾, PF 中の macrophage の数が増え, しかも活性化されている¹³⁾¹⁶⁾ことが知られてきた. さらに, PF 中の PG 濃度の上昇⁹⁾や代表的な cytokine の一種である IL-1 が高率に検出されたりする³⁾ことなどから, EM においては腹腔内に炎症性変化が生じていると考えられている. 一方, EM ではしばしば不妊を合併するが, EM の病変によりもたらされた解剖学的な異常による卵の捕獲や輸送が阻害されている場合はむしろ少ないと考えられる. したがって何か機能的な異常が生殖現象を阻害しているとの推定がなされており, とくに EM

に伴う腹腔内環境の変化が不妊の機序との関連で注目を集めている. 具体的には, ある種の EM の腹腔内 macrophage が in vitro 系で顆粒膜細胞からの progesterone 分泌を抑制したり¹²⁾, 精子貪食能が亢進している¹³⁾ことが報告されている. そこで今回は EM の PF の液性成分が不妊機序に関与するか否かを調べる目的でとくに胚発生に及ぼす影響を検討した.

Morcos et al.¹⁵⁾は EM の PF はマウスの 2 細胞期胚に対して embryo-toxic に作用することを報告しているが, Sherif et al.¹⁰⁾は EM の PF のマウスの初期胚発生に対する影響を見出すことができず, 一定の結論が得られていない. 今回われわれの研究によると EM の PF はマウスの 2 細胞期胚の少なくとも 24 時間培養においては卵分割に影響を与えなかった. これらの成績の不一致の理由としては, Morcos et al. も示しているように, すべての EM の PF が embryo-toxic という訳でなく, 症例間で活性のバラつきが存在していることによる可能性もある. またマウスの系や培養条件の相違なども不一致の原因の一つとなる. PF を卵および卵管と培養しても卵のみの培養とほぼ同様に卵分割が進行したことより, 卵管そのものは卵に対して少なくとも toxic に作用することは否定される.

IL-1 は EM の PF 中に高率に検出され³⁾, さらに EM の PF 中の macrophage は IL-1 の産生能が亢進している¹¹⁾ことが知られている. これまで IL-1 は直接マウスの初期胚発生を抑制することを Fakih et al.¹¹⁾は報告している. しかし Schneider et al.¹⁸⁾は今回のわれわれの成績と同様, IL-1 は直接的には胚発生に影響を与えないと結論している. これらの異なつた結果が得られた理由としては, Fakih et al. の用いた Genzyme 社 IL-1 のある lot は, 胚発生を抑制することを Schneider et al. も確認しており, 他の物質が混在していた可能性もあると推量している. Schneider et al. はそれ以外のいくつかの IL-1 の製品の胚発生への影響をみているが, いずれも今回の成績と同様, 直接的な影響は見出していない.

今回 IL-1 は卵管切片存在下でのみ初期胚発生

を抑制することが明らかとなつた。また2細胞期胚、4細胞期胚に対しては、IL-1は抑制的に作用したが、8細胞期胚はIL-1に対する感受性が欠如していたことが確認された。またさらにIL-1とEMのPFの両者ともindomethacinによりその抑制作用が消失することが観察された。これらの結果より、胚発生に及ぼすIL-1の作用はEMのPF初期胚発生の抑制様式と極めて類似しており、EMのPF初期胚発生の抑制機序の一つにIL-1のごとくcytokineが関与していることが示唆された。

IL-1はいくつかのin vitro系でPGE₂分泌を刺激する⁵⁾⁶⁾。今回もIL-1にさらされた卵管のconditioned mediumがembryo-toxicに作用し、IL-1の作用がPG合成阻害剤で消失したことから、IL-1の作用機序としてPGE₂が関与していることが示唆される。PGE₂が直接embryo-toxicに作用することもこれを裏付けるものである。実際にEMのPF中のIL-1濃度は5~25IU/mlの範囲であり³⁾¹¹⁾、本実験で用いた5%のPFだとIL-1の濃度は1IU/ml以下となる。しかしchondrocyte⁹⁾やfibroblast⁵⁾などではIL-1は0.5IU/mlでPGE₂分泌を促進することより、5%のEMのPF中に含まれるIL-1の濃度でも、充分卵管のPGE₂分泌を刺激することが考えられる。またEM婦人の卵管内には多数の活性化されたmacrophageが存在している¹³⁾ことから、実際にはPFに由来する以外に卵管内でもIL-1が産生され、それが直接卵管に作用することも考えられる。

EMのPF中にmacrophageが増えているがmacrophageはIL-1以外にtumor necrosis factor (TNF)やinterleukin 6 (IL-6)をも産生する²⁾¹⁰⁾。事実、TNFはEMのPFで増加していること⁹⁾が報告されており、IL-1以外にもいくつかのcytokine濃度が増加していると想像される。これらのcytokineはいずれもIL-1と同様な作用を有しており、TNFに関してはPGE₂産生を刺激し、しかもIL-1と相乗効果を示す¹⁷⁾。今回5%のEMのPFでも卵管切片存在下で胚発生を阻害し、その効果はindomethacinで抑えられた。これは単にEMのPF中のIL-1の作用のみならず、他の同時に増加していたcytokineが卵管に作用し

て、PGE₂を分泌させ、胚発生を阻害させた可能性も否めない。

初期胚の発育にPGがいかに関与するかは未知の部分が多い。indomethacinをin vitroで添加しても卵の発育は対照とほぼ同様に進行することより、少なくとも桑実胚程度まではPGの影響は大きくないと考えられる。本研究では、IL-1のごとくcytokineが卵管に作用し、その結果過剰に分泌されたPGがembryo-toxicに作用するという可能性を示したもので、生理的レベルのPGがembryo-toxicと結論しているのではない。EMの婦人の卵管内のPG濃度は不明だが、今回in vitro系でIL-1を添加することにより得られた濃度より低い濃度のPGE₂が、embryo-toxicに作用したことによりin vivoの状態を著しく越えた濃度とは考え難い。PGE₂はin vivoでrabbitに投与しても胚発生を阻害することが確認されている²⁰⁾。この際もPGF_{2α}には効果を認めず今回のin vitroの仕事と一致した結果であつた。胚に対してPGE₂とPGF_{2α}とが異なつた作用を示す他の例として、PGF_{2α}はhatchingに必要な¹⁾が、PGE₂は関与しないという成績がある¹⁾。

実験的にEMを発症したratの動物実験モデルにおいても妊孕性は低下する。このratにdanazolを投与すると腹腔内のEM病変や癒着は改善されたが、生殖能力は依然として低下したままであつた。一方、indomethacinを腹腔内に注入すると解剖学的改善はみられないが、妊孕性は向上したことが認められている⁷⁾。このことからEMにおける不妊機序は必ずしも解剖学的な異常に起因するものでなく、今回われわれがin vitro系で示したごとく、PGの分泌異常が背景に存在していることが裏付けられる。

PGE₂がいかなる機序でembryo-toxicに作用するかを検討したが、PGE₂に感受性を示す時期の胚のみに蛋白合成抑制をおこすことが示された。このことから過量なPGE₂には胚の蛋白合成を阻害することがembryo-toxicな作用と関連することが示唆されたが、詳細な機序は今後の研究を待たねばならない。

文 献

1. 千田 智, 上原茂樹, 星合 昊, 矢嶋 聰: Indomethacin 及び PGE₂, PGF_{2α}, 6-keto-PGF_{1α} が Maus 胞胚の Hatching に与える影響. 日不妊会誌, 31: 266, 1986.
2. 佐治文隆: 子宮内膜症のスコアリングにおける機能性不妊因子の重要性. 第 11 回エンドメトリオーシス研究会講演要旨, 1990.
3. 武谷雄二: 子宮内膜症の生化学的特性に関する基礎ならびに臨床的研究: 正常子宮内膜との対比. 日産婦誌, 41: 975, 1989.
4. 武谷雄二, 国府田きよ子, 水野正彦: 子宮内膜症: 発症病因と増殖調節. 臨婦産, 43: 731, 1989.
5. Burch, R.M., Connor, J.R. and Axelrod, J.: Interleukin 1 amplifies receptor-mediated activation of phospholipase A₂ in 3T3 fibroblasts. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 85: 6306, 1988.
6. Chang, J., Gilman, S.C. and Lewis, A.J.: Interleukin 1 activates phospholipase A₂ in rabbit chondrocytes: A possible signal for IL 1 action. J. Immunol., 136: 1283, 1986.
7. Dargenio, R., Golan, A. and Winston, R.M.L.: Experimental endometriosis and fertility: Compared effects of an antigonadotropin (danazol) and an antiprostaglandin (indomethacin). Acta Eur. Fert., 15: 257, 1984.
8. Drake, T.S., Metz, S.A., Grunert, G.M. and O'Brein, W.F.: Peritoneal fluid volume in endometriosis. Fertil. Steril., 34: 280, 1980.
9. Drake, T.S., O'Brein, W.F., Ramwell, P.W. and Metz, S.A.: Peritoneal fluid thromboxane B₂ and 6-keto-prostaglandin F_{1α} in endometriosis. Am. J. Obstet. Gynecol., 140: 401, 1981.
10. Eisermann, J., Odem, R.R., Gast, M.J., Collins, J.L. and Pineda, J.: Tumor necrosis factor in peritoneal fluid of women undergoing laparoscopic surgery. Fertil. Steril., 50: 573, 1988.
11. Fakih, H., Baggett, B., Holtz, G., Tsang, K.Y., Lee, J.C. and Williamson, H.O.: Interleukin 1: A possible role in the infertility associated with endometriosis. Fertil. Steril., 47: 213, 1987.
12. Halme, J., Hammond, M.G. and Syrop, C.H.: Peritoneal macrophages modulate human granulosa-luteal cell progesterone production. J. Clin. Endocrinol. Metab., 16: 912, 1985.
13. Haney, A.F., Misukonis, M.A. and Weinberg, J.B.: Macrophages and infertility: Oviductal macrophages as potential mediators of infertility. Fertil. Steril., 39: 310, 1983.
14. Koninckx, P.R., Renaer, M. and Brosens, I.A.: Origin of peritoneal fluid in women: An ovarian exudation product. Br. J. Obstet. Gynecol., 87: 177, 1980.
15. Morcos, R.N., Gibbons, W.E. and Findley, W.E.: Effect of peritoneal fluid on in vitro cleavage of 2-cell mouse embryos: Possible role in infertility associated with endometriosis. Fertil. Steril., 44: 678, 1985.
16. Muscato, J.J., Haney, A.F. and Weinberg, J.B.: Sperm phagocytosis by human peritoneal macrophages: A possible cause of infertility in endometriosis. Am. J. Obstet. Gynecol., 144: 503, 1982.
17. Pfeilschifter, J., Pignat, W., Vosbeck, K. and Marki, F.: Interleukin 1 and tumor necrosis factor synergistically stimulate prostaglandin synthesis and phospholipase A₂ release from rat renal mesangial cells. Biochem. Biophys. Res. Commun., 159: 385, 1989.
18. Schneider, E.G., Armant, D.R., Kupper, T.S. and Polan, M.L.: Absence of a direct effect of recombinant interleukins and cultured peritoneal macrophages on early embryonic development in the mouse. Biol. Reprod., 40: 825, 1989.
19. Sherif, G.A., Chad, I.F., Amin, U.H., Sung, I.R., NeeOo, W.C. and Moon, H.K.: Local peritoneal factors: Their role in infertility associated with endometriosis. Am. J. Obstet. Gynecol., 157: 1207, 1987.
20. Spilman, C.H.: Effect of prostaglandins on the development of rabbit embryos. J. Reprod. Fert., 39: 403, 1974.
21. Spindle, A.I. and Perdersen, R.A.: Hatching, attachment, and outgrowth of mouse blastocysts in vitro: Fixed nitrogen requirements. J. Exp. Zool., 186: 305, 1973.

(No. 6806 平 2・5・12 受付)