

子宮内膜日付診断の正確性に関する検討

群馬大学医学部産科婦人科学教室

*群馬大学医学部第一病理学教室

安藤 一道 中里 洋一* 水沼 英樹
山田 清彦 伊吹 令人 五十嵐正雄

Study on the Accuracy of Uterine Endometrial Dating

Kazumichi ANDOH, Yohichi NAKAZATO*, Hideki MIZUNUMA,
Kiyohiko YAMADA, Yoshito IBUKI
and Masao IGARASHI

Department of Obstetrics and Gynecology, Gunma University School of Medicine, Maebashi

**First Department of Pathology, Gunma University School of Medicine, Maebashi*

概要 正常黄体機能（高温相持続期間 ≥ 11 日，黄体期中期 progesterone 値 $\geq 10\text{ng/ml}$ ）を有する不妊婦人52例について子宮内膜組織診を施行し，内膜診実施日を次回月経開始日（NMP法），最終低温日（BBT法），尿中LHサージ日（LH法）の三つの方法で決定し，各々の子宮内膜日付診断の正確性について比較検討した。さらに，子宮内膜の morphometric analysis を行いこの診断的意義について検討した。

1) 尿中LHの測定をオルガノンLHカラー（オルガノン社）で行うと，LHカラー（+2）日の血中LH値は $35.5 \pm 12.6\text{mIU/ml}$ （Mean \pm S.D.）（ $n=27$ ），最大主席卵胞径は $21.2 \pm 1.9\text{mm}$ （ $n=26$ ）で，LHカラー（+2）日を尿中LHサージ日と判定することが妥当と思われた。

2) NMP法，BBT法，LH法より求めた内膜診実施日と組織学的日付診日との相関をみると，子宮内膜腺における相関係数（ r ）は，各々 $r=0.685$ ， $r=0.728$ ， $r=0.879$ ，間質については各々 $r=0.620$ ， $r=0.737$ ， $r=0.833$ であり，LH法の場合最も高い相関係数を示した。また，これら3法による診断内容をみると，LH法に比べNMP法やBBT法の場合異常内膜の過剰診断をする危険が示唆された。

3) 高速カラー画像解析装置SP-500（オリンパス社）を用いた子宮内膜の morphometric analysis により，腺については腺細胞長径，核下・核上空胞の割合，間質については細胞分裂個数，前脱落膜様反応の程度，螺旋動脈数よりステップワイズ重回帰分析を用いて日付診断を行うと，重回帰相関係数（ R ）は $R=0.959$ となり正確かつ客観的な診断が可能であることが示唆された。

Synopsis In order to examine the accuracy of endometrial dating, endometrial dating from 52 infertile women with normal luteal function was investigated. Dating from the histological findings was evaluated from three time points, the onset of the next menstrual period (NMP), the last day of the low phase of basal body temperature (BBT) and the urinary LH peak determined with the "Organon LH Color" kit (LH). Beside microscopic observation, morphometric analysis of endometrial findings was done by means of a high speed color image analysis system "Olympus SP-500".

On the day of LH Color (+2), the serum LH level showed a maximum of $35.5 \pm 12.6\text{mIU/ml}$ (Mean \pm S.D.) ($n=27$). The correlation coefficients for histological dating and chronological dating based on NMP, BBT and LH were 0.685, 0.728 and 0.879 in gland and 0.620, 0.737 and 0.833 in stroma, respectively. The multiple correlation coefficient for histological dating evaluated by morphometric analysis and chronological dating based on LH was 0.959. So we conclude that endometrial dating evaluated by morphometric analysis seems to be the most objective and useful.

Key words: LH surge • Endometrial dating • Endometrial biopsy • Luteal function

緒言

黄体機能不全の診断法の一つである子宮内膜日付診断は，基礎体温（BBT）表上の排卵日または

次回月経開始日より求めた内膜診実施日と，Noyes et al.¹⁰⁾の criteria から求めた組織学的日付診日とのズレを比較して診断されてきた。しか

し、排卵日診断に BBT を用いた場合、実際の排卵日と BBT 上の排卵日が一致しないことがあり、また高温相持続期間が必ずしも14日間とは限らないことから次回月経開始日より内膜診実施日を逆算することにも問題があり、従来の子宮内膜日付診断法には限界があつた。そこでわれわれは、子宮内膜日付診断の際、内膜診実施日を次回月経開始日、BBT の最終低温日、尿中 LH サージ日から算出し、各々の診断の正確性について比較検討した。さらに、より客観的な組織学的日付診断を行うために、子宮内膜の変化を計量的に測定する morphometric analysis を施行しこの診断的意義について検討した。

研究方法

1. 対象：当科不妊外来を受診した不妊婦人のうち、内分泌学的に正常黄体機能、すなわち高温相持続期間が11日以上、黄体期中期 progesterone 値が10ng/ml 以上を有する52例である。対象者の平均年齢は32.3±3.9歳(Mean±S.D.)であつた。

2. 方法：図1にサンプリングのスケジュールを示す。すなわち、排卵期に血、尿中 LH の測定と超音波断層法を施行し、黄体期には初期、中期、後期に血中 progesterone を測定し、同時に子宮底部より無麻酔で一掻き搔爬により子宮内膜診を実施した。尿中 LH の測定は尿中 LH 検出試薬オルガノン LH カラー（オルガノン社）を用い、薄い赤紫色の場合陽性(+1)、青灰色の場合強陽性(+2)と判定した。血中 LH の測定はスパック-S LH キット（第一ラジオアイソトープ社）、血中 progesterone の測定は progesterone kit（日本 DPC コーポレーション）を用いた。超音波断層法はアロカ SSD620（アロカ社）を用いて経腔的に最大主席卵胞径を測定した。

3. 子宮内膜日付診断法：

① 子宮内膜診実施日の決定法：以下の三つの方法により実施日を決定した。

NMP 法：次回月経開始日の前日を+14日目とし逆算する方法。

BBT 法：基礎体温の最終低温日を0日とする方法。

LH 法：尿中 LH サージ日 [LH カラー (+2)

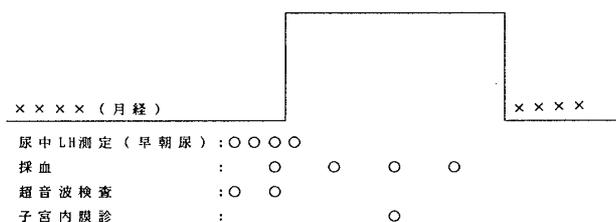


図1 検尿・採血・超音波検査および子宮内膜診のスケジュール

表1 NMP 法, BBT 法, LH 法から求めた対象者の内膜診実施日の分布

NMP 法		BBT 法		LH 法	
内膜診実施日	対象者 (n=46)	内膜診実施日	対象者 (n=52)	内膜診実施日	対象者 (n=52)
+3	1	+3	0	+3	0
+4	1	+4	3	+4	0
+5	2	+5	3	+5	6
+6	2	+6	7	+6	7
+7	8	+7	14	+7	9
+8	8	+8	14	+8	9
+9	11	+9	4	+9	8
+10	5	+10	5	+10	9
+11	4	+11	2	+11	4
+12	2	+12	0	+12	0
+13	2	+13	0	+13	0

NMP 法：次回月経開始日の前日を+14日目として逆算する方法（妊娠例6例は除外）

BBT 法：基礎体温の最終低温日を0日とする方法

LH 法：尿中 LH サージ日 [LH カラー (+2)日] を0日とする方法

日] を0日とする方法。

NMP 法, BBT 法, LH 法から求めた対象者52例の内膜診実施日の分布は表1の通りである。

② 組織学的日付診日の決定法：二人の観察者により Endometriogram (五十嵐²⁾) を用いて子宮内膜腺、間質を別々に判定し、二人の観察者の日付診日が異なつた場合にはその平均値を組織学的日付診日と決定した。子宮内膜日付診断は、内膜診実施日と組織学的日付診日とのズレが2日以内の時正常内膜、3日以上の時異常内膜と診断し、さらに+3日以上の時促進型、-3日以下の時遅延型と診断した。

③ Morphometric Analysis の方法：高速カラー画像解析システム SP-500 (オリンパス社) を用いて子宮内膜について7項目の分析を行った。すなわち、内膜腺については五つの腺の腺細胞長

表2 NMP法, BBT法, LH法より求めた子宮内膜診実施日と組織学的日付診日との相関関係および診断内容について

I) 相関関係:

	NMP法	BBT法	LH法
子宮内膜腺	$r=0.685$ ($p<0.001$)	$r=0.728$ ($p<0.001$)	$r=0.879$ ($p<0.001$)
間質	$r=0.620$ ($p<0.001$)	$r=0.737$ ($p<0.001$)	$r=0.833$ ($p<0.001$)

(r: 相関係数)

II) 診断内容:

	NMP法	BBT法	LH法
正常内膜	38 (83)	48 (92)	52 (100)
遅延型	7 (15)	3 (6)	0 (0)
促進型	1 (2)	1 (2)	0 (0)

(): %

径 (Height of Gland Cells, G.C.), 核下空胞の割合 (Percentage of Subnuclear Vacuoles, Sub. V.), 核上空胞および分泌細胞の割合 (Percentage of Supranuclear Vacuoles, Sup. V.) の平均値を算出し, 間質については最大浮腫を示す部位の間質細胞核の面積比 (Percentage of Stromal Nuclei), 5視野($\times 40$)の細胞分裂個数 (Number of Stromal Mitoses, Mit.), Predecidual Reaction (Pre. R.) の程度 (0:なし, 1:1/3以下, 2:1/3~2/3, 3:2/3以上), 5視野($\times 20$)の最大螺旋動脈数 (Number of Spiral Arterioles, Sp. A.) の平均値を測定した。

4. 統計処理: 平均値の差の検定には Wilcoxon rank-sum test, 多変量解析にはマイクロコンピュータソフト「NAP Ver. 2」を用いた。

研究成績

1. 尿中 LH サージ日の血中 LH 値・最大主席卵胞径について (図2)

尿中 LH サージ日を LH カラー (+1)・(+2) 日とすると, LH カラー (+1) 日の血中 LH 値は 11.7 ± 7.8 mIU/ml (Mean \pm S.D.) ($n=20$), 最大主席卵胞径は 18.9 ± 2.4 mm ($n=17$) であり, LH カラー (+2) 日の血中 LH 値は 35.5 ± 12.6 mIU/ml ($n=27$), 最大主席卵胞径は 21.2 ± 1.9 mm ($n=26$) であつた。これらのことから, LH カラー (+2) 日を尿中 LH サージ日と判定することが妥当と思われた。

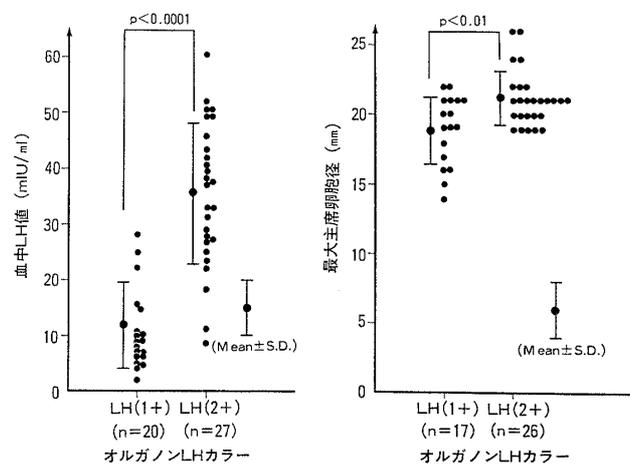


図2 尿中 LH サージ日の血中 LH 値・最大主席卵胞径について

2. NMP法, BBT法, LH法より求めた子宮内膜診実施日と組織学的日付診日との相関関係および診断内容について (表2)

NMP法, BBT法, LH法における子宮内膜診実施日と組織学的日付診日の相関係数 (r) は, 子宮内膜腺の場合各々 $r=0.685$ ($p<0.001$), $r=0.728$ ($p<0.001$), $r=0.879$ ($p<0.001$) であり, 間質の場合各々 $r=0.620$ ($p<0.001$), $r=0.737$ ($p<0.001$), $r=0.833$ ($p<0.001$) で, LH法で最も高い値を示した。また, これら3法の診断内容をみると, LH法では52例すべて正常内膜と診断したが, NMP法では46例中8例(17%), BBT法では52例中4例(8%)を異常内膜と診断

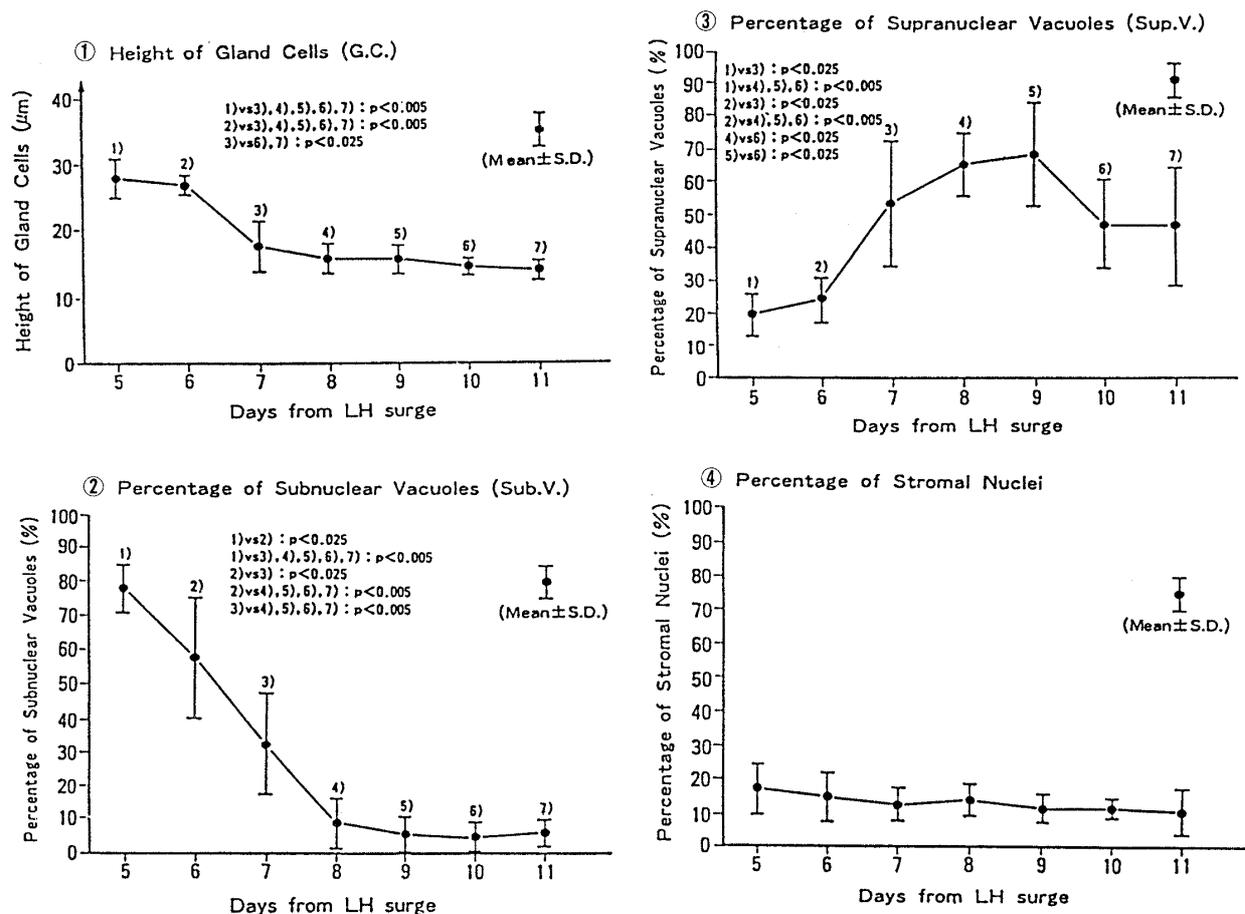


図3 Morphometric Analysis of Endometriums (1)

していた。

3. Morphometric Analysis of Endometriums (図3, 4)

① Height of Gland Cells (G.C.)

子宮内膜腺細胞の長径はLH+5日では $28.2 \pm 3.1 \mu\text{m}$ (Mean±S.D.) (n=6), LH+6日では $27.4 \pm 0.8 \mu\text{m}$ (n=7) とLH+7日~LH+11日に比べ有意 ($p < 0.005$) の高値を示し, LH+8日以降は $14 \sim 15 \mu\text{m}$ とほぼ一定の値を示した。

② Percentage of Subnuclear Vacuoles (Sub.V.)

核下空胞の割合はLH+5日では $77.8 \pm 7.4\%$, LH+6日では $57.9 \pm 17.5\%$, LH+7日では $32.5 \pm 15.1\%$ (n=9) と暫減し, LH+8日~LH+11日にはほぼ10%以下を示した。

③ Percentage of Supranuclear Vacuoles (Sup.V.)

核上空胞および分泌細胞の割合はLH+5日

は $19.6 \pm 6.5\%$, LH+6日では $24.0 \pm 6.7\%$, LH+7日では $53.0 \pm 19.3\%$ と暫増し, LH+8日では $64.9 \pm 9.8\%$ (n=9), LH+9日では $67.6 \pm 15.1\%$ (n=8) とピーク値を示し, LH+10日では $47.2 \pm 14.0\%$ (n=9), LH+11日では $46.8 \pm 18.3\%$ (n=4) と減少していた。

④ Percentage of Stromal Nuclei

間質細胞核の面積比はLH+5日~LH+11日まで10~20%とほぼ一定の値を示していた。

⑤ Number of Stromal Mitoses (Mit.)

間質細胞の分裂像はLH+5日では6例中3例(50%)に2~3個認められ, LH+6日~LH+8日になるとほとんど認められず, LH+9日~LH+11日に再び出現し, LH+9日では8例中6例(75%), LH+10日以降では100%に認められ, その個数は1~2個であった。

⑥ Predecidual Reaction (Pre. R.)

前脱落膜様反応はLH+9日以降に出現し,

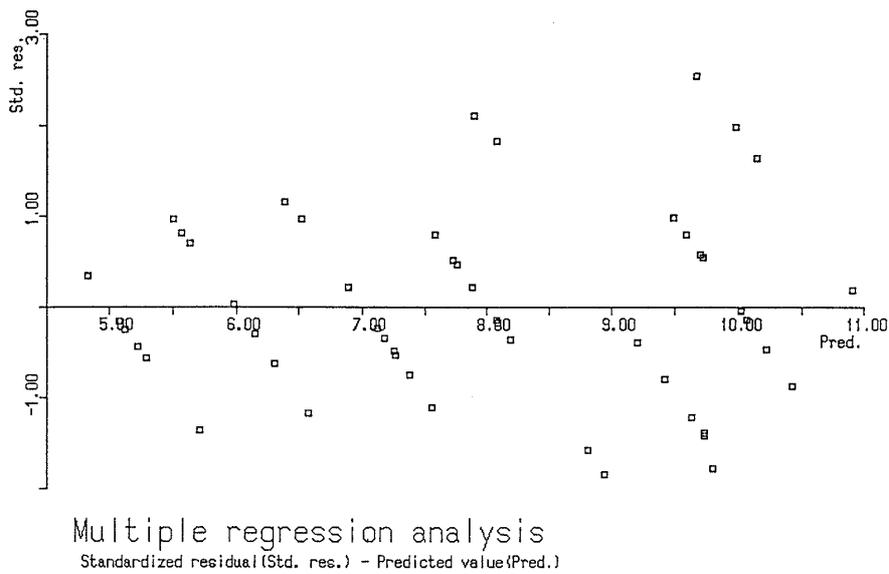


図5 残差分析

$R=0.959$

となつた。また、図5は重回帰モデルの妥当性を検証するための残差分析結果で、モデルの妥当性が明らかとなつた。

考 案

子宮内膜日付診断は、受精卵の着床異常の有無を直接的に診断する方法で、黄体機能不全の診断に際して必要不可欠な検査法である。従来、この診断は子宮内膜診を実施した日と、Noyes et al.¹⁰⁾により確立された組織所見から診断された日付診日とを比較して行われてきた。この際、内膜診実施日の決定は基礎体温表から排卵日を推定して求める方法(BBT法)と、高温相持続期間を14日間とし次回月経開始日から逆算して求める方法(NMP法)とで行われてきた。しかし、このような内膜診実施日の決定法にはいくつかの問題点がある。すなわち、NMP法の場合、高温相持続期間を14日間としているが実際の持続期間は必ずしもそうとは限らず、今回の正常黄体機能を有すると思われる不妊婦人についてみても14日間を示したのは46例中わずか7例(15.2%)であつた。また、黄体期後期に内膜診を実施すると、検査後の出血と月経開始による出血と判別し難いことがあり、また、妊娠周期の診断ができないという問題点もある。一方、排卵日診断をBBTで行うには限界があり、今回の検討でも最終低温日に尿中LHサー

ジを示した症例は52例中14例(26.9%)であつた。

周知のごとく子宮内膜は、まず卵胞期に顆粒膜細胞より分泌される estradiol (E_2) の作用により増殖性変化を示し、LH サージによる顆粒膜細胞、莢膜細胞の黄体細胞への分化により progesterone (P) 分泌が起こり分泌性変化を開始することから、内膜診実施日の決定も LH サージ日を起点に考慮すべきであり、実際に、Tredway et al.¹²⁾ は血中 LH サージ日から求めた内膜診実施日と Noyes et al.¹⁰⁾ の criteria を用いた日付診日とが非常によい相関を示すと報告している。

正確な排卵日診断のためには連日の超音波検査や血・尿中 LH の測定が必要であり、今回われわれは超音波診断により排卵日を予測し、尿中 LH の測定により排卵日の確定診断を行った。われわれが用いた尿中 LH 測定試薬に関しては、すでに田辺ら⁴⁾ がその臨床的有用性を報告しており、一日2回早朝尿、夜間随時尿の測定により強陽性 LH カラー(+2)の発現率が88.5%で、強陽性を LH ピークと考えると容易に排卵時期が予知できると述べている。われわれの成績でも、LH カラー(+2)日の血中 LH 値は $35.5 \pm 12.6 \text{ mIU/ml}$ (Mean \pm S.D., $n=27$) で、27例中24例(89%)が 20 mIU/ml 以上を示した。青野ら¹⁾ によると、血中 LH サージ日を0日とした時のスパック-S LH キットによる正常月経周期の-1日、0日、+1日

の値は、各々 16.8 ± 9.8 , 42.2 ± 21.0 , 14.3 ± 9.8 mIU/ml であり、LH カラー (+2) 日にまさに血中 LH ピークを捉らえていることが明らかとなった。このように超音波診断と尿中 LH の測定を組み合わせることにより、従来以上に簡便に血中 LH サージを把握することが可能で、実地臨床において内膜診実施日の決定にも十分応用可能であることが明らかとなった。

Li et al.⁸⁾は正常月経周期を有する婦人において血中 LH サージ日と日付診日との相関係数が 0.70 で、次回月経開始日との相関係数は 0.37 と低値であったと報告し、また Shoupe et al.¹¹⁾も排卵日診断を超音波診断・血中 LH サージ・基礎体温表および次回月経開始日の四つの方法で行ったところ、正診率は各々 96.1%, 84.6%, 76.9%, 65.4% で次回月経開始日を用いた日付診断が正確性に欠けると報告している。今回われわれも、NMP 法、BBT 法および LH 法の三つの方法により内膜診実施日を決定し、日付診断の正確性を比較検討した。この結果、LH 法において内膜診実施日と日付診日との相関係数が最も高値を示し、NMP 法や BBT 法に比べ診断の正確性が高いことが明らかとなった。さらに、これら 3 法による異常内膜の診断内容の比較検討から、Li et al.⁸⁾も指摘しているように、NMP 法や BBT 法の場合異常内膜と過剰診断する危険があることが示唆された。

正確な子宮内膜日付診断のためには、正確な排卵日診断と同時に正確かつ客観的な組織所見の把握が必要である。Noyes et al.¹⁰⁾は子宮内膜の分泌性変化の特徴的組織所見として 8 項目を挙げており、今日もなおこの criteria を用いて日付診断が行われている。これに対して、新しくより客観的な組織所見の評価法として、Johannisson et al.⁶⁾は子宮内膜の morphometric analysis を用い、内膜腺の直径・核下空胞・間質の細胞分裂数などが卵胞期 E₂ や黄体期 E₂・P と有意の相関を示し、また、Li et al.⁹⁾は腺細胞の分裂数・腺細胞の分泌の程度・子宮内膜に占める腺細胞の体積・偽重層の程度・前脱落膜様反応の 5 項目の子宮内膜所見より正確な日付診断が可能であると報告している。今回われわれは、Li et al.⁹⁾と同様にステップワイ

ズ重回帰分析を用いて日付診断を試みたところ、4 項目の内膜所見により日付診断が可能で、重回帰相関係数 (R) が 0.9590 (寄与率: 92%) と高い値を示した。また、残差分析結果をみると、LH+8 日~LH+11 日では standardized residual が若干大きい傾向を認め、LH-3 日~LH+8 日が高い子宮内膜の regularity があると報告している Johannisson et al.⁷⁾の報告を裏づける結果となった。

川浪ら³⁾は免疫染色法を用いて間質における細胞種の同定を行い、増殖期に出現する分裂像は間質線維芽細胞であるが分泌期後期に出現する分裂像は白血球系の細胞であると報告しており、また、Daly et al.⁵⁾は間質におけるリンパ球系および白血球系細胞浸潤が次回月経開始日と関連しており、日付診断に用いるべきでないとして主張している。さらに今回の成績から、Noyes et al.¹⁰⁾が指摘した間質の浮腫が黄体期中期の子宮内膜の特徴的所見であることに変わりはないが、この程度により日付診断を行うにはいささか無理があると思われた。これらの事実から、より精度の高い子宮内膜日付診断を行うためには組織学的日付診断の基準の再検討が必要であると思われる。

以上、子宮内膜日付診断の正確性を高めるためには血・尿中 LH サージ日などより正確な排卵日診断に基づいて子宮内膜診実施日を決定することが重要であり、また、子宮内膜の morphometric analysis を行うことにより正確かつ客観的な子宮内膜日付診断の可能性が示唆された。

稿を終るにあたり、統計処理の御指導を頂いた群馬大学医学部公衆衛生学教室青木繁伸助教授・東北大学医学部衛生学教室小山 洋講師に深謝いたします。また、高速カラー画像解析装置 SP-500 の使用をお認め頂いたオリンパス株式会社に深謝いたします。

本論文の要旨の一部は、第 97・101 回日本不妊学会関東地方部会 (1988・1990, 東京)、第 34 回日本不妊学会総会 (1989, 旭川)、および第 42 回日本産科婦人科学会学術講演会 (1990, 東京) にて発表した。

文 献

1. 青野敏博, 松本脩三, 熊本悦明, 佐々木康人, 玉田太郎, 水野正彦, 飯塚理八, 鎮目和夫, 出村 博, 日比逸郎, 入江 実, 紫芝良昌, 友田 豊, 森 崇

- 英, 井村裕夫, 仲野良介, 守殿貞夫, 太田善介, 苛原 稔, 森 宏之: 下垂体性ゴナドトロピン標準品を用いたLHおよびFSHのImmuno-radiometric測定法(スパック-S LH, スパック-S FSH)の多施設における臨床的検討. ホと臨, 36: 1087, 1988.
2. 五十嵐正雄: 脳下垂体性ゴナドトロピン分泌に関する研究. 日産婦誌, 19: 848, 1967.
 3. 川浪太郎, 吉田吉信: Endometrial Mitotic Granular Leucocyte について. 産婦の世界, 39: 759, 1987.
 4. 田辺清男, 田村 勉, 角ゆかり, 飯塚理八: 尿中LH簡易検出試薬オルガノンLHカラーの基礎的ならびに臨床的検討. 日不妊会誌, 33: 759, 1988.
 5. Daly, D.C., Tohan, N., Doney, T.J., Maslar, I.A. and Riddick, D.H.: The significance of lymphocytic-leukocytic infiltrates in interpreting late luteal phase endometrial biopsies. Fertil. Steril., 37: 786, 1982.
 6. Johannisson, E., Parker, R.A., Landgren, B.-M. and Diczfalusy, E.: Morphometric analysis of the human endometrium in relation to peripheral hormone levels. Fertil. Steril., 38: 564, 1982.
 7. Johannisson, E., Landgren, B.-M., Rohr, H.P. and Diczfalusy, E.: Endometrial morphology and peripheral hormone levels in women with regular menstrual cycles. Fertil. Steril., 48: 401, 1987.
 8. Li, T.-C., Rogers, A.W., Lenton, E.A., Dockery, P. and Cooke, I.: A comparison between two methods of chronological dating of human endometrial biopsies during the luteal phase, and their correlation with histologic dating. Fertil. Steril., 48: 928, 1987.
 9. Li, T.-C., Rogers, A.W., Lenton, E.A., Dockery, P. and Cooke, I.: A new method of histologic dating of human endometrium in the luteal phase. Fertil. Steril., 50: 52, 1988.
 10. Noyes, R.W., Hertig, A.T. and Rock, J.: Dating the endometrial biopsy. Fertil. Steril., 1: 3, 1950.
 11. Shoupe, D., Mishell, D.R., Lacarra, M.R.N., Lobo, R.A., Horenstein, J.D., Ablain, G. and Moyer, D.: Correlation of endometrial maturation with four methods of estimating day of ovulation. Obstet. Gynecol., 73: 88, 1989.
 12. Tredway, D.R., Mishell, D.R. Jr. and Moyer, D. L.: Correlation of endometrial dating with luteinizing hormone peak. Am. J. Obstet. Gynecol., 117: 1030, 1973.

(No. 6851 平2・8・13受付)