

男性不妊患者における精子微細構造の異常と受精能力との関連性

秋田大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 真木正博教授)

松 井 俊 彦

Ultrastructural Abnormalities of Spermatozoa in Infertile Male Patients and their Implications in Fertilizing Capacity in vitro

Toshihiko MATSUI

Department of Obstetrics and Gynecology, Akita University School of Medicine, Akita

(Director: Prof. Masahiro Maki)

概要 男性不妊患者の精子の受精能力を評価するうえでの、精子の微細構造の異常の意義について検討した。体外受精を施行した男性不妊患者38例38周期について、体外受精に用いられた精液から透過電子顕微鏡の精子標本を作製した。患者は、受精が成立しなかった受精不能群20例と受精が成立した受精成立群18例とに分類した。各患者の透過電顕による精子頭部及び尾部の正常形態及び種々の形態異常の出現頻度(精子100個当り)を算定し、2群間で比較検討した。また、その結果をもとにした2群間の判別の可能性を、判別分析にて検討した。

1) 精子の頭部所見では、受精成立群は受精不能群と比較して、正常頭部の頻度が有意に高率($27.9 \pm 15.4\%$ 対 $9.6 \pm 13.3\%$, $p < 0.001$)で、先体の異常($62.3 \pm 16.4\%$ 対 $78.9 \pm 17.6\%$, $p < 0.01$)、核の形態異常($14.5 \pm 7.2\%$ 対 $24.9 \pm 13.3\%$, $p < 0.01$)は有意に低率であった。

2) 正常尾部の頻度は受精成立群で有意に高率($64.9 \pm 20.2\%$ 対 $47.7 \pm 18.9\%$, $p < 0.05$)であった。尾部の異常所見の中では、辺縁双微細管の欠損の出現頻度が、受精成立群で有意に低率($9.3 \pm 5.9\%$ 対 $15.8 \pm 9.4\%$, $p < 0.02$)であったが、その他の異常所見には有意差は認められなかった。

3) 変数増加法で、正常頭部、辺縁双微細管の欠損、核の形態異常の3個の変数が選択され、これらの所見を用いた判別分析による見かけの的中率は84%であった。

男性不妊患者の精子の形態を透過電顕により詳細に分析することにより、光顕の観察では明瞭でない先体の異常や尾部の異常の正しい評価が可能となった。これは男性不妊患者の精子の受精能力を評価するうえで、極めて有意義なものと考えられる。

Synopsis The purpose of this study was to clarify the relation between ultrastructural abnormalities of spermatozoa and the fertilizing capacity of the spermatozoa in vitro. The infertile male patients who underwent in vitro fertilization were divided into two groups: the no fertilization group (NFG, $n=20$) and the fertilization group (FG, $n=18$). Morphological features of the spermatozoa in the two groups were studied by transmission electron microscopy (TEM).

1) The percentage of normal heads in the FG was significantly higher than that in the NFG ($27.9 \pm 15.4\%$ vs $9.6 \pm 13.3\%$, $p < 0.001$). The percentage of abnormal acrosomes ($62.3 \pm 16.4\%$ vs $78.9 \pm 17.6\%$, $p < 0.01$) and nuclear defect of spermatozoa ($14.5 \pm 7.2\%$ vs $24.9 \pm 13.3\%$, $p < 0.01$) in the FG was significantly lower than that in the NFG.

2) The percentage of normal tails in the FG was significantly higher than that in the NFG ($64.9 \pm 20.2\%$ vs $47.7 \pm 18.9\%$, $p < 0.05$). The percentage of deleted peripheral microtubules was significantly lower in the FG ($9.3 \pm 5.9\%$ vs $15.8 \pm 9.4\%$, $p < 0.02$).

3) Three effective variables, normal heads, deleted peripheral microtubules, and nuclear defects, were selected by the forward selection method to discriminate the two groups. The discriminant analysis by means of these three variables showed that apparent accuracy was 84%.

The present study demonstrated that the ultrastructural analysis by TEM makes it possible to show more precisely the abnormalities of acrosomes and tails of spermatozoa. This may be useful in evaluating the fertilizing capacity of spermatozoa in male infertility.

Key words: Male infertility • Fertilization in vitro • Transmission electron microscopy • Spermatozoa

緒 言

近年、ハムスター試験や体外受精の治療経験から、男性不妊の精子の受精能力の評価が *in vitro* で可能となつた。我々の経験では、男性不妊症例の約半数は受精能力が極めて乏しく、受精したとしても移植に至る受精卵が少なく、効率の高い治療ができない¹⁾。このような精子の受精能力は、患者の精液検査で検討される種々のパラメーターの中では、奇形率に最もよく相関することが、報告されている¹⁾¹²⁾。しかし、実際にどのような形態異常が、本質的に男性不妊患者の精子の受精能力に関連するかは、明確ではない。

今回本研究においては、男性不妊患者に認められるさまざまな精子形態異常の種類と出現率を、透過電子顕微鏡（以下透過電顕）を用いて詳細に検討し、男性不妊患者の受精障害に関連する精子の形態異常を明らかにした。また、それらの精子の形態学的所見に基づく男性不妊患者の受精能予測の可能性についても併せて検討した。

研究方法

1. 研究対象

1988年10月より1990年7月までに、当科において、189症例に対し304周期に体外受精が行われた。これら対象患者のうち、精液検査結果がWHOの男性不妊の診断基準¹³⁾に該当する患者は、57例80周期存在した。この男性不妊患者の治療周期において、体外受精に用いられた精液から透過電顕の標本が作製された38例38周期を対象とした。男性又は女性に抗精子抗体が存在する場合、及び成熟卵子が3個以上採取されなかつた周期は除外した。これら対象夫婦の女性の平均年齢は32.2歳、男性の平均年齢は34.1歳、平均不妊期間は7.1年であつた。対象患者は、採取された卵子のすべてに受精が成立しなかつた患者20例（受精不能群）と少なくとも1個以上の卵子に受精が成立した患者18例（受精成立群）とに分類した。各群の患者の平均年齢、不妊期間、精液検査結果、体外受精の治療成績を表1に示す。両群間の比較では、妻の年齢、不妊期間において有意差を認めた（いずれも $p < 0.05$ ）。精液検査では、精子濃度、運動率は有意差を認めず、奇形率（光顕レベル）のみに有

意差（ $p < 0.01$ ）を認めた。採卵数は、両群間に有意差を認めず、受精成立群の受精率（受精卵数/採取卵子数）は $47.0 \pm 24.5\%$ で、採卵当りの妊娠率（流産例を含む）は33.3%（6/18）であつた。当科で行っている体外受精法の詳細は、以前に報告した¹⁰⁾¹¹⁾。

2. 透過電顕用の試料作製及び観察の方法

男性不妊患者の透過電顕用の試料は、以下のようにつく製した。体外受精の目的で用手的に採取された精液1~2mlに10%患者血清を含むHTF (human tubal fluid) 10mlを加え、遠心（400×g, 10分間）、洗浄操作を2回反復した。その後30分間放置し、沈渣より上清にswim upしてきた精子の一部を体外受精の治療の媒精用に用いた（媒精濃度は、運動精子で $10 \sim 50 \times 10^4/\text{ml}$ ）。swim upした精子をできる限り残すように上清を除去し、残りのswim upした精子及び沈渣に0.05M カコジル酸緩衝液（pH 7.4）で2倍希釈した2.5%グルタルアルデヒド及び1%四酸化オスミウムを順次加えて、それぞれ4℃にて1.5~2時間固定した。その後、エタノール系列で脱水を行い、エポン812樹脂（TAAB社）にて包埋した。ついで、2088型超ミクロトーム（LKB社）にて超薄切片を作製、酢酸ウラニル及びクエン酸鉛にて二重染色して試料を作製した。観察には、JEM-1200EX 透過型電子顕微鏡（日本電子）を使用した。精子頭部は5,000~10,000倍、尾部は10,000~15,000倍にて観察した。

それぞれの患者の標本より、精子頭部及び尾部についてそれぞれ100個の精子の所見を観察し、正常頭部、正常尾部と各種の異常所見の出現の頻度を検討した。それらの微細構造所見については、結果において後述する。

3. 検定及び判別分析

各群の算定値は、平均値及び標準偏差で記載した。2群間の比較はStudent t-testにより行つた。判別分析は、多変量解析ハンドブック・ソフト「HALBAU」により、NEC PC9801VMを用いて行つた³⁾。

研究結果

1. 透過電顕上の正常及び異常精子

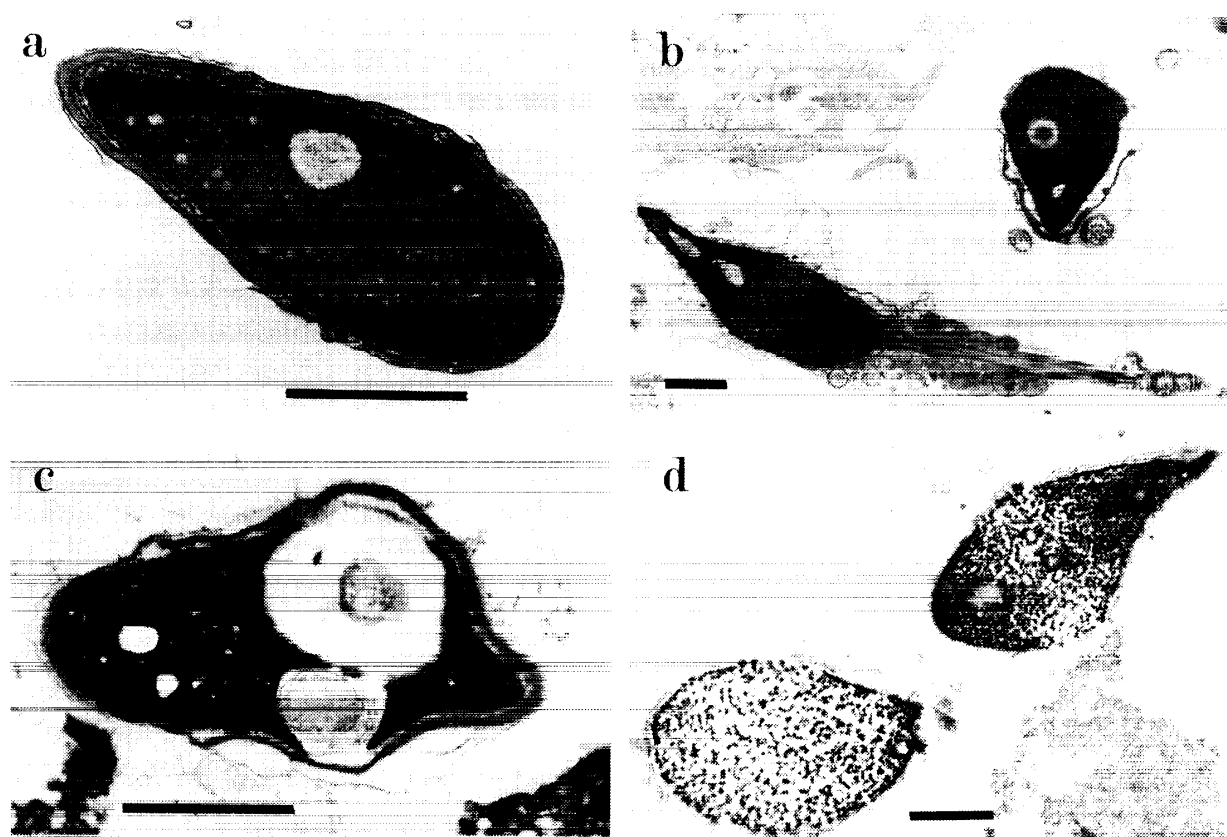


写真1 精子頭部の透過電顕像。a：正常頭部，核は偏平梨状型で，クロマチンは均一に濃縮している。核の前半2/3には先体が存在しており，内容は電子密度の高い物質により均一に占められている。b：先体の異常，核から剥離したり，異常膨化している。c：核の形態異常，核内に核の大きさの1/3程度を占める欠損とその空間には封入体が存在する。d：核クロマチンの濃縮不良，核は目の粗い顆粒状のクロマチンにより形成されている（bar: 1 μ m）

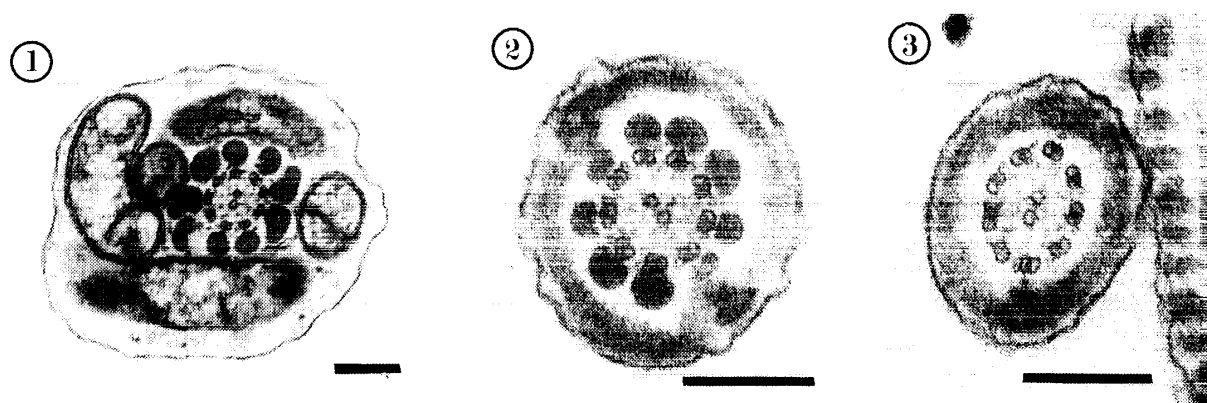
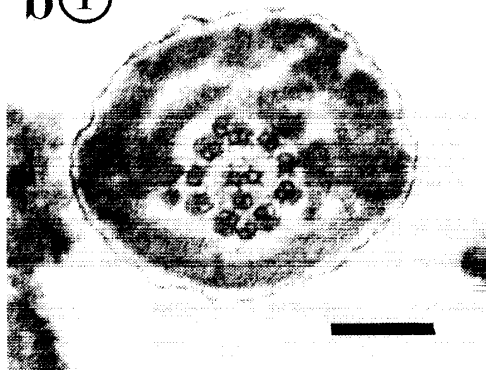
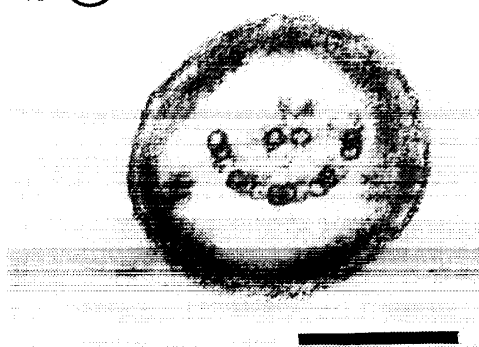


写真2a 精子尾部における正常断面，中心にある2本の中心微細管（central fibers）とその回りに円周状に等間隔で配列している9対の辺縁双微細管（peripheral doublet）とで構成されている9+2（nine plus two）の軸糸複合体の構造は，①～③のレベルで共通して認められる。①：中間部レベル，9+2の軸糸複合体の外側に，個々の双微細管に対応して電子密度の高い外緻密線維（outer coarse fibers）が並び，更にこれらの回りをミトコンドリアが包む。②：主部レベル，ミトコンドリアは消失し，代わりに線維鞘（fibrous sheath）が包む。③：②よりも更に尾側のレベル，外緻密線維も消失し，9+2の軸糸複合体と線維鞘のみとなる。（bar: 0.2 μ m）

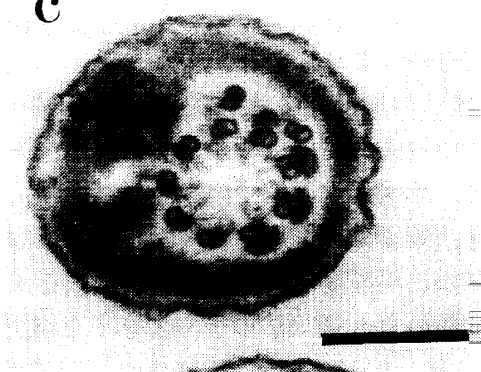
b①



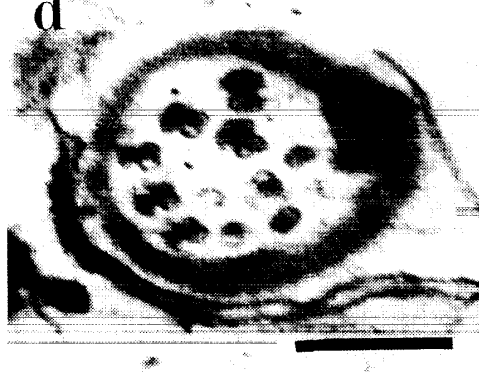
b②



c



d



e



f



写真 2b 辺縁双微細管の異常. ①過剰所見: 12対の双微細管が認められる. ②欠損所見: 5対の双微細管が認められる. (bar: 0.2 μ m)

写真 2c 中心微細管の欠如. 辺縁双微細管の過剰(11対)の所見も認められる. (bar: 0.2 μ m)

写真 2d 微細管の配列異常. 中心及び辺縁双微細管の微細構造が全く無秩序に配列している. (bar: 0.2 μ m)

写真 2e 変性尾部. 原形質膜は崩壊し, 微細管は明瞭な線維構造を呈さない. 空胞も認められる. (bar: 0.2 μ m)

写真 2f 細胞質小滴. 中間部のミトコンドリアの回りに細胞質が認められ, その中に囊胞が認められる. 先体及び核の変形も認められる. (bar: 1 μ m)

透過電顕にて観察し得る精子頭部の各所見を写真1に示す。正常の精子頭部の透過電顕所見(写真1a), 精子頭部の異常所見としては, 先体の異常(写真1b), 核の形態異常(写真1c), 核クロマチンの濃縮不良の所見(写真1d)が観察される^{6)~8)19)}。

正常な尾部では, 横断面の構成要素はその断面のレベルにより多少異なる(写真2a①~③)。精子尾部の異常所見としては, 以下のものが観察される。辺縁双微細管の数の異常としては, 10対以上の過剰例(写真2b①), あるいは8対以下(写真2b②)の欠損例, 中心微細管の異常としては, まったく中心微細管が欠如している(写真2c)ものや, 1本のみであるもの, あるいは3本以上の微細管を持つもの等が観察される。また, 微細管の配列異常(写真2d)や, 変性尾部(degenerate tail)¹⁷⁾(写真2e), 細胞質小滴(cytoplasmic droplet)^{6)~8)}(写真2f)の所見も認められる。その他, 尾部においては, 外緻密線維, ミトコンドリアの異常も観察されるが, 今回の検討においては判定が客観的に可能で観察が比較的容易なものに限定し, 辺縁双微細管の過剰あるいは欠損, 中心微細管の異常, 微細管配列の異常, 変性尾部, 細胞質小滴の各所見について検討した。

2. 精子頭部及び尾部の形態異常の出現頻度と受精成績との関連性

表1 受精不能群及び成立群の年齢, 不妊期間, 精子検査成績と体外受精成績

	受精不能群	受精成立群	t 検定
症例数(例)	20	18	
年齢: 夫(歳)	34.2±2.1	33.9±1.8	n.s.
妻(歳)	33.0±1.7	31.4±2.7	p<0.05
不妊期間(年)	7.5±2.5	5.9±2.2	p<0.05
精子濃度(million/ml)	25.2±21.3	27.4±23.9	n.s.
運動率(%)	29.4±16.7	34.6±19.0	n.s.
奇形率(%)	91.6±7.6	82.7±8.0	p<0.01
採卵数(個)	7.9±5.0	9.9±4.1	n.s.
受精率(%)	0	47.0±24.5	
妊娠率(/採卵)	—	33.3%(6/18)	

mean±standard deviation
n.s.: not significant

受精成立群と受精不能群における正常及び異常精子の各所見の出現率を比較して, 表2に示す。正常頭部の出現率については, 受精成立群は受精不能群と比較して有意に($p<0.001$)高率で, 先体の異常, 核の形態異常の出現率については有意に(いずれも $p<0.01$)低率であつた。核クロマチンの濃縮不良所見については, 2群間に有意差は認められなかつた。正常尾部の出現率については受精成立群は受精不能群と比較して有意に($p<0.05$)高率であつた。尾部の異常所見としては, 辺縁双微細管の欠損の出現頻度が, 受精成立群で有意に($p<0.02$)低率であつたが, その他の所見には有意差は認められなかつた。

3. 精子形態による受精の可能性の予測

精子の電顕所見による異常所見の出現率をもとにして, 受精成立群と受精不能群とを判別する可能性を, 判別分析を用いて検討した。11個の異常所見間の出現頻度についての相関関係を表3に示す。変数の逐次選択法の一つである変数増加法³⁾(有意水準=0.15, $F_{in}=2$)により, 正常頭部(上側確率=0.001, 以下同様), 辺縁双微細管の欠損(0.006), 核の形態異常(0.148)の3個の変数が選択された。この3個の所見を用いた判別分析の,

表2 受精不能群と成立群における正常及び異常精子の出現率

	受精不能群(%)	受精成立群(%)	t 検定
<頭部>			
正常頭部	9.6±13.3	27.9±15.4	p<0.001
先体の異常	78.9±17.6	62.3±16.4	p<0.01
核形態異常	24.9±13.3	14.5±7.2	p<0.01
核クロマチン濃縮不良	15.4±13.7	10.4±12.9	n.s.
<尾部>			
正常尾部	47.7±18.9	64.9±20.2	p<0.05
辺縁双微細管 過剰	1.9±2.6	2.5±4.3	n.s.
欠損	15.8±9.4	9.3±5.9	p<0.02
中心微細管の異常	4.4±3.7	3.1±4.3	n.s.
微細管の配列異常	2.5±2.3	1.4±2.1	n.s.
変性尾部	23.5±15.1	20.2±18.3	n.s.
細胞質小滴	4.5±4.1	3.6±4.4	n.s.

mean±standard deviation
n.s.: not significant

表 3 各所見間の相関係数行列

	1)	2)	3)	4)	5)	6)	7)	8)	9)	10)
1) 正常頭部										
2) 先体の異常	-0.88									
3) 核形態異常	-0.60	0.65								
4) 核クロマチン濃縮不良	-0.50	0.51	0.16							
5) 正常尾部	0.33	-0.39	-0.17	-0.54						
6) 辺縁双微細管 過剰	0.19	-0.15	0.10	-0.07	-0.19					
7) 辺縁双微細管 欠損	-0.01	-0.11	-0.09	-0.07	-0.29	-0.12				
8) 中心微細管異常	-0.01	-0.07	-0.01	-0.15	-0.35	0.51	0.17			
9) 微細管配列異常	-0.37	0.39	0.16	0.25	-0.18	-0.05	0.07	0.11		
10) 変性尾部	-0.22	0.34	0.14	0.42	-0.78	0.03	-0.07	0.11	0.06	
11) 細胞質小滴	-0.15	-0.18	-0.19	-0.03	0.26	-0.16	0.26	0.06	0.26	-0.37

表 4 3 個の所見を独立変数とした判別分析

変 数 名	判別係数
1) 正常頭部	-0.09
2) 辺縁双微細管 欠損	0.18
3) 核形態異常	0.08
定 数	-2.17

マハラノビスの汎距離	3.6
誤判別率の推定値	17.1%
F値(自由度 1, 自由度 2)	9.6 (3, 30)
上側確率	0.0001

	判別関数による	
	受精不能群	受精成立群
実際の受精不能群	16	4
実際の受精成立群	2	16

見かけの的中率 = 32/38 (84%)

見かけの的中率は84% (表 4) であった。

考 察

精子頭部の形態に関しては、正常頭部の出現率は2群間に有意差が認められ、先体異常、核の形態異常の所見にも有意差が認められた。先体の異常と核の形態異常は非常に高い正の相関を示し、共通して認められる頻度の高い異常所見であることが示された。また、正常頭部は先体の異常及び核の形態異常との間に高い負の相関があり、異常頭部精子はこのどちらかの異常所見を有している頻度が高いと考えられる。

先体の構造異常は受精にとって致命的な欠陥となると考えられるが、問題はそれが電顕標本作製する過程の人為的操作による人工産物である可

能性である。しかし、そのような場合は一般に plasma membrane も破壊されるとされ¹⁹⁾、今回の検討ではそのような所見がないことからその可能性は否定してよいと思われる。また、今回の標本作製過程では、遠心による精子への障害²⁾を考え、試料作製過程においては遠心操作を極力避けるように努めた。核の形態異常も、受精に及ぼす影響は大きいと考えられ、核中の空胞が核内の染色体に何らかの悪影響を与えている可能性も報告されている⁶⁾⁷⁾。核クロマチン濃縮不良の所見は未熟な精子核の特徴で、nuclear immaturity と呼ばれるが¹⁹⁾、出現率は受精成立群と不能群との間に有意差を認めなかつた。SDS (sodium dodecylsulphate) 等の化学物質を加えて、精子の核クロマチンの濃縮状態を評価する nuclear chromatin decondensation test の成績が体外受精の成績と相関しないとする報告¹³⁾もあり、今回の筆者の検討を裏づけるものと考えられる。

精子の尾部の電顕の評価に関しては、1975年に dynein arm の欠損が報告されて以来⁴⁾⁵⁾¹⁶⁾、精子無力症と精子尾部の微細構造の異常との関係を検討した報告が認められる⁹⁾¹⁵⁾¹⁷⁾。今回の検討では、辺縁双微細管の欠損所見のみに有意差が認められた。最も高頻度に認められた異常所見は変性尾部であった。この所見は精子死滅症に特徴的な所見であり、精子無力症の約1/4の症例を占めると報告されているが¹⁷⁾、我々の結果では2群間に有意差を認められず、受精成立群でもこの異常所見がかなりの比率 (30~40%) を占めている症例が認め

られた。細胞質小滴は、その解釈については不明の部分が多いが、精巣上体における成熟の不足によるとする報告がある⁷⁾。我々の検討では2群間で差がなく、受精障害との関連性は少ないと考えられる。また、今回、ミトコンドリアと外緻密線維の所見は検討しなかつた。これは、これら所見の評価可能な断面の出現頻度が限られており、定量的な検討に限界があつたためである。

以上より、普遍的な観点からは、男性不妊患者の受精の予後を決定するのは、精子頭部の先体と核の形態異常が重要な因子であると考えられる。しかし症例を個々に検討してみると、頭部の所見からは十分受精が可能であると考えられたものの、運動性が極めて不良で、受精が成立しなかつた症例を数例認めた。これらの症例は、尾部に関しては正常形態を示すものが極めて少なく、微細管の数の異常を主とする9+2の構造異常が目立っていた。こういった症例は、頭部異常とは明らかに異なつた尾部の奇形による受精障害と思われる。

男性不妊患者の受精の可能性を精子濃度や単なる運動率で予測するのはほとんど困難である。ただ、精子の運動性を運動速度や運動様式を詳細に検討すれば、おそらくかなり有効な判定方法となるものと思われる。一方、精子の奇形率は以前報告したように¹⁾、光顕レベルでもある程度有効なパラメーターになると考えられる。しかし光顕においては、先体の形態の評価に関しては限界があり、また微細管の欠損等の尾部の異常を光顕で評価することは不可能である。以前に、受精の可能性を光顕所見で判定するよりも電顕所見で判別したほうが的中率が上昇することを報告したが¹⁴⁾、電子顕微鏡を使用することにより、光顕では明らかにし得ないような形態異常の評価が可能となり、それにより精子の形態と受精能力との関係がより明瞭になると考えられる。しかし、電顕用の検体を作製するうえでの繁雑な手順を考慮すると、男性不妊のルーチン検査としては適当ではないと思われるが、今後臨床的には顕微受精の適応を検討する場合に有力な判定法となるものと期待される。

また、このような精子の形態学的問題が、同一の患者において固定した問題なのか、それとも時期によつて変動しうるかについての疑問がある。奇形率の変動が認められ、それにより受精率の変化が観察される症例も経験上少数であるが存在するように思われ、今後の検討が必要と考えられる。

稿を終えるにあたり、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました恩師真木正博教授、並びに御指導、御助言を頂いた児玉英也博士、及び加藤充弘博士に深甚なる謝意を表します。また、透過電顕の試料の作製、電子顕微鏡の使用法にあたり御助言を頂いた機器センターの佐々木仁倫氏、統計解析について御助言を頂いた公衆衛生学講座の久松俊一氏に厚く御礼申し上げます。

なお、本論文の一部は、第42回日本産科婦人科学会学術講演会において発表した。

文 献

1. 松井俊彦, 児玉英也, 加藤充弘, 関根和子, 武田志保, 真木正博: 男性不妊患者の体外受精における受精能予測の為に各種精液パラメーターの有用性. 日不妊会誌, 36: 571, 1991.
2. 佐藤和宏, 石川博夫, 前原都夫, 佐藤滋彰, 木村正一, 折笠精一: 精子無力症における精子の微細構造について. 第1報. 精子無力症の臨床的事項に関する一考察. 日不妊会誌, 32: 338, 1987.
3. 佐藤俊哉: 判別解析. 多変量解析ハンドブック(柳井晴夫他編), 126. 現代数学社, 京都, 1989.
4. Afzerius, B.A., Eliasson, R., Johnson, O. and Lindholmer, C.: Lack of dynein arms in immotile human spermatozoa. J. Cell. Biol., 66: 225, 1975.
5. Baccetti, B., Burrini, A., Pallini, V., Renieri, T., Rosati, F. and Menchini Fabris, G.F.: The short-tailed human spermatozoa: Ultrastructural alternations and dynein absence. J. Submicrosc. Cytol. Pathol., 7: 349, 1975.
6. Bartoov, B., Eltes, F., Weissenberg, R. and Lunenfeld, B.: Morphological characterization of abnormal human spermatozoa using transmission electron microscopy. Arch. Androl., 5: 305, 1980.
7. Dadoune, J.P.: Ultrastructural abnormalities of human spermatozoa. Human Reprod., 3: 311, 1988.
8. Glezerman, M. and Bartoov, B.: Semen analysis. In Infertility: Male and Female (eds. V. Insler and B. Lunenfeld), 243. Churchill Livingstone, New York, 1986.
9. Jadot-Van de Casseye, M., Schoysman, R., Smets, G. and Gepts, W.: Ultrastructural

- aspects of asthenospermia. *Int. J. Androl.*, 3 : 15, 1980.
10. Kodama, H., Kato, M., Fukuda, J., Sekine, K. and Maki, M. : Initial experience of in vitro fertilization at Akita University. *Akita J. Med.*, 16 : 631, 1989.
 11. Kodama, H., Kato, M., Sekine, K., Matsui, T. and Maki, M. : Efficacy of a gonadotropin-releasing hormone against treatment for in vitro fertilization. *Jpn. J. Fertil. Steril.*, 36 : 389, 1991.
 12. Kruger, T.F., Swanson, R.J., Acosta, A.A., Matta, J.F., Simmons, K.F. and Oehninger, S. : Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 49 : 112, 1988.
 13. Liu, D.Y., Elton, R.A., Johnson, W.I.H. and Baker, H.W.G. : Spermatozoal nuclear chromatin decondensation in vitro : A test for sperm immaturity. Comparison with results of human in vitro fertilisation. *Clin. Reprod. Fertil.*, 5 : 191, 1987.
 14. Matsui, T., Kodama, H., Kato, M., Sekine, K. and Maki, M. : Prediction of fertilizing capacity in vitro in the patients with male infertility by detailed analysis of sperm morphology. *Acta Obst. Gynaec. Jpn.*, 42 : 930, 1990.
 15. McClure, R.D., Brawer, J. and Robaire, B. : Ultrastructure of immotile spermatozoa in an infertile male : A spectrum of structural defects. *Fertil. Steril.*, 40 : 395, 1983.
 16. Pederson, H. and Rebbe, H. : Absence of arms in the axoneme of immobile human spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 12 : 541, 1975.
 17. Ryder, T.A., Mobberley, M.A., Hughes, L. and Hendry, W.F. : A survey of the ultrastructural defects associated with absent or impaired human sperm motility. *Fertil. Steril.*, 53 : 556, 1990.
 18. World Health Organization : Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction, 27. Press Concern, Singapore, 1980.
 19. Zamboni, L. : The ultrastructural pathology of the spermatozoon as a cause of infertility : The role of electron microscopy in the evaluation of semen quality. *Fertil. Steril.*, 48 : 711, 1987.

(No. 7021 平3・7・16受付)