

## ラット精細管および精巣上体管における 経上皮性アンドロゲン移行に関する研究

名古屋大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 三宅弘治教授)

山本 雅憲, 日比 初紀, 三宅 弘治

### STUDY ON TRANSEPITHELIAL MOVEMENT OF <sup>3</sup>H-ANDROGEN IN THE RAT SEMINIFEROUS AND EPIDIDYMAL TUBULES

Masanori Yamamoto, Hatsuki Hibi and Koji Miyake

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

The mechanisms involved in the maintenance of the endocrinological microenvironment of the seminiferous and epididymal tubules were examined in a series of experiments utilizing *in vivo* microperfusion, microperfusion, and micropuncture technique. The intraluminal <sup>3</sup>H-androgen concentration in the seminiferous tubules increased linearly as the interstitial <sup>3</sup>H-androgen concentrations increased from 10 nM to 2,000 nM, but in the caput epididymal tubules, the intraluminal <sup>3</sup>H-androgen concentration increased hyperbolically across the same range of peritubular <sup>3</sup>H-androgen concentration. Intraluminal <sup>3</sup>H-androgen concentrations in the caput epididymidis did not rise above approximately 340 nM even when the peritubular <sup>3</sup>H-androgen concentration exceeded 2,000 nM. Perfusion of caput tubules with 0.1 mM dinitrophenol or potassium cyanide or 100 μg/ml cyclohexamide significantly reduced the proluminal <sup>3</sup>H-androgen movement, but tubules perfused with control medium did not support antigrade <sup>3</sup>H-androgen movement in the absence of native lumen fluids which contain androgen-binding protein. Energy-requiring protein synthesis is necessary for antigrade <sup>3</sup>H-androgen movement in the caput epididymidis, but the mechanism for the interaction of intracellular protein(s) and <sup>3</sup>H-androgen movement remains undetermined.

(Acta Urol. Jpn. 41: 119-125, 1995)

**Key words:** Transepithelial <sup>3</sup>H-androgen movement, Testis, Epididymis, Androgen-binding protein, Intracellular protein synthesis

#### 緒 言

哺乳類の精巣および精巣上体は造精機能や精子の成熟性にとって重要な環境を作りだし維持している<sup>1,2)</sup>。なかでもアンドロゲンは造精機能の調節<sup>1)</sup>や精巣上体における代謝や分泌<sup>2)</sup>を制御する上で欠くことのできないものである。ラット精巣上体頭部管内液中におけるテストステロンおよびダイヒドロテストステロン(DHT)濃度は、周囲組織や血清中よりもはるかに高濃度に維持されている<sup>3)</sup>。そこでわれわれは精細管および精巣上体管内へのアンドロゲン移行を調べる目的で新しいシステムである *in vivo* 微小穿刺法と微小灌流法を考案した<sup>4)</sup>。トリチウムテストステロンを精細管周囲で灌流すると周囲組織のわずかに15~20%程度のアンドロゲンが管内へ移行するに過ぎないが<sup>4)</sup>、精巣上体頭部周囲で灌流した場合には200~300%のア

ンドロゲンが管内へ移行することが判明した<sup>4)</sup>。

Turner らは精巣上体頭部におけるトリチウムテストステロンの管内への移行はアイソトープで標識しないテストステロンにより競合的阻害を受けることを *in vitro* の実験で明らかにしているが<sup>5)</sup>、このことはアンドロゲンの管内移行のメカニズムを探る上でアンドロゲン結合蛋白 (androgen binding protein) (ABP) が重要な役割を果たしていることを意味しているといえる。

ABP はセルトリ細胞で分泌され<sup>6)</sup> 精巣上体に運ばれた後、頭部において濃縮され、その温度はテストステロンや DHT とほぼ同じである<sup>3)</sup>。さらに下垂体摘除後に精巣上体頭部における ABP 濃度が著しく低下することなどから<sup>6)</sup> われわれは下垂体摘除ラットを用いて FSH を抑制しその標的細胞であるセルトリ細胞より分泌される ABP を低下させることにより精

精巣上体頭部におけるアンドロゲン移行が有意に抑制されることを示し、さらに FSH を投与することによりこの値が正常に復することを示した<sup>7)</sup>。

以上よりわれわれは、精巣上体間質中のアンドロゲンは、管内 ABP と結合することにより間質から管内へ移行するという仮説をたてた。最近この仮説を支持する報告として、Turner らは、精製した ABP で精巣上体管内を灌流することによりアンドロゲン移行が増大したことを *in vitro* の実験で示している<sup>8)</sup>。

本研究においては、精巣および精巣上体における経上皮性アンドロゲン移行の違いについて検証を進めるとともに、精巣上体における著しく増大した管内アンドロゲン移行に、ABP 以外の因子として能動輸送が関与するか否かを微量穿刺法を用いて明らかにすることを試みた。

## 対象と方法

### ラット

Sprague-Dawley 雄ラット (450~670 g) を購入し 22°C に維持した飼育室で12時間サイクルの照明、50%の湿度の条件のもとで食事と水を自由に与えて飼育した。ラットは、少なくとも1週間は飼育環境に順応させてから、実験に供した。

### アイソトープ

<sup>3</sup>H-テストステロン (specific activity: 52.2 Ci/mM) および <sup>14</sup>C-ポリエチレングリコール (<sup>14</sup>C-PEG) (specific activity: 15.0 mCi/g) を購入した。

### 微量灌流法と微量穿刺法

ラットをサイオバルビツレート (100 mg/kg 体重) で麻酔した後、動物固定台に乗せ陰のう部を切開した後、精巣と精巣上体を取り出し testicle holder 内に2%の寒天液で固定した。これらを 35°C で保温した。100マイクロンのピペットを、実験対象が精巣である場合は精巣被膜の、対象が精巣上体である場合は、精巣上体被膜の直下に位置させて精細管あるいは精巣上体管周囲を1時間灌流した。灌流液はリサミングリーンで染色した minimum essential medium に <sup>3</sup>H-テストステロンと <sup>14</sup>C-PEG を加えたものを用いた。<sup>14</sup>C-PEG は分子量が大きいため、血液精巣上体関門を通過できない。従って採取した管内液内で測定される <sup>14</sup>C-PEG は管内液採取の際に、間質液あるいは血液とともに混入したものであり、サンプルの汚染度を示す指標となる。灌流液中へは、実験の種類に応じて代謝阻害剤や蛋白合成阻害剤を加えた。初期灌流速度や維持灌流速度については、過去に発表したわれわれの論文の方法に従った<sup>9)</sup>。灌流開始1時間後に

管内液と間質液を採取した<sup>9)</sup>。採取したサンプルは 50 nL ずつ三つの小サンプルに分けた後、その放射活性を scintillation spectrophotometry で測定した。管内へのアンドロゲン移行の程度は管内液の放射活性を間質液の放射活性で除した百分率として示した。

### 飽和実験

灌流液に加える <sup>3</sup>H-テストステロンとして以下の5種類の濃度のものを用意した。すなわち 13.3, 26.7, 53.3, 106.7, 213.4 マイクロ Ci/ml である。灌流に用いる原液中のテストステロン濃度が以上のような値であると、灌流1時間後の間質中には約 10~2000 nM の <sup>3</sup>H-アンドロゲンが存在することとなる。過去のわれわれの実験から灌流開始1時間後には管内液と間質液はほぼ平衡に達することが示されている<sup>9)</sup>従って5種類の濃度の灌流液で精細管および精巣上体管を灌流後1時間目に間質液と管内液を採取しアンドロゲン移行を調べた。

<sup>3</sup>H-テストステロンを間質組織中で灌流すると様々なアンドロゲンに変化するため<sup>9)</sup>、以後の記述は <sup>3</sup>H-アンドロゲンと書くこととする。

管内液と間質液の <sup>3</sup>H-アンドロゲン濃度は灌流開始1時間後に測定した。管内液中および間質液中のアンドロゲン濃度の regression analysis は linear ( $Y=A+BX$ ), rectangular hyperbolic [ $Y=AX/(B+X)$ ], double rectangular hyperbolic [ $Y=AX/(B+X)+EX$ ] のいずれの曲線が最も適合するかを計算した上で決定した。

### 代謝阻害実験

精巣上体頭部を 240 nM の <sup>3</sup>H-テストステロン単独あるいは同濃度の <sup>3</sup>H-テストステロンと 0.1 mM の dinitrophenol (DNP) あるいは 0.1 mM の potassium cyanide (KCN) を混じた灌流液で灌流し1時間後に間質液と管内液を採取しアンドロゲン移行を調べた。

代謝阻害剤を混じた灌流液で灌流後の精巣上体頭部組織の ATP 濃度を調べるために、切除した組織をドライアイスで凍結後、0.9 N HClO<sub>4</sub> でホモゲナイズした後、遠心分離した。上清を 3M の K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> で中和した後 luciferin-luciferase 反応を用いて ATP を測定した。

### 蛋白合成阻害剤実験

精巣上体頭部を 240 nM の <sup>3</sup>H-テストステロンと 100 マイクロ g/ml の cyclohexamide (CHX) (蛋白合成阻害剤) を含む灌流液で灌流1時間後に間質液と管内液を採取しアンドロゲン移行を調べた。

### 管内灌流実験

Table 1. Concentrations of compounds used in perfusion fluids for the caput epididymis

Compound	Concentration (mM)
NaCl	100
KHCO <sub>3</sub>	25
Mannitol	80
Bovine Serum Albumin (mg/ml)	30
PIPES buffer	30

[mOsm] = 360, pH = 6.5

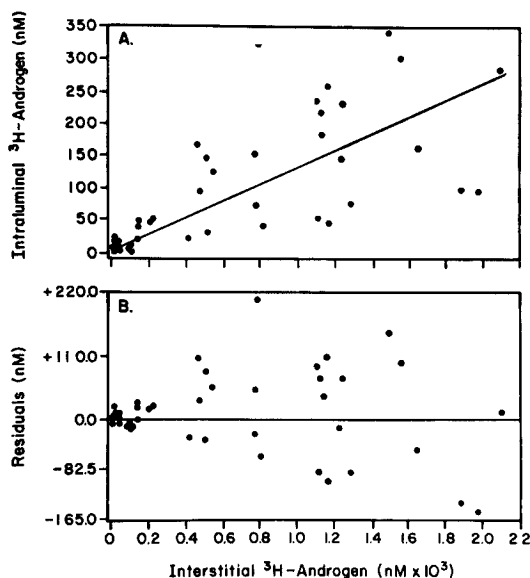


Fig. 1. Intraluminal <sup>3</sup>H-androgen concentrations in rat seminiferous tubules at various <sup>3</sup>H-androgen concentrations (10 nM-2,000 nM) in the testicular interstitium (n=42). (A) The intraluminal <sup>3</sup>H-androgen concentration increased linearly with increasing interstitial <sup>3</sup>H-androgen, but the intraluminal value averaged only 17.6% of the interstitial value at all concentrations. (B) Residual, or deviation of actual value from predicted value based on linear regression. Residual is randomly distributed around the predicted value line, illustrating the appropriateness of the linear regression model.

先端が70ミクロン程度の細い pipette を用いて精巣上体頭部の tubule を穿刺し, 225 nl/m の速度で30分灌流後, 管外灌流実験を行った. 管内灌流液としては, Table 1 に示すような組成の人工的に作成した精巣上体頭部の管内液 (artificial caput fluid) (ACF) を用いた. 管内灌流に引き続く管外灌流実験では先に述べたように 240 nM の <sup>3</sup>H-テストステロンを含む

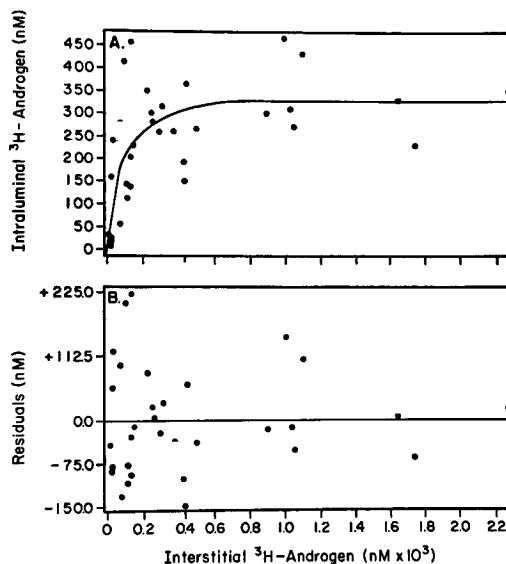


Fig. 2. Intraluminal <sup>3</sup>H-androgen concentration in rat caput epididymal tubules at various <sup>3</sup>H-androgen concentrations in the caput interstitium (n=33). (A) Intraluminal <sup>3</sup>H-androgen concentrations increased hyperbolically with increasing interstitial <sup>3</sup>H-androgen concentrations. The mechanism responsible for pro-luminal movement plateaued at the calculated maximum capacity of 343 nM even though maximal interstitial values exceeded 2,200 nM <sup>3</sup>H-androgen. (B) Residuals are randomly distributed around the predicted value line, illustrating the appropriateness of the hyperbolic model.

灌流液で灌流後1時間目に間質液と管内液を採取しアンドロゲン移行を調べた.

データの分析および統計的検定法

Chauvenet の criterion を用いて著しくかけ離れた値は除外した後に統計処理を行った. 各グループ間の差に関する統計的な比較は Kruskal-Wallis test と Wilcoxon rank sum test を用いて行った. データはすべて平均値±SE で表した. P値が0.05以下を有意な差と判定した.

## 結 果

### 飽和実験

精細管の管内アンドロゲン濃度は, 間質液中のアンドロゲン濃度が増大するにつれて, 直線的に増大した ( $r=0.69$ ,  $p<0.05$ ) (Fig. 1A). 間質液中のアンドロゲン濃度が最大のとき (約 2,000 nM) の管内アンドロゲン濃度の値は, 約 280 nM であり決してプラトーに達することはなかった (Fig. 1A). 実測値と予測

## A. ATP CONCENTRATION IN THE CAPUT EPIDIDYMIDIS

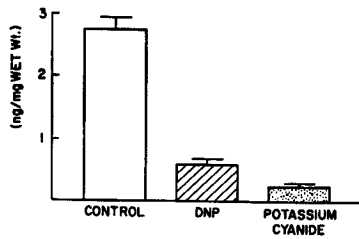
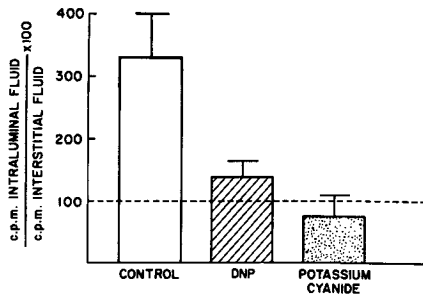
B. CAPUT EPIDIDYMIDAL <sup>3</sup>H-ANDROGEN MOVEMENT

Fig. 3. Effects of metabolic inhibitors DNP and potassium cyanide on (A) caput tissue ATP content and (B) antegrade proluminal <sup>3</sup>H-androgen movement. Perfusion of caput tubules with 0.1 mM DNP (n=20) and 0.1 mM potassium cyanide (n=13) for 1 h significantly decreased ( $p < 0.05$ ) tissue ATP concentrations relative to controls (n=23) (A) and eliminated proluminal <sup>3</sup>H-androgen movement at levels greater than those expected from diffusion alone (dashed line, B). Radioactivity was determined in triplicate 50-nl volumes of interstitial and intraluminal fluid.

値とがどの程度離れているかをプロットしその配列を調べてみると、ほぼ直線状になることより、精細管におけるアンドロゲン移行は linear uptake model で表すのが最適であることがわかった (Fig. 1B).

精巣上体頭部における、管内アンドロゲン濃度は Fig. 2A に示すように、rectangular hyperbolic regression [ $Y = AX/(B + X)$ ;  $A = 342.6$ ,  $B = 63.1$ ] カーブを予測モデルとした。実測値と予測値との差をプロットしその配列を調べてみると、ほぼ直線状になることより精巣上体頭部への管内アンドロゲン移行を示すカーブとしては、上記の予測モデルが最適であることが示された (Fig. 2B)。精巣上体頭部における、管内アンドロゲン濃度は、精細管におけるそれよりも、はるかに高い値を示していた ( $p < 0.05$ ) (Fig. 1A, 2A)。

代謝阻害実験

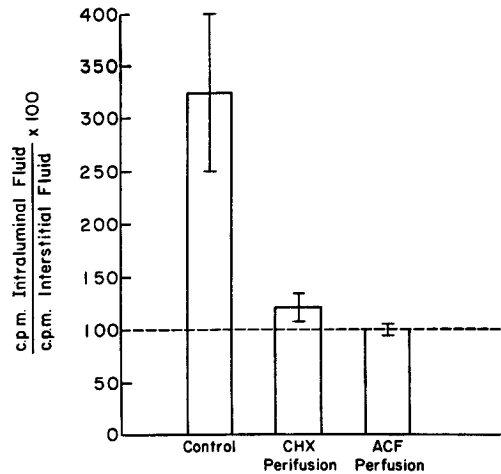


Fig. 4. Proluminal <sup>3</sup>H-androgen movement into caput epididymal lumen fluid after tubules are perfused in vivo for 1 h with fluid containing 240 mM <sup>3</sup>H-androgen. Control: tubules contained native lumen content (n=9). CHX perfusion: tubules contained native lumen fluid, but perfusion fluid contained <sup>3</sup>H-androgen + CHX (100  $\mu$ g/ml; n=13). ACF perfusion: tubules contained artificial caput fluid without ABP (n=6). CHX perfusion and ACF perfusion both significantly reduced ( $p < 0.05$ ) not proluminal <sup>3</sup>H-androgen movement. Sample volume was the same as in Figure 3.

精巣上体頭部を 240 nM の <sup>3</sup>H-テストステロンを含む液で灌流した結果、管内のアンドロゲン濃度は間質液中の約323.4 $\pm$ 73.2%にまで達することがわかった (Fig. 3B)。コントロールの組織中の ATP 濃度は 2.73 $\pm$ 0.2 ng/ml wet wt であった (Fig. 3A)。0.1 mM の DNP あるいは 0.1 mM の KCN を灌流液に加えると管内アンドロゲン移行も組織 ATP 濃度もともに有意に減少した (Fig. 3A,B)。

蛋白合成阻害剤実験

CHX を含む灌流液で 1 時間灌流後管内へのアンドロゲン移行は323.4 $\pm$ 73.2%から121.8 $\pm$ 13.0%へ有意に減少した (Fig. 4)。

管内灌流実験

ABP を含まない ACF で管内を灌流すると濃度勾配に抗したアンドロゲン移行は完全に抑制され、間質液中のアンドロゲンの100.2 $\pm$ 5.0%が管内に出現するにすぎなかった (Fig. 4)。

考 察

精巣間質液中には精細管よりもはるかに高濃度のテ

ストステロンが含まれていることは過去の何人かの研究者による実験によって明らかとなっている。Maddocks と Setchell は push-pull cannula テクニクを用いて精巣間質のテストステロン濃度を測定し、 $11.6 \pm 4.2$  ng/ml と報告している<sup>11)</sup>。Comhaire らは  $150 \pm 27$  ng/ml であると<sup>10)</sup>、Turner らは  $73 \pm 5$  ng/ml と報告している<sup>3)</sup>。いずれの報告にせよ、精巣間質中のテストステロン濃度は精細管内の濃度よりも高いことを示している。Turner らは血管内に投与した  $^3\text{H}$ -アンドロゲンの精細管内への移行が著しく低いことを示している<sup>12)</sup>。今回のわれわれの実験では精巣間質から精細管内へのアンドロゲンの移行は、間質中アンドロゲンの濃度が  $10$  nM $\sim$  $2,000$  nM と非常に広範囲にわたっているにもかかわらず、間質中アンドロゲンの約20%程度に過ぎないことが判明した。これらの文献のおよび実験の事実から、アンドロゲンは、血管内に投与された場合と同様に、間質液中に投与された場合も、精細管内への移行は著しく抑制されると結論づけることができる。このことが、精細管内のテストステロン濃度が精巣間質よりも低いという事実の裏付けとなっているものと思われる。なぜ精細管内へのアンドロゲン移行が抑制されているのかについては、現在のところ不明である。生理的状況下では、拍動性に分泌される LH および FSH に応じて間質細胞でのテストステロンも拍動性に産生分泌され、精細管内

へ移動し、ABP と結合して主に精子形成細胞に利用される。そのためテストステロンの消費が精巣上体管付近に比べて大きくなる。その結果として、精細管内腔のテストステロンの濃度が低下すると思われるが、本実験系においても同様の現象が生じたため精細管内へのアンドロゲン移行が抑制されたという仮説を提唱しておきたい。

精細管内のアンドロゲン濃度は、間質中のアンドロゲン濃度が増大するにつれて、直線的に増加するため、管内へのアンドロゲン移行は、拡散によるものと思われるが、精巣上体頭部におけるアンドロゲン移行は、精巣におけるそれとはまったく異なっている。管内アンドロゲン濃度は、間質中アンドロゲン濃度をはるかに超えて、最大で  $343$  nM にまで達し、以後プラトー状態となる。精巣上体頭部の管内アンドロゲン濃度は、精細管の管内アンドロゲン濃度よりも高い値を維持している (Fig. 1A, 2A)。

ラットの精巣上体頭部へのアンドロゲン移行を示すモデルとして最も適切なものは、直線状ではなく、 $Y = AX/(B+X)$  で表わされる hyperbolic タイプである。A は  $342.6$  nM を示し、この最大値の半分値に対応する間質内アンドロゲン濃度にあたるものが B 値 ( $63.1$  nM) であり、通常、速度として表わされる Km 値にあたるものである (Fig. 5)。この  $63.1$  nM という値は精巣上体頭部における血中のアンドロゲン

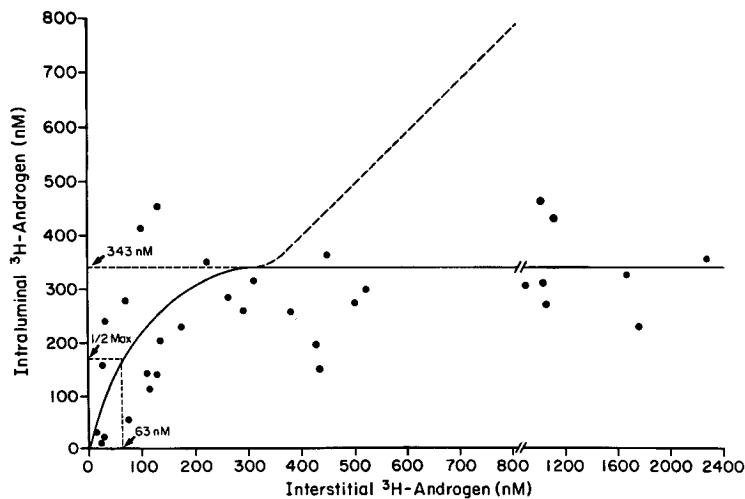


Fig. 5. Intraluminal  $^3\text{H}$ -androgen concentrations in the rat caput epididymis at various interstitial  $^3\text{H}$ -androgen concentrations. Calculated values for capacity ( $343$  nM) and affinity ( $63$  nM) are illustrated. The heavy broken line indicates the data expected if  $^3\text{H}$ -androgens appeared in the epididymal lumen by simple, free diffusion after saturation of all binding sites.

濃度である約 3 nM<sup>3)</sup> をはるかに超えた値であり、いかに精巣上体頭部の管内へ、多量のアンドロゲンが引き寄せられているかを示している。

Turner らの報告では、精巣上体頭部の管内の ABP の濃度は、約 270 nM であり<sup>3)</sup>、この値は今回のわれわれの実験で示された管内アンドロゲン濃度の飽和値ともいえる 343 nM (Fig. 5) に近似している。従って管内の ABP が、管内のアンドロゲン濃度を規定するという仮説を支持する結果とも考えられる。

Fig. 2 と 5 に示されるように、精巣上体頭部における経上皮性のアンドロゲン移行は、単純な拡散現象だけでは説明できない。もし拡散現象だけで管内へのアンドロゲン移行が行われるのであれば、管内のアンドロゲン濃度は、すべての ABP がアンドロゲンと結合し、飽和状態に達した後も、なお直線的に (Fig. 5 の点線で示されるように) 増え続けるはずである。しかし、どんなに灌流液中のアンドロゲン濃度が増大しても管内のアンドロゲン濃度は、プラトーに達したままでそれ以上増大することはなかった。このような実験データはアンドロゲンの輸送機構に能動輸送が関与する可能性を示唆しているともいえる。この結果は又、ステロイドは、細胞膜を拡散現象により通過するという原則にも反するものである。以上のような論拠に立って、能動輸送の存在を検証する目的で、代謝阻害剤による実験を行った。

もし、精巣上体頭部のアンドロゲン移行に能動輸送が関与するとすれば、能動輸送の際に欠かせない酸化リン酸化を阻害する薬剤を灌流液中に混ぜれば、アンドロゲン移行は抑制されるはずである。結果は、酸化リン酸化を阻害する薬剤である DNP あるいは KCN のいずれもアンドロゲン移行を有意に抑制した。DNP や KCN が、管内の ABP 濃度に影響をおよぼしその結果として、アンドロゲン移行が変化する可能性もあるが、代謝阻害剤は管内の ABP 濃度を変化させないことは、他の実験系でわれわれはすでに立証している<sup>13)</sup>。

ここで精巣上体頭部におけるアンドロゲン移行のメカニズムに関する二つの科学的な証拠が出揃ったことになる。一つは、管内の ABP 濃度が管内のアンドロゲン濃度を規定するという仮説を支持する証拠であり、いま一つは能動輸送の関与の可能性を示唆する証拠である。そこで、もし能動輸送が関与するのであれば、管内の ABP を取り去ってもなお濃度勾配に抗した積極的なアンドロゲン移行は維持されるはずである。なぜなら能動輸送はポンプとしての役割により、アンドロゲンを積極的に管内に送り込むはずだからで

ある。

しかし、ABP を含まない液で精巣上体頭部の管内を wash out した後、通常の管外灌流実験を行った結果、管内への up hill なアンドロゲン移行は完全に消失した。この実験結果から、能動輸送の可能性が消えたように思われるが、しかし管内 ABP が消失することにより、それに連動して能動輸送が抑制される可能性もあり、なお能動輸送は、管内へのアンドロゲン輸送のメカニズムの一つとして捨てざることはできない。

蛋白合成阻害剤であるサイクロヘキサマイドを含む灌流液で管外を灌流すると、アンドロゲン移行が抑制された実験結果から考えると、アンドロゲン移行のメカニズムとして連続的な細胞内蛋白合成過程も又重要な因子の一つと思われる。蛋白合成は、能動輸送と同様に細胞内のエネルギーを消費する代謝過程である。従って代謝阻害剤によるアンドロゲン移行の抑制は、代謝阻害剤によって細胞内の蛋白合成が阻害された結果生じた現象なのかもしれない。細胞内の蛋白が、上皮の管外側から管内側へのアンドロゲン移行にどのように関与しているのかは不明である。蛋白合成阻害剤は、細胞内のリセプター蛋白の輸送に関与する microtubules の構成を破壊する作用もあるため、アンドロゲン輸送に microtubules が関与する可能性も否定できない。さらには細胞内のアンドロゲンリセプターや、あるいは未知の輸送蛋白、さらには細胞内に内在する ABP などが経上皮性アンドロゲン移行にどのように関与しているのかを追及することが今後の研究課題となろう。しかしながら、今回の実験結果に基づいて推測するならば、確かに細胞内蛋白合成過程は、アンドロゲン移行のメカニズムの一つとして重要な因子に成りうると思われる。そして、アンドロゲンが細胞膜を通過して、一旦管内に入ると ABP と結合し、このことが管内アンドロゲン濃度を高値に保つ要因であることはほぼまちがいないと思われる。

## 文 献

- 1) Ewing LL, Davis JC and Zirkin BR: Regulation of testicular function: a spatial and temporal view. *Int Rev Physiol* 22: 41-115, 1986
- 2) Robaire B and Harmo L: Efferent ducts epididymis and vas deferens: structure, functions, and their regulation. In: *The Physiology of Reproduction*, vol. 1. Edited by Knobil E and Neil JD. pp. 999-1080, Raven Press, New York, 1988
- 3) Turner TT, Jones CE, Howards SS, et al.:

- On the androgen microenvironment of maturing spermatozoa. *Endocrinology* **115**: 1925-1932, 1984
- 4) Yamamoto M, Nagai T and Miyake K: Different mechanisms are involved in  $^3\text{H}$ -androgen uptake by the rat seminiferous and epididymal tubules in vivo. *Nagoya J Med Sci* **53**: 33-41, 1991
  - 5) Turner TT, Jones CE and Roddy MS: On the proluminal movement of  $^3\text{H}$ -androgen across the rat epididymal epithelium. *Biol Reprod* **41**: 143-152, 1989
  - 6) Gonsalus GL, Larrea F, Musto NA, et al.: Androgen binding protein as a marker for sertoli cell function. *J Steroid Biochem* **15**: 99-106, 1981
  - 7) Yamamoto M and Turner TT: Proluminal movement of  $^3\text{H}$ -androgen across the epididymal epithelium in the rat after hypophysectomy and gonadotropin supplementation *Biol Reprod* **41**: 474-479, 1989
  - 8) Turner TT and Roddy MS: Intraluminal androgen binding protein alters  $^3\text{H}$ -androgen uptake by rat epididymal tubules in vitro. *Biol Reprod* **43**: 414-419, 1990
  - 9) Worthington AG and Geffner J: *Treatment of Experimental Data*. pp. 76-80, John Wiley & Sons, New York, 1943
  - 10) Comhaire FH and Vermeulen A: Testosterone concentration in the fluids of seminiferous tubules, the interstitium, and the rete testis of the rat. *J Endocrinol* **70**: 229-235, 1976
  - 11) Maddocks S and Setchell BP: The composition of extracellular interstitial fluid collected with a push-pull cannula from the testes of adult rats. *J Physiol* **407**: 363-372, 1988
  - 12) Turner TT, Cochran RC and Howards SS: Transfer of steroids across the hamster blood-testis barrier and blood-epididymal barriers. *Biol Reprod* **25**: 342-348, 1981
  - 13) Yamamoto M, Tsuji Y and Miyake K: Evidence for active transport of  $^3\text{H}$ -androgens across the epididymal epithelium in the rat. *Nagoya J Med Sci* **56**: 111-121, 1993

(Received on August 12, 1994)  
(Accepted on October 7, 1994)