

男性不妊睾丸の 4^5 - 3β -Hydroxysteroid Dehydrogenase 活性にかんする研究

神戸大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 石神襄次教授)

守 殿 貞 夫

A STUDY OF 4^5 - 3β -HYDROXYSTEROID DEHYDROGENASE ACTIVITY IN THE HUMAN INFERTILE TESTES

Sadao KAMIDONO

*From the Department of Urology, School of Medicine, Kobe University
(Director: Prof. J. Ishigami, M. D.)*

For the purpose of endocrinological investigation of male infertility, 4^5 - 3β -hydroxysteroid dehydrogenase (3β -HSD) of Leydig cells was histochemically studied on the infertile testes.

- 1) All the control testes (13 testes) showed positive 3β -HSD activity, 11 of them being strongly positive.
- 2) In infertility patients, 10 of 92 cases showed negative 3β -HSD activity. They consisted of germ cell aplasia 3, spermatogenic arrest 2 and hypospermatogenesis 5.
- 3) In germ cell aplasia, 60.6% showed $++$ activity.
- 4) In oligozoospermia, only one of 39 cases showed $++$ activity. In azoospermia, 47.2% showed $++$ activity.
- 5) There was no correlation between size of the testis and activity of this enzyme.
- 6) Activity of this enzyme correlated well with the quantity of Leydig cells but did not always reflect their morphological findings.
- 7) Urinary gonadotropin level correlated well with 3β -HSD activity.
- 8) All the Klinefelter syndrome (3 cases) showed positive 3β -HSD activity, one being $++$ positive.
- 9) Urinary 17-KS and 17-OHCS correlated with 3β -HSD activity.
- 10) In infertile testes, 3β -HSD was stained better when pregnenolone was used as substrate than when DHA was used, contrarily to the normal testes. This suggests the impaired metabolism of DHA in the infertile testes.
- 11) It was concluded that 3β -HSD activity of the testes can be an index useful for choosing the treatment of infertile males.

結 言

睾丸は精子形成と男性ホルモン分泌をつかさどり、その機能の判定には精細管および間質の両面にわたっての検査が必要である。

男性不妊は睾丸における精子形成障害をはじめ精路通過障害、精液成分の異常などが主たる原因で、下垂

体性、睾丸性および副性器の先天性、後天性疾患が関与する。したがって、本症の診断は精液検査、睾丸生検、精路X線造影、精液の生化学的検査、尿・血中のホルモン測定などを施行し、これらの総体的判定により実体の把握につとめているのが現状である。なかでも睾丸生検は多くの症例で睾丸における精子形成異常

がみられることから、今なお確実な診断方法として賞用されている検査法である。しかし、今までの HE 染色による睾丸組織像の観察はどこまでも精子形成を主とする形態的なものである。精子形成機能は下垂体性の gonadotropin とくに FSH により刺激されることは古くから知られており、これにかんする定説的根拠は多い。さらに、間質 Leydig 細胞から分泌される各種の androgen も精子形成機能に促進的に作用する事実も報告されている。この意味で精細管、間質に対する機能的な検索が必要であるといえる。この点については、精細管における spermatogenic activity の判定としては最近 intratubular elements による scoring が標準化されつつあり、Leydig 細胞機能判定には Sudan 染色による好脂性、ketosteroid の染色法などが試みられ報告されている。1958 年 Wattenberg¹⁾ は androgen と密接に関係する 4α - 3β -hydroxysteroid dehydrogenase (以下 3β -HSD) の組織化学的検査を副腎、卵巣および睾丸などの内分泌臓器に施行し、 3β -HSD 活性は androgen 生成を具体的に標示するものであることを報告し、Levy ら²⁾、Rubin ら³⁾、Allen ら⁴⁾、Pearson ら⁵⁾ Tamate ら⁶⁾ および Mori ら⁷⁾ など多くの追試がある。とくにヒト睾丸にかんしては Jirasek ら⁸⁾ および Sengoku⁹⁾ らの報告がありいずれも Leydig 細胞に選択的に活性をみとめることが確かめられている。著者はこの 3β -HSD 染色を男性不妊症例の睾丸に応用してこれらの症例の Leydig 細胞の機能を観察し、睾丸組織像、精液所見、睾丸長径、尿中 total gonadotropin、尿中 17-KS、尿中 17-OHCS および sex chromatin test などとの関連性について検討をくわえた。さらにこの成績を参考に男性不妊のゴナドトロピン治療適応の選択をこころみ、みるべき結果をえたのであわせて報告する。

検討症例と検査方法

症例は1968年から1972年の間に神戸大学医学部附属病院泌尿器科を訪れた男性不妊患者のうち、無精子症53例、乏精子症39例および正常の睾丸組織像を呈したものの13例の計105例で、すべて内分泌学的治療施行前の患者である。なお明らかに両側精路通過障害および副性器障害によると思われるものは対象症例から除外した。

これら全症例に睾丸生検をおこない、3~4 mm 大の2つの組織片を採取、直ちに1つは Rahman ら¹⁰⁾の手技により卵白アルブミン包埋後、 3β -HSD の染色に、1つは Bouin 氏液で固定後 hematoxylin eosin

(以下 HE) 染色に供した。 3β -HSD の染色は Tamate 法に準じて^{2,6)}、卵白アルブミンで包埋した睾丸組織を -18°C のクリオスタット内で 15μ に細切し、5分間室温で乾燥した。その後、切片は内因性基質除去のため、室温で5分間 0.2M リン酸緩衝液中に、ついで遊離脂肪酸除去のため、 4°C アセトン中に浸漬した。それらを 37°C の孵卵器内で Table 1 にしめす基質反応液中で、2時間 incubate した。その後、染色切片は50%エタノールと10%ホルマリン混合液中に30

Table 1. Chemical composition of medium.

Steroid substrate	1 mg/5 ml acetone
Propylene glycol	1 ml
0.2M phosphate buffer pH 7.4	8 ml
Nitro-blue tetrazolium chloride	
0.1% aq sol	2 ml
NAD	6 mg/2 ml dist. water
Steroid substrate : Pregnenolone, Dehydroepiandrosterone (DHA)	

分間浸漬、固定後、グリセリンで封入して検鏡した。なお基質としては pregnenolone および dehydroepiandrosterone (以下 DHA) を用い、両者についてその染色度を検討した。

研究成績

1. 対照症例

男性不妊睾丸の Leydig 細胞における 3β -HSD の活性度と対比する目的で正常人13例を対照群として 3β -HSD 染色をおこなった。すなわち、19歳より37歳までの男子で、外性器に異常を認めず、生検睾丸の HE 染色にて正常の造精機能をしめし、間質細胞の状態も正常のものを対照とした。 3β -HSD 活性度の評価は Table 2 の下欄にしめすように4段階に分類し判定した。対照症例の睾丸 Leydig 細胞における 3β -HSD 活性度は Table 2 にしめすごとくで、基質が pregnenolone の場合は13例のうち活性度(卅)が4例(30.8%)、活性度(卅)が7例(53.8%)および活性度(+)が2例(7.7%)である。pregnenolone と DHA との基質のちがいによる Leydig 細胞の 3β -HSD 活性度の強弱は、症例3および8では pregnenolone、症例13では DHA を基質とする場合のほうが強い活性度をしめした。正常対照例の睾丸 Leydig 細胞における本酵素活性度は、全例に陽性所見としてみとめられた。基質による反応度の差異はすくなく、ほとんどの症例で陽性程度は符合したので以下、染色結果の成績は主として pregnenolone を用いたものにつ

Table 2. 3β -HSD activity of normo-spermatogenesis.

Case	Age	Pregnenolone	DHA
1	19	++	++
2	23	+++	+++
3	24	+++	++
4	24	++	++
5	25	+++	+++
6	26	+++	+++
7	27	++	++
8	28	++	+
9	29	+	+
10	31	++	++
11	32	++	++
12	34	+	+
13	37	++	+++

Estimation of 3β -HSD activity by staining deposition

- no demonstrable formazan deposit.
- +
- ++
- +++

いて記述し、DHA 基質の活性所見については有意の差をみとめたものについて、あとで別に記載した。

2. 組織学的にみた造精障害と Δ^5 - 3β -hydroxy-steroid dehydrogenase 活性

組織学的造精障害の型と 3β -HSD 活性度との関連性を検討する目的で、生検でえた 睾丸組織を直ちに Bouin 氏液で固定後、睾丸組織の HE 染色をおこなった。Nelson の分類に準じて^{11,12)} 造精機能障害を 1) germ cell aplasia (以下 GA), 2) spermatogenic arrest (SA), 3) hypospermatogenesis (HS) の 3 段階にわけ、それらの所見と 3β -HSD 活性度との関連性を検討した。各組織障害別に 3β -HSD 活性の染色所見を Fig. 1~12 にかかげた。Fig. 1~3 は GA の症例で Fig. 1 はその HE 染色像、Fig. 2 および 3 はそれぞれ pregnenolone および DHA を基質とする 3β -HSD 染色像をしめす。いずれも濃紫色の formazan 沈着をみとめ、活性度はともに (++) と判定したものである。Fig. 4~6 は SA の症例で、Fig. 4 はその HE 染色像、Fig. 5 および 6 は pregnenolone および DHA を基質としたもので、ともに活性度 (++) と判定した症例である。Fig. 7~9 は HS の症例で、Fig. 7 はその HE 染色像、Fig. 8 は pregnenolone、Fig. 9 は DHA を基質とする場合の 3β -HSD 染色所見をしめす。両標本ともに前群に比しやや薄く赤紫色の沈着をみとめ、活性度 (++) と判定

したものである。対照症例の 3β -HSD 染色度は Fig. 10~12 にしめすごとくで、Fig. 10 は HE 染色像で正常の造精機能をしめし、Fig. 11 および 12 はそれぞれ pregnenolone および DHA を基質とし、活性度はいずれも (++) と判定したものである。

男性不妊 92 症例の HE 染色像による造精機能障害型と 3β -HSD 活性度との関係は Table 3 にしめすごとくである。すなわち、GA 群では検討した 33 例中、 3β -HSD 活性度 (++) と判定されたものは 20 例で 60.6% をしめもっとも多く、活性度 (++) は 3 例、活性度 (+) は 7 例、活性度陰性例は 3 例であった。SA 群では 21 例中、活性度 (++) は 6 例で 28.6%、活性度 (++) は 8 例で 38.1%、活性度 (+) は 5 例で 23.8% とほぼ均等な陽性分布をしめし、活性度陰性例はわずかに 2 例、9.5% であった。HS 群では 38 例中 3β -HSD 活性度 (++) の症例はみられず、活性度 (++) が 38 例中 20 例で 52.6% と大半をしめ、もっとも多い。活性度 (+) は 13 例で 34.2%、活性度陰性例は 5 例で 13.2% であった。

以上の結果を対照群と比較すると、GA 群では 3β -HSD 活性度 (++) のものが圧倒的に多く、全体の 60% を占め対照群に比し約 2 倍を示し、活性度 (++) は対照群の 53.8% に比し 9.1% と著明に減少していた。対照群では活性度 (+) はわずかで 7.7% であったが、GA 群では多く 21.2% をしめる。また対照群の 3β -HSD 活性度陰性例はみられなかったが、GA 群では 3 例の活性度陰性例をみとめた。SA 群では 3β -HSD 活性度 (++) と判定したものは 6 例で対照群に比し差をみとめなかったが、活性度 (++) はわずかに減少し、活性度 (+) は GA 群と同様に SA 群でも 23.8% をしめ、対照群に比し多い。また活性度陰性例も 2 例にみとめられた。対照群で活性度 (++) と判定した症例

Table 3. Δ^5 - 3β -ol dehydrogenase and spermatogenic findings.

Spermatogenic findings	Control	GA	SA	HS
Δ^5 -activity	(%)	(%)	(%)	(%)
—		3 (9.1)	2 (9.5)	5 (13.2)
+	2 (7.7)	7 (21.2)	5 (23.8)	13 (34.2)
++	7 (53.8)	3 (9.1)	8 (38.1)	20 (52.6)
+++	4 (30.8)	20 (60.6)	6 (28.6)	
Total	13	33	21	38

GA: germ cell aplasia

SA: spermatogenic arrest

HS: hypospermatogenesis

Table 4. Δ^5 - 3β -ol dehydrogenase and sperm count.

Sperm count Δ^5 -activity	Control (%)	Azoospermia (%)	Oligozoospermia (%)
—		7(13.2)	3(7.7)
+	2(15.4)	9(17.0)	16(41.0)
++	7(53.8)	12(22.6)	19(48.7)
+++	4(30.8)	25(47.2)	1(2.6)
Total	13	53	39

は30.8%にみとめられたが、HS 群では活性度(++)は1例もみとめなかった。(++)は対照群で53.8%、HS 群でも52.6%と差はなかった。GA 群および SA 群と同様に HS 群でも活性度(+)は34.2%をみとめ対照群にくらべ多い。また活性度陰性例も他群に比し多く5例みとめた。

以上、GA 群、SA 群および HS 群においては対照群にくらべ 3β -HSD 活性度の低い症例が多い傾向がみられたが、例外的に GA 群の活性度(+++)の症例は対照群に比し60.6%と高率にみとめられた。

3. 精子数と Δ^5 - 3β -hydroxysteroid dehydrogenase 活性

精子数算定には白血球用メランジュールおよび Thoma-Zeiss の白血球算定盤を、希釈液としては Maconber-Saunders 液を用いた。症例は azoospermia (Azo) 53例および oligozoospermia (Oligo: 精子数 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下) 39例の計92例で、それらの 3β -HSD 活性度について検討した。これら精液所見と 3β -HSD 活性度の関係は Table 4 にしめすごとくである。Azo 群の 3β -HSD 活性度は53例中、活性度陰性例は7例(13.2%)、活性度(+)は9例(17.0%)および活性度(++)は12例(22.6%)であった。Azo 群では活性度(+++)はもっとも多く25例で47.2%をしめている。Oligo 群の 3β -HSD 活性度陰性例は39例中3例(7.7%)、活性度(+)および(++)はそれぞれ16例(41.0%)および19例(48.7%)で両者の計は Oligo 群の約90%をしめている。これに対し活性度(+++)は39例中わずかに1例(2.6%)にみられたのみである。

これらの結果を対照群の分布と比較すると、対照群では 3β -HSD 活性度陰性例はなく、(++)53.8%、(+++)30.8%合計 84.6%と大部分の症例は 3β -HSD 活性度が高いのに比し、不妊例では 3β -HSD 活性度陰性例が、Azo 群で7例、Oligo 群で3例と比較的多くみられた。活性度の低い(+)は対照群でも15.4%にみられたが、Azo 群では17.0%でほとんど差をみとめず、Oligo 群では39例中16例、41.0%と対照群に比し

著明に増加している。活性度(++)は対照群の53.8%に比し、Azo 群では22.6%と減少し差がみられた。Oligo 群では活性度(++)に関しては48.7%で対照群との間に有意の差をみとめない。対照群で活性度(++)および(+++)と判定したものは計84.6%をしめ、そのうち活性度(+++)は30.8%である。Azo 群では活性度の低いものも多くみとめたが、その反面、活性度(+++)と判定したものも対照群に比しやや多く47.2%をみとめた。Oligo 群では活性度(+++)はわずかに1例のみで、対照群に比しあきらかに少ない結果をえた。

4. 睪丸長径と Δ^5 - 3β -hydroxysteroid dehydrogenase 活性

睪丸の大きさと造精機能に関しては密接な相関があり、睪丸の大きさ(長径)と 3β -HSD 活性度との関連性を検討した。計測は睪丸の長径を陰囊皮膚上よりノギスで測定し、陰囊皮膚の厚さを減じて計測値とした。その結果は Table 5 にしめすとおりである。Azo 群で睪丸長径 3.5 cm 以下の症例は53例中34例と多く、

Table 5. 3β -HSD and dimension of testis. Azoospermia

Long axis (testis) 3β -HSD activity	≤ 3.5 cm (%)	> 3.5 cm (%)
—	4(11.8)	3(15.8)
+	5(14.7)	4(21.1)
++	5(14.7)	7(36.8)
+++	20(58.8)	5(26.3)
Total	34	19

Oligozoospermia

Long axis (testis) 3β -HSD activity	≤ 3.5 cm (%)	> 3.5 cm (%)
—	1(5.9)	2(9.1)
+	6(35.3)	10(45.5)
++	9(52.9)	10(45.5)
+++	1(5.9)	0(0)
Total	17	22

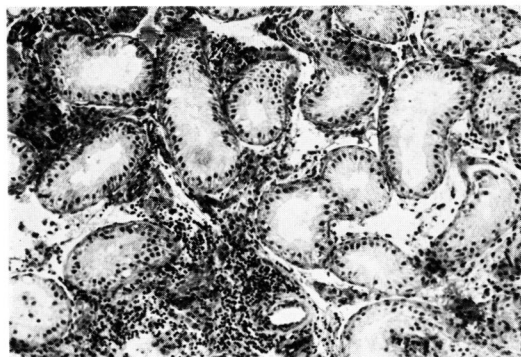


Fig. 1. Section of human infertile testis.
Germ cell aplasia (HE staining) $\times 100$.

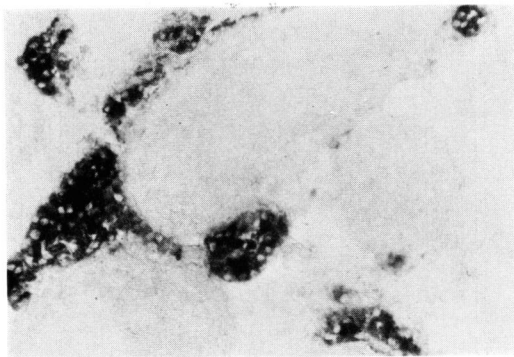


Fig. 2. Section of human infertile testis.
Formazan deposits indicating a strongly positive reaction (++) for 3β -HSD appear deep purple (Substrate: pregnenolone, HE staining: germ cell aplasia) $\times 200$.

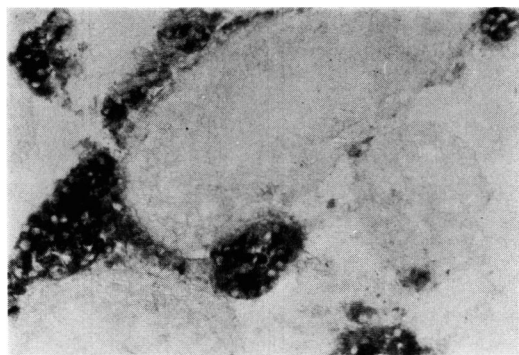


Fig. 3. Section of human infertile testis.
Formazan deposits indicating a strongly positive reaction (++) for 3β -HSD appear deep purple (Substrate: DHA, HE staining: germ cell aplasia) $\times 200$.

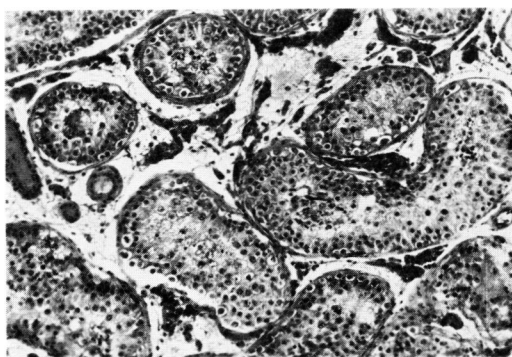


Fig. 4. Section of human infertile testis.
Spermatogenic arrest (HE staining) $\times 100$.

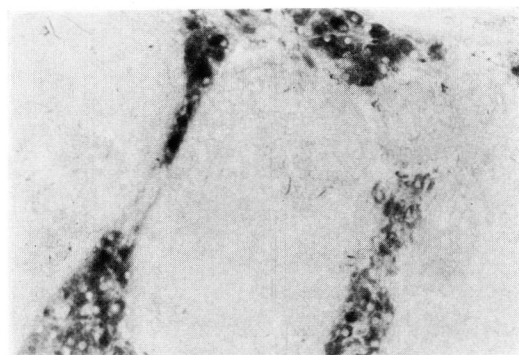


Fig. 5. Section of human infertile testis.
Formazan deposits indicating a strongly positive reaction (++) for 3β -HSD appear deep purple (Substrate: pregnenolone, HE staining: spermatogenic arrest) $\times 200$.

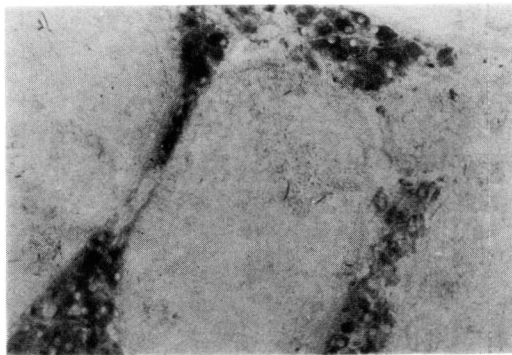


Fig. 6. Section of human infertile testis.
Formazan deposits indicating a strongly positive reaction (++) for 3β -HSD appear deep purple (Substrate: DHA, HE staining: spermatogenic arrest) $\times 200$.

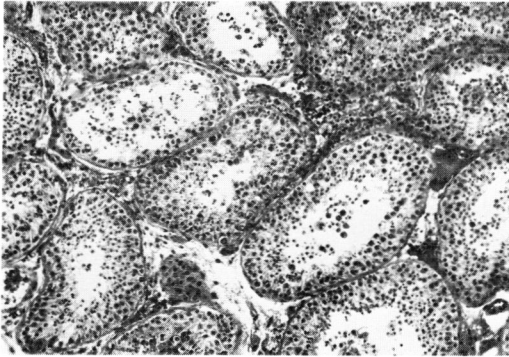


Fig. 7. Section of human infertile testis.
Hypospermatogenesis (HE staining) $\times 100$.

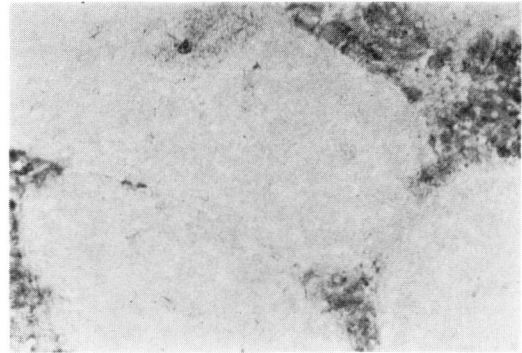


Fig. 8. Section of human infertile testis.
Formazan deposits indicating a positive reaction (++) for 3β -HSD appear red purple (Substrate: pregnenolone, HE staining: hypospermatogenesis) $\times 200$.

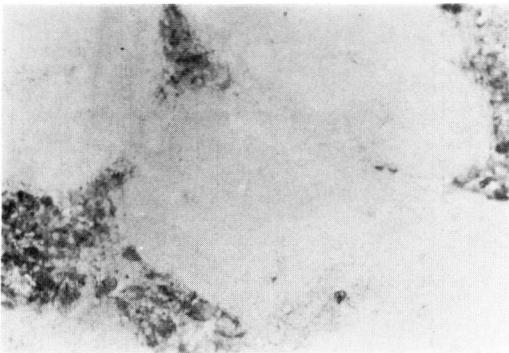


Fig. 9. Section of human infertile testis.
Formazan deposits indicating a positive reaction (++) for 3β -HSD appear red purple (Substrate: DHA, HE staining: hypospermatogenesis) $\times 200$.

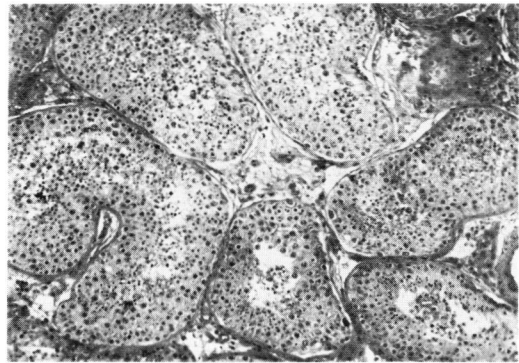


Fig. 10. Section of human testis.
Normospermatogenesis (HE staining) $\times 100$

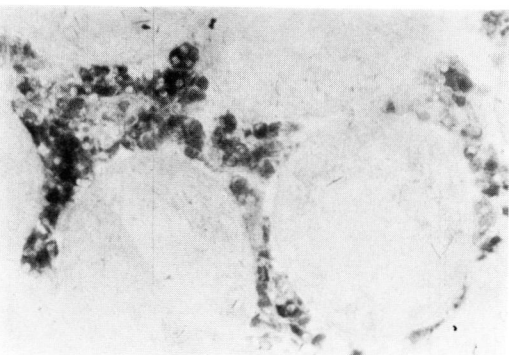


Fig. 11. Section of human testis.
Formazan deposits indicating a strongly positive reaction (+++) for 3β -HSD appear deep purple (Substrate: pregnenolone, HE staining: normospermatogenesis) $\times 200$.

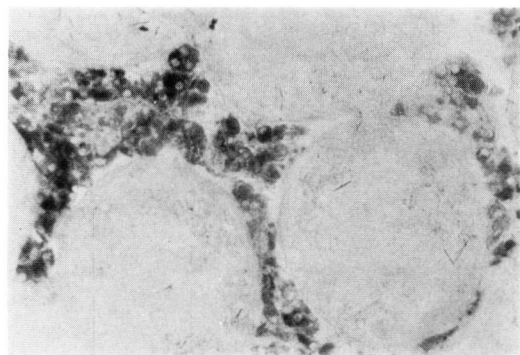


Fig. 12. Section of human testis.
Formazan deposits indicating a strongly positive reaction (+++) for 3β -HSD appear deep purple (Substrate: DHA, HS staining: normospermatogenesis) $\times 200$.

3 β -HSD 活性度(一)は4例(11.8%), (+) および (++) はそれぞれ5例(14.7%) で、活性度(++) は20例(58.8%) でもっとも多い。また Azo 群で睾丸長径が 3.5 cm より大きい症例は19例と前者に比しすくなく、そのうち活性度(一)は3例(15.8%), (+) は4例(21.1%), 活性度(++) は7例(36.8%) でもっとも多く、活性度(++) は5例(26.3%) であった。Oligo 群の睾丸長径 3.5 cm 以下の症例は39例中17例で、そのうち 3 β -HSD 活性度(一)は1例(5.9%) とすくなく、活性度(+) は6例(35.3%), 活性度(++) は9例(52.9%) でもっとも多く、活性度(++) は1例(5.9%) のみであった。Oligo 群で睾丸長径 3.5 cm より大きい症例は39例中22例で、そのうち 3 β -HSD 活性度(一)は2例(9.1%), 活性度(+) および (++) はともに10例(45.5%) で両者の計は91% で大半をしめている。これに対し、活性度(一) および (++) 例はすくなく、とくに (++) と判定したものはみられなかった。対照群はすべて 3.5 cm 以上の睾丸長径をもつ症例で 3 β -HSD 活性度は Table 4 にしめしたとおりである。

以上の結果を Table 4 の対照群と比較すると、対照群では活性度(一)例はみられなかったが、Azo および Oligo 群では睾丸の大きさにかかわらず、ほぼ均等に活性度(一)例がみられた。活性度(+) および (++) の症例もこれに準じて睾丸の大きさによる 3 β -HSD 活性に差異はみられなかったが、活性度(++) 例にかんしては、Azo 群で 3.5 cm 以下の症例で58.8% と高率にみられ、3.5 cm より大きい同症例は26.3% で対照群とほぼ同程度の頻度をしめた。Oligo 群では、対照群に比し活性度(++) 例は39例中、睾丸長径 3.5 cm 以下の1例にみられたのみである。

5. Leydig 細胞増減と Δ^5 -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase 活性

睾丸組織の HE 染色による Leydig 細胞 (LC) の増減と 3 β -HSD 活性度の関係を見るため、無精子症53例および乏精子症39例の計92例を対象とし、Leydig 細胞増加群、正常群および減少群の3群にわけて

3 β -HSD 活性度との関係を検討した。結果は Table 6 にしめすごとくで、LC 増加群25症例のうち活性度(一)は2例(8.0%), (+) は1例(4.0%), (++) は4例(16.0%) ですくなく、これに対し (++) は25症例中18例(72.0%) でもっとも多くみとめられた。LC 正常群では、26症例中活性度(一)は4例(15.4%), (+) は9例(34.6%), (++) は10例(38.5%), (++) は3例(11.5%) で、LC 正常群では (+) および (++) のものが多く両者で73.1%をしめている。

LC 減少群は41例で、そのうち活性度(一)は4例9.8%, (+) は15例(36.6%), (++) は17例(41.5%), (++) は5例(12.2%) であった。LC 減少群でも (+) および (++) は41例中32例(78.1%) と高率にみられた。総体的に LC 像が正常の対照群の 3 β -HSD 活性度は Table 4 にしめすとおりである。不妊症例の LC 正常群の活性状態を対照群のそれと比較すると、対照群では活性(一)例はないが、Azo および Oligo 群の LC 正常群では (一) 例が26症例のうち4例(15.4%) みられ、また対照群の (+) は2例(15.4%) に比し、Azo および Oligo 症例では (+) 例は9例(34.6%) で、Azo および Oligo 症例の (一) および (+) 例は対照群のそれらに比しあきらかに増加している。

このことは男性不妊症例では 3 β -HSD 活性度の低い症例が多いことをしめている。対照群の活性度(++) は7例(53.8%) で、Azo および Oligo の LC 正常群の (++) は26症例中10例(38.5%) とすくなく、また活性度(++) は対照群では(30.8%) で、これに対し不妊症の活性度(++) は26例中3例(11.5%) ですくない。すなわち、男性不妊症例の LC 正常群は対照群に比し 3 β -HSD 活性度の高い症例がすくないことをしめている。男性不妊症例の LC 増加群と LC 減少群の活性度を比較すると活性度(一)例はそれぞれ8.0%および9.8%で差をみとめない。活性度(+) は LC 増加群では4.0%であるに対し LC 減少群では36.6%と多く、(一) および (+) 例は LC 増加群で計12.0%であるのにくらべ、LC 減少群では

Table 6. Δ^5 -3 β -ol dehydrogenase and Leydig cells.

Leydig cells Δ^5 -activity	increased (%)	within normal limits (%)	decreased (%)
—	2(8.0)	4(15.4)	4(9.8)
+	1(4.0)	9(34.6)	15(36.6)
++	4(16.0)	10(38.5)	17(41.5)
+++	18(72.0)	3(11.5)	5(12.2)
Total	25	26	41

46.4%をしめ、LC 減少群で一般に 3β -HSD 活性度が低いことをしめしている。(++) は LC 増加群で 16.0%、LC 減少群で 41.5%であり、(+++) 例は LC 増加群で 72.0%、LC 減少群では 12.2%と明らかに逆転する。活性度(++) および(+++) 例の計は LC 増加群で 88.0%と多く、LC 減少群で 53.7%とすくない。すなわち LC 増加群のほうが 3β -HSD 活性度が高いことをしめしており、Leydig 細胞の増減と 3β -HSD 活性度との間にはかなり明確な相関がみとめられた。

6. 尿中 total gonadotropin (TG) と Δ^5 - 3β -hydroxysteroid dehydrogenase 活性

尿中 TG と 3β -HSD 活性度との関連性をみるため、乏精子症 1 例および無精子症 15 例を対象として松島¹³⁾ のカオリン吸着法により尿中 TG を測定し検討した。不妊 16 症例の尿中 TG 測定値を 3 群にわけ、それらと 3β -HSD 活性度との関係を Table 7 に示した。尿

Table 7. Δ^5 - 3β -ol dehydrogenase and urinary gonadotropin

Urinary G (muu)	<12(%)	12~24	>24(%)
Δ^5 -activity			
—	3(42.9)		1
+	2		
++	1	1	1
+++	1	2	4(66.7)
Total	7	3	6

中 TG 12 muu 以下の 7 症例(低下群)のうち、活性度(—)は 3 例(42.9%)、(+)は 2 例、(++) および(+++) はおのおの 1 例であった。尿中 TG が正常範囲内(正常群)のものは 3 例で、(++) が 1 例、(+++) が 2 例であった。尿中 TG が 24 muu 以上の症例は計 6 例(増加群)で、そのうち活性度(—) および(+) は各 1 例で、(+++) が多く 4 例(66.7%)にみられた。尿中 TG の値別に 3β -HSD 活性の分布をみたが、低下群では活性度(—) 例が 7 例中 3 例(42.9%)で比較的多く、(+) は 2 例(28.6%)、両者の計は 71.5%で低下群では 3β -HSD 活性度が低い症例が多い。尿中 TG 正常群 3 例はともに活性度(++) あるいは(+++) の反応をしめし、(—) 例はみられなかった。増加群では 3β -HSD 活性度の高い(++) および(+++) のものが 6 例中 5 例(83.3%)と大部分を占め、増加群の 3β -HSD 活性度は高いことをしめしている。増加群と低下群の両群における 3β -HSD 活性度はともに特徴ある傾向をしめた。

7. Sex chromatin と Δ^5 - 3β -hydroxysteroid dehydrogenase 活性

Sex chromatin test と 3β -HSD との関係をみるため、21 症例の不妊患者を対象として検討した。方法は口腔剝離粘膜と末梢静脈血の塗抹標本を作製し、チオニン使用液^{14,15)}とギムザ氏液で染色した。21 例中、sex chromatin (以下 SC) 陽性は 3 例で、SC 陰性は 18 例であった。それらと 3β -HSD 活性度の関係を Table 8 にしめす。SC 陰性 18 例中、活性度(—) は

Table 8. Δ^5 - 3β -ol dehydrogenase and sex chromatin.

Sex chromatin	—	+
Δ^5 -activity		
—	2	
+	4	1
++	6	1
+++	6	1
Total	18	3

2 例、(+) は 4 例、(++) および(+++) はともに 6 例であった。SC 陽性の 3 例中、 3β -HSD 活性度(+), (++) および(+++) はそれぞれ 1 例ずつで、活性度(—) 例はみられなかった。

8. 尿中 17-KS および 17-OHCS と Δ^5 - 3β -hydroxysteroid dehydrogenase 活性

3β -HSD 活性度と尿中 17-KS および 17-OHCS の関係を検討する目的で、9 症例の尿中 17-KS および 17-OHCS 値を測定した。17-KS の測定方法は Zimmermann-三宅変法により、17-OHCS は Porter-Silver 法により測定した。検討 9 症例のそれぞれの測定値と 3β -HSD 活性度を Table 9 にしめた。9 症例中、尿中 17-KS および 17-OHCS がともに低値をしめた症例は 4 例(症例 1~4)で、そのうち活性度(—) は 2 例、(+) が 1 例および(++) が 1 例

Table 9. Δ^5 - 3β -ol dehydrogenase and urinary 17-KS, 17-OHCS.

Case	Δ^5 -activity	17-KS mg/day	17-OHCS mg/day
1	—	0.65	2.7
2	—	0.50	2.2
3	+	2.5	5.0
4	++	4.3	2.4
5	++	5.7	10.4
6	++	3.6	10.0
7	+++	10.1	21.9
8	+++	10.6	18.7
9	+++	12.2	20.1

であった。症例5と6は尿中 17-KS 値のみが低値をしめし、17-OHCS 値は正常であり、活性度はそれぞれ(+)であった。症例7, 8および9は尿中 17-KS 値は正常で、17-OHCS が高値をしめした症例で、 3β -HSD 活性度は3例ともに(++)であった。尿中 17-KS および 17-OHCS と 3β -HSD 活性度の関係をのべたが、尿中 17-KS および OHCS 値が著明な低値をしめした2症例の活性度は陰性であり、測定値の上昇に伴い 3β -HSD 活性は高くなる傾向をしめした。

9. 基質の差異による 4β - 3β -hydroxysteroid dehydrogenase 活性について

3β -HSD 活性度の証明は、検査方法の項でのべた基質反応液による染色性で 3β -HSD 活性度の判定に供した。基質としては pregnenolone と DHA で良好な染色性がえられている。基質による 3β -HSD 染色性の差異をみる目的で、不妊92症例について pregnenolone および DHA の両者を基質としてその染色性を比較検討した。結果は Table 10 にしめすごとくで基質による染色性に若干の相違がみられた。すなわち Azo 群では、53症例のうち17症例で基質に pregnenolone を用いたほうが DHA の場合に比し 3β -HSD 活性度が強く、Oligo 群では39症例中16例において同様の結果をえた。この成績に対し DHA を基質とした場合の 3β -HSD 活性度のほうが強い症例は Azo 群および Oligo 群において、それぞれ2例および1例であきらかに少ない。pregnenolone と DHA で同程度の染色性をしめした症例は Azo 群では53例中34例(64.2%)、Oligo 群は39例中22例(56.4%)でいずれも過半数をしめた。ちなみに対照群では不妊群の場合に比し、その傾向はさらにつよく基質による染色性の差異はほとんどみられなかった。

10. 4β - 3β -hydroxysteroid dehydrogenase

活性を応用した男性不妊の治療

特発性男性不妊の治療法の一つとして内分泌療法がある。著者は本症の治療のすべてが内分泌学的見地から解決されるとは考えないが、現在おこなわれている内分泌療法は明確な治療指針にもとづいておこなわれているものではない。それゆえ、内分泌治療適応の指

針を見いだすため 3β -HSD 活性度を応用した本症の治療法をこころみた。すなわち、 3β -HSD の染色性が hormonal activity と密接に関係することを前提として、活性度の強弱により gonadotropin 療法を選択的に施行した。目的は従来の治療成績と、適応を定めた投与方法のそれと比較することにある。

治療症例はいずれも精子数 2000万/ml 以下の乏精子症例で、 3β -HSD 活性度分布は(++) 1例、(++) 10例および(+) 15例の合計26例である。 3β -HSD 活性度(+)の15症例には主として ICSH 作用を有する胎盤性ゴナドトロピン 2,000 IU を週2回、12週間連続投与し、症例により thyronamine を併用した。 3β -HSD 活性度(++) および(++)の症例には thyronamine, ATP あるいは arginine を6カ月ないし12カ月間投与した。比較の対象として、従来までの当教室における治療適応にもとづく乏精子症 166 例の治療を総括しこれと対比検討した。治療効果の判定は、精子数においては 1 ml あたり 4000 万以上の増加を著効(very good)、1000 万以上 4000 未満の増加を有効(good)、1000 万未満の増加、精子数に変化を認めない症例および精子数の減少を認めたものを無効(no effect)とした。精子運動率においては、著効は運動率50%以上の増加、有効は20%以上50%未満の増加、および無効は運動率20%未満の増加、運動率に変化をみとめない症例および減少した症例である。Table 11-1 および Table 11-2 にその治療成績を示した。 3β -HSD 活性度を応用した男性不妊治療成績は精子数にかんし gonadotropin 群では有効率 75%, G+T₃ 群では80%, ATP 群では75.0%および arginine 群で100%であった。精子運動率に関しては、G群の有効率60%, G+T₃ 群で71.4%であった。T₃, ATP および arginine 群はそれぞれ2~3例で症例数は少ないが有効率は50%, 66.7%および100%であった。

従来の男性不妊の治療成績は Table 11-2 のとおりで、精子数にかんし有効率はG群で64.3%, T₃ 群で23.8%, ATP 群で42.1%および arginine 群で47.2%であった。精子運動率に関しては、有効率はG群で41.7%, T₃ 群で30.8%, ATP 群で37.1%および

Table 10. 3β -HSD and substrate.

Sperm count	3β -HSD activity according to difference of substrate			Total
	Pregnenolone>DHA	DHA>Pregnenolone	Pregnenolone=DHA	
Azoospermia	17 (32.1%)	2	34 (64.2%)	53
Oligozoospermia	16 (41.0%)	1	22 (56.4%)	39
Control	2 (15.4%)	1	10 (76.9%)	13

Table 11-1. Therapeutic effect in male sterility with consideration of 4^5 - 3β -ol dehydrogenase findings.

—Sperm count—					
Drug	Very good	Good	No effect	% of effect	Total
Gonadotropin	1	5	2	75.0%	8
Gonad. + T_3	1	4	2	71.4	7
T_3	1	3	1	80.0	5
ATP		3	1	75.0	4
Arginine	1	1		100.0	2

—Motility—					
Drug	Very good	Good	No effect	% of effect	Total
Gonadotropin		3	2	60.0%	5
Gonad. + T_3		5	2	71.4	7
T_3		1	1	50.0	2
ATP	1	1	1	66.7	3
Arginine	1	1		100.0	2

Table 11-2. Therapeutic effect in male sterility (control).

—Sperm count—					
Drug	Very good	Good	No effect	% of effect	Total
Gonadotropin	8	1	5	64.3%	14
T_3	5	5	32	23.8	42
ATP	6	10	22	42.1	38
Arginine	26	8	38	47.2	72

—Motility—					
Drug	Very good	Good	No effect	% of effect	Total
Gonadotropin		5	7	41.7%	12
T_3	8	4	27	30.8	39
ATP	5	8	22	37.1	35
Arginine	16	11	29	48.2	56

arginine 群で48.2%であった。なお 3β -HSD 活性度による治療により現在まで26症例中2例に妊娠の成立をみた。結果的に本法を利用した男性不妊の治療効果は従来の治療法に比較して、投与せるすべての薬剤群においてその有効率は高く、効果的であったといえる。

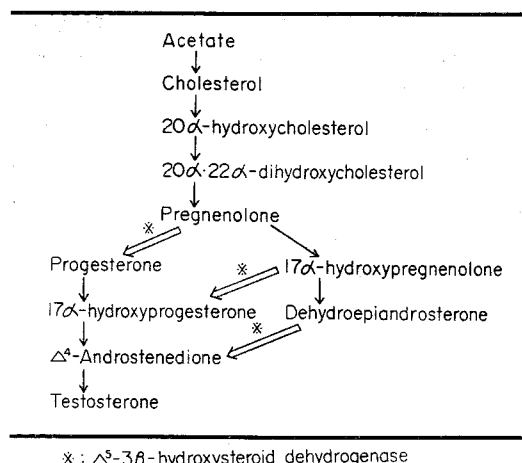
考 察

率丸機能検査としては、精細管および間質の両面にわたり組織学的あるいは機能的評価が必要であることは周知のことである。この検査は過去種々の方法が検討され報告されている。男性不妊の率丸においては、精液所見とともに従来ともすれば精細管にかたよった検査が施行されている傾向があるが、男性ホルモンの造精作用への影響に関する志田¹⁶⁾らの文献もあり、精

細管および間質細胞の病態を対比させて検討する必要があると考えられる。

精細管機能の判定には、HE 染色による造精所見、組織化学あるいは数的標示としての Johnsen (1970) による scoring method などが報告され、間質機能としての Leydig 細胞機能の検査には ketosteroid および Sudan III 染色などの主として組織化学的検索の結果が報告 (木島¹⁷⁾, 愛甲¹⁸⁾, Aschbel and Seligman^{19,20)} されている。間質 Leydig 細胞の機能的評価の直接的判定は非常に困難で種々の方法が試みられている。Leydig 細胞の数的あるいは形態学的観察は古くから Teem (1935), Tillinger (1955)²¹⁾, 落合(1958)²²⁾らによる詳細な報告があり、また率丸内分泌能証明の試みとして1850年 Leydig が率丸間質細

Table 12. Biosynthesis of the steroid hormones in the human testis.



胞内に脂質が存在することを証明していらい、Sudan 好性脂質の存在の意義づけに関し Heller and Nelson (1945) ら、本邦では木島¹⁷⁾、愛甲¹⁸⁾ らの報告があり、ketosteroid の直接的証明法として Dempsey ら²³⁾ (1943, 1948), Dempsey (1948)²⁴⁾、Deane and Greep (1946)²⁵⁾、Aschbel and Seligman^{19,20)} らの詳細な報告がある。しかしこれら証明法による反応は標本作製上の諸要因に影響され、また Leydig 細胞に特異的な反応でないこともあって、これら反応のうちあるものは androgen の動態を正確に標示する特異的な反応でないことが指摘され、最終的な androgen の証明法とはいいいがたいという考えがなされている (田所²⁶⁾, 1961; 岡野・前田, 1962)。

3β -HSD は男性ホルモンの生合成経路において (Table 12), Δ^5 - 3β が Δ^4 -3-ketosteroids になる過程において Δ^5 - Δ^4 isomerase と共同的にはたらく代表的な脱水素酵素であり、1958年 Wattenberg¹⁾ はウサギ、ラット、マウスおよびヒトにおいて、副腎皮質、卵巣、胎盤および睾丸の Leydig 細胞等に特異的な 3β -HSD の活性をみとめ、この組織化学的証明が同酵素の生化学的定量的結果とよく一致し男性ホルモン生合成の過程を標示することを報告した。その後、Levy ら (1959)²⁾ Baillie ら (1964~1966)^{27~34)}、Maier (1965)³⁵⁾、Deane ら (1965)³⁶⁾ および本邦でも仙石⁹⁾、玉手¹⁰⁾、森⁷⁾ により多くの追試がなされ 3β -HSD と androgen との関連性が確かめられ、Samuels ら^{37,38)} は 3β -HSD 活性の測定によりステロイドホルモン産生臓器のホルモン産生能を推測できることを暗示している。睾丸における 3β -HSD 活性は Leydig 細胞においてのみ認められることは確かで、著者は神戸大

学医学部泌尿器科における男性不妊症例に睾丸生検をおこない、睾丸の 3β -HSD の組織化学的活性度による間質 Leydig 細胞の機能を観察し他の諸要因と対比検討した。

著者の 3β -HSD 証明法は玉手¹⁰⁾ の方法に準じたもので、Wattenberg 法¹⁾ とまったく異なる点は組織片を Rahman ら¹⁰⁾ の方法により卵白包埋をおこなう点である。卵白包埋法は酵素活性が阻害されず、目的とする睾丸間質の構造を破壊することなく、また -20°C の冷室で組織保存が可能であるなどの利点がある。incubation time は報告者により 30 分ないし 120 分間と異なるが、副腎皮質、卵巣に比し睾丸間質の 3β -HSD 活性度は相対的に低いので、森⁷⁾ に準じて incubation time は 2 時間とした。Wattenberg¹⁾ は formazan deposit の程度により本酵素活性度を 6 段階に細分して判定しているが、著者は睾丸に関しては前述したように formazan deposit を (卅), (卅), (+), (一) の 4 段階にわけて判定をおこなった。

正常成人の睾丸間質における本酵素活性度の証明は Wattenberg¹⁾、Jirasek ら⁸⁾ および仙石⁹⁾ により報告されており、仙石は 3β -HSD 活性度の年齢による反応度のちがいを観察し、胎児、成人でその活性をみとめており、思春期前の Leydig 細胞ではその活性をみとめなかったと報告している。著者の対照 13 例はすべて 19 歳から 37 歳までの正常成人で睾丸間質における本酵素活性度は全症例にみとめられ、しかも (卅) および (卅) 例が 13 例中 11 例 (84.6%) をしめ、(+) が 2 例 (15.4%) で一般に本酵素は高い陽性所見をしめした。

不妊症睾丸の精細管障害と Leydig 細胞の数的増減にかんしては従来 2, 3 の報告があるが、著者は Leydig 細胞の本酵素活性と精細管障害の関係をみるため 92 症例の不妊睾丸について両者を対比検討した。精細管障害の組織的分類としては Nelson (1953) の分類がすぐれており、これに準じたが、障害型は無精子症および乏精子症につき便宜上 GA, SA および HS の 3 型に分類し Leydig 細胞機能との関係をみた。結果的に正常群では 3β -HSD 活性度陰性例をみとめないが、不妊群では GA 群で 3 例 (9.1%), SA 群で 2 例 (9.5%) および HS 群で 5 例 (13.2%) 合計 92 症例中 10 例 (10.9%) の活性度陰性例をみとめ、かつ本酵素活性度弱陽性例もこれら 3 群では対照群にくらべ明らかに増加している。このことは不妊症例では睾丸由来の androgen 生成過程になんらかの障害をみとめる症例が一般的に多いことを示唆し興味がある。これに反し GA 群では 3β -HSD 活性度 (卅) 例が

60.6%にみられ、対照群のそれを上まわった結果をえたが、症例により（一）から（Ⅲ）と分布しこのことは後述する Leydig 細胞数の増減、形態および質的な変化、下垂体との関連性などが考えられ検討の余地を残している。

精子数と 3β -HSD との関連性について、Jirasek and Raboch (1963)³⁸⁾ が hypospermatogenesis 症例および無精子症例の計12例についての染色をおこなっているが関連性については言及していない。著者は無精子症53例、乏精子症 ($20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下) 39例の計92症例について本酵素活性度を検索した。その結果、無精子症群で7例、乏精子症群で3例の本酵素活性度陰性例をみとめた。対照群では本酵素活性度（Ⅱ）および（Ⅲ）群が84.2%と大部分をしめているのに対し、乏精子症群では活性度強陽性例は51.3%と低く、とくに活性度（Ⅲ）は39例中1例のみであった。無精子症群は乏精子症群とは異なり、陰性例もみとめるが反対にかえって活性度（Ⅲ）例も47.2%と対照群よりも多くみとめられた。近年、radioimmunoassay 法などによる testosterone の定量がおこなわれており、それらのなかには造精障害患者を対象として一般に正常人に比し testosterone 値が低下する傾向があるとの報告もある。一方、 3β -HSD 活性は androgen 活性と平行するという諸家の報告もあり、これらの事実は矛盾するが、本酵素は最終的 androgen 生合成への中間過程に作用するもので、本酵素活性度が強陽性であってもそのことが直ちに androgen 活性を意味するとは考えるのは早計かもしれない。とくに無精子症では 3β -HSD 活性は（一）から（Ⅲ）まで広く分布し、症例による Leydig 細胞の数的変化もあって複雑である。しかし本酵素活性度が低い無精子症では androgen 活性の低下が予想され、不妊症に対する間質機能の障害を随伴すると考えるのは妥当であろう。

熊本³⁹⁾、市川ら⁴⁰⁾は睾丸の大きさ、硬度などを系統的に測定して造精機能との関連性を検討し、造精障害の程度に比例して睾丸の硬度は減少し、睾丸の容積および重量についても同様の傾向をみとめたことを報告している。間細胞の機能は睾丸の容量とは相関せず、2.5 g 以下の高度の萎縮例においてのみ androgen 活性の低下がみられるとのべている。著者は睾丸の大きさと本酵素活性度との関係を睾丸長径 3.5 cm を基準とし92症例について検討した。睾丸の大きさ別にみると不妊群においては、無精子症群で小睾丸が多く53例中34例 (64.2%) と多く、乏精子症群では39例中17例 (43.6%) で比較的すくなかった。 3β -HSD 活性との関係は活性度（Ⅱ）～（Ⅲ）例は Azo 群に多く 73.5

%で、Oligo 群でのそれは58.8%にみられ対照群に類似した。これに対し、3.5 cm 以上の正常サイズの睾丸では Azo 群の（Ⅱ）および（Ⅲ）例の計は63.1%、Oligo 群のそれが45.5%で、これと正常サイズの対照群の分布と比較すると対照群の（Ⅱ）および（Ⅲ）例84.6%に比し強陽性例数はいずれも若干減少している。結果として睾丸のサイズと 3β -HSD 活性との直接相関はなく、むしろ Azo 群の小睾丸においてのみ強陽性例が増加する傾向がみられた。この事実は、睾丸サイズは熊本らのいうごとく spermatogenic activity には相関があるが、Leydig 細胞機能とは精細管機能ほどの密接な関連はなく、不妊群においてはむしろ症例によりかなり特異な pattern をしめすものと解釈される。

Leydig 細胞機能判定の criteria については Tilling (1957)²¹⁾ や落合 (1958)²²⁾ の分類があり、熊本 (1963)³⁹⁾ はこれらを参考に Leydig 細胞の活動能を6段階にわけ検討をくわえている。いずれも Leydig 細胞の形態と細胞数によるもので、形態学的に未熟なものすなわち fibroblast-like のものは低 androgen 分泌であると示唆している。熊本は諸種の睾丸機能不全のうち、造精所見で GA 群では Leydig 細胞が増加し、SA 群および HS 群では Leydig 細胞数が減少する傾向があることを報告している。著者も不妊症例においては同様の傾向をみとめた。検討92症例について Leydig 細胞増加群、正常群および減少群の3段階にわけて Leydig 細胞数と 3β -HSD 活性 (Table 6) の関係を検索した。結果として、増加群では活性度（Ⅱ）および（Ⅲ）例が88%にみられたのに対し、正常群および減少群では（Ⅱ）および（Ⅲ）例は少なく、だいたい50%程度で対照群の84.6%に比しても減少している。こうした事実は Leydig 細胞の増減と 3β -HSD 活性にはかなりの相関があることをしめしている。しかし、Leydig 細胞増加群25例中2例に本酵素活性度陰性例があり、正常群 (26例) および減少群 (41例) においても、ともに陰性例を4例ずつみとめており、本酵素活性は Leydig 細胞の形態的検索とは必ずしも一致せず、機能推測の1つの手掛りとなると考えられ興味がある。事実、Jirasek ら³⁸⁾ は変性した Leydig 細胞では 3β -HSD 活性が低下していると報告しており、著者も単なる組織的形態のみで Leydig 細胞の androgen 分泌能を推定することはかなりの危険性があると考え、さらに明確な判定法の開発が期待される。

下垂体との関係について、Levyら (1959)²²⁾ は下垂体摘除後1～2カ月でラットの卵巢および副腎皮質に

において 3β -HSD 活性の低下をみとめ、また下垂体摘除後のラットに ACTH を投与し、本酵素活性の回復をみたことを報告している。Niemi ら^{41,42)} は下垂体摘除後睾丸の 3β -HSD は対照群に比し弱い反応をしめしたとのべている。睾丸が下垂体支配下にあることは周知の事実で、著者も尿中 gonadotropin 値と本酵素との関係を検討した。不妊群16症例の尿中 TG を測定、hypogonadotropic (hypo G 群)、normogonadotropic (normo G 群) および hypergonadotropic (hyper G 群) の3群にわけて検討したが、hypo G 群7症例のうち3例が 3β -HSD 活性度陰性であり、そのうち1例は Leydig 細胞正常群で、2例は軽度減少例であった。活性度(+)も2例にみとめ、hypo G 群は一般的に本酵素活性度低下例が多い傾向がみられた。対照的に尿中 TG が 24 muu より高い症例では活性度強陽性例を6例中4例みとめ、概して尿中 G 値と 3β -HSD 活性の間には positive な相関の傾向がみられた。しかし、例外的とはいえ hypo G 群で強陽性例を、反対に hyper G 群で陰性例をみとめたことは間脳・下垂体・性腺系にかんする feedback 現象がからみ、また検討した症例数も少なく画一的な結論はくだしえない。

1949年、Barr⁴³⁾ により発表された sex chromatin (以下 SC) test は genetic sex の判定に役立ち、さらに sex chromosome の検索へと発展した。男性不妊症の中にはとくに SC test 陽性とされる Klinefelter 症候群があり、本症では一般に Leydig 細胞も増加する特徴がある。著者は21症例について SC test を施行し、SC 陽性3症例をみとめこれらはすべて Klinefelter 症候群であった。3症例ともに本酵素活性をみとめ、1例は活性度強陽性例であった。Klinefelter 症候群の androgen assay では現今一般に低下の傾向があるとの報告が多いが、自験3例の Leydig 細胞 3β -HSD 活性は (+), (++) および (+++) 各1例ずつで、例数も少なくこのデータから androgen activity の判定は困難である。しかし Klinefelter 症候群では症例により増加せる Leydig 細胞の機能は一定の pattern をしめさず、機能的にかなり程度の差があるものと考えられ、さらに症例を集めて検討する余地が残されている。

尿中 17-KS 値は副腎性 androgen の影響も加わり、睾丸性 androgen 量のみを推測しうるものではない。しかし、その測定により睾丸の androgen 分泌能のいちおうの傾向を知ることは従来からの慣例で、著者も 3β -HSD との関連を検討した。尿中 17-KS 値の低い6症例中、本酵素活性度(++)は1例もみとめず、

著明な低値をしめした2症例の活性度は陰性であった。尿中 17-KS 値正常例ではそれぞれ活性度は(++)であった。このことは尿中 17-KS 値と 3β -HSD 活性度にも平行する関係があることをしめしている。9症例の尿中 17-KS 測定と同時に尿中 17-OHCS 値を測定したが、Table 9 のごとく尿中 17-KS 値とほぼ同様に 3β -HSD 活性との相関をみとめた。

以上述べた本酵素活性の成績はすべて基質として pregnenolone を使用したものである。基質の違いによる染色性について、Allen⁴⁴⁾、Levy ら²⁾ および玉手ら⁶⁾ は副腎皮質では両基質 (DHA および pregnenolone) による反応度に差をみとめなかったと報告し、また Levy らはラット睾丸で、Wattenberg¹⁾ はウサギの副腎で両基質を用い 3β -HSD 活性度をみて、pregnenolone に比し DHA のほうが本酵素反応度が高いと評価している。著者は92症例について pregnenolone および DHA 両基質による染色性を比較検討した。対照群ではほとんど基質のちがいによる本酵素活性度の差をみとめていない。しかし Azo 群で53例中17例 (32.1%) および Oligo 群で39例中16例 (41%) において pregnenolone を基質とした場合のほうが結果的に本酵素活性度が高く、一方 DHA を基質とした場合高い活性をしめした症例はきわめて少ない。著者がおこなった男性不妊睾丸においては、基質として pregnenolone を用いた場合良好な反応性を得たことは、睾丸のステロイドホルモン代謝過程を考慮した場合、pregnenolone が DHA よりさらに前段階のホルモンであることから、それら症例においては DHA の代謝になんらかの異常があるのではないかと考えられる。

男性不妊の治療法は定まったものではなく、とくに造精障害が原因であるいわゆる特発性男性不妊の治療はきわめて困難である。諸種の治療法がおこなわれているが、これらは臨床成績より経験的におこなわれており、明確な適応により治療されているものではない。gonadotropin も男性不妊の治療薬剤の一つとして使用されているが、その使用基準はせいぜい尿中 G 値を参考とする程度である。著者は前述したごとく本剤の使用基準を 3β -HSD 活性度に基づいて決定した。本剤と 3β -HSD の関係は Steinberger ら⁴⁴⁾ によると HCG 投与群と未処置群の未熟ラットの睾丸組織培養をおこない、未処置群では 3β -HSD 活性をみとめなかったが、処置群においては本酵素の強陽性反応をみとめたことを報告しており、Shikata ら⁴⁵⁾ は未熟ラットに5日間 HCG を投与し 3β -HSD を薄層クロマトグラフィー法で測定しその増量を報告し、Boucek

ら⁴⁶⁾, Samuels ら^{37,38)} および Inano ら⁴⁷⁾ も同様の報告をしている。本酵素活性度の低下した症例では、androgen 代謝になんらかの異常があると考え、本酵素活性の増強により androgen 代謝の改善をはかり、その結果造精作用の促進をはかる目的で ICSH 系の絨毛性 gonadotropin を投与した。その結果、精子数においては従来の治療適応によれば有効率は平均 41.5%であるが、本法の応用によれば平均有効率は 76.9%である。また精子運動率においても従来の有効率平均 40.1%に比し平均 68.4%と本法による治療成績は良好であった。すなわち、 β -HSD 活性を治療指針とし男性不妊の治療をこころみることは有意義なことと考える。

結 語

男性不妊研究の一端として、男性不妊率における内分泌能を検索する目的で Leydig 細胞の Δ^5 - β -hydroxysteroid dehydrogenase 活性を組織化学的に検討した。検討症例は正常率丸症例 13 例、不妊率丸症例 92 例の合計 105 症例で、本酵素活性の率丸機能に関する数項目について検討し次のごとき結果をえた。

1) 対照症例の β -HSD 活性は全症例で陽性を呈し、しかも強陽性例は 13 例中 11 例で 84.6%を占めた。

2) 不妊群では 92 症例中 10 例 (10.9%) に β -HSD 活性陰性例をみとめた。組織学的に germ cell aplasia 群 3 例, spermatogenic arrest 群 2 例および hypospertogenesis 群 5 例であった。これらの症例では率丸の androgen 活性の低下が予想され、不妊症の原因として間質の機能障害を随伴するものと推測される。

3) germ cell aplasia 群では β -HSD 活性度強陽性 (活性度卅) が比較的多く 60.6%で、対照群のそれを上まわった。

4) 乏精子症群では対照症例に比し、活性度強陽性例はすくなく、とくに活性度 (卅) 例は 39 例中 1 例のみであった。無精子症群は活性度陰性例もみとめるが、活性度の強い症例 (活性度卅) が 47.2%と対照群のそれをうわまわった。

5) 率丸のサイズと本酵素活性度との間には直接の相関はみられず、むしろ無精子症群の小率丸においてのみ強陽性例が増加する傾向がみられた。この事実、率丸サイズは精細管機能には相関があるが、Leydig 細胞機能とは密接な関連はなく、不妊群においてはむしろ症例により Leydig 細胞機能はかなり特異な pattern をしめすものと考えられる。

6) Leydig 細胞の増減と β -HSD 活性にはかなり

の相関があることが判明した。しかし、Leydig 細胞増加群および正常群において計 6 例の陰性例をみとめたことは、本酵素活性度は Leydig 細胞の形態的検索とは必ずしも一致せず、本法は Leydig 細胞機能の推測の 1 つの手掛りとなると考えられる。

7) 尿中 gonadotropin と β -HSD 活性の間には positive な相関の傾向がみられた。

8) 3 例の Klinefelter 症候群はすべて β -HSD 活性陽性で、1 例は強陽性を呈した。

9) 尿中 17-KS および 17-OHCS と β -HSD 活性との間にも相関関係をみとめた。

10) 一般的に、率丸における β -HSD 活性は基質によりその染色性に差をみとめ、基質が DHA のほうが pregnenolone より反応度が高いとされているが、著者がおこなった男性不妊群では pregnenolone のほうが良好な反応性を呈した。このことは不妊群では DHA の代謝になんらかの異常があるのではないかと推測される。

11) 特発性男性不妊の治療法選択の指針として、 β -HSD 活性度を採用し、本症の治療をこころみ、その結果良好な成績をみた。

稿を終るにあたり、ご指導ご校閲を賜った恩師石神襄次教授に心から感謝の意を捧げ、また本研究にご助言をいただいた当教室助教授齊藤宗吾博士および元当教室助教授の原信二博士に深謝します。また本研究にご協力いただいた当教室の諸先生に心から感謝いたします。

なお本論文の要旨は第 16 回日本内分泌学会西部部会総会および第 14 回日本不妊学会総会において発表した。

文 献

- 1) Wattenberg, L. W. : J. Histochem. Cytochem., **6** : 225, 1958.
- 2) Levy, H., Deane, H. W. and Rubin, B. L. : Endocrinol., **65** : 932, 1959.
- 3) Rubin, B. L., Deane, H. W. and Hamilton, J. A. : Endocrinol., **73** : 748, 1963.
- 4) Allen, J. : Anat. Rec., **137** : 57, 1960.
- 5) Pearson, B., Wolf, P., Grose, F. and Andrews, M. : Amer. J. Clin. Path., **41** : 256, 1964.
- 6) Tamate, H., Yamamoto, S. and Itikawa, O. : Tohoku J. Agr. Res., **16** : 175, 1966.
- 7) Mori, K., Tamate, H. and Imai, T. : Tohoku J. Agr. Res., **15** : 271, 1964.
- 8) Jirasek, J. E. and Roboch, J. : Fertility and Sterility, **14** : 237, 1963.
- 9) Sengoku, K. : Bull. Tokyo Med. Dent. Univ., **14** : 51, 1967.

- 10) Rahman, A. N. and Luttrell, C. N. : Bull. Johns Hopkins Hospital, **106**: 66, 1962.
- 11) Nelson, W. O. : J. A. M. A., **151**: 449, 1953.
- 12) 山本 治：泌尿紀要, **9**: 229, 1963.
- 13) 松島早苗：ホと臨, **10**: 101, 1962.
- 14) Klinger, H. P. and Ludwig, K. S. : Stain Technol., **32**: 235, 1957.
- 15) 沢沢喜守雄：外科, **25**: 817, 1963.
- 16) 志田圭三：ホと臨, **9**: 357, 1961.
- 17) 木島一英：日内分泌会誌, **30**: 665, 1955.
- 18) 愛甲矩義：鹿大医誌, **15**: 76, 1963.
- 19) Ashbel, R. and Seligman, A. M. : Endocrinol., **44**: 565, 1949.
- 20) Ashbel, R. and Seligman, A. M. : Endocrinol., **49**: 265, 1951.
- 21) Tillinger, K. G. : Acta Endocr. Suppl., **30**: 1, 1957.
- 22) 落合京一郎：日本泌尿器科全書 8 II, 金原出版, 1961.
- 23) Dempsey, E. W. and Basett, D. L. : Endocrinol., **33**: 384, 1943.
- 24) Dempsey, E. W. : Recent. Prog. Hormone Res., **3**: 127, 1948.
- 25) Deane, H. W. and Greep, R. O. : Amer. J. Anat., **79**: 117, 1946.
- 26) 田所作太郎：日内分泌会誌, **37**: 469, 1961.
- 27) Baillie, A. H., Niemi, M. and Ikonen, M. : Acta Endocrinol., **48**: 429, 1965.
- 28) Baillie, A. H., Cameron, E. H. D., Griffiths, K. and Hart, D. Mck. : J. Endocrinol., **31**: 227, 1965.
- 29) Baillie, A. H. and Griffiths, K. : J. Endocrinol., **29**: 9, 1964.
- 30) Baillie, A. H. and Griffiths, K. : J. Endocrinol., **31**: 63, 1964.
- 31) Baillie, A. H. and Griffiths, K. : J. Endocrinol., **31**: 207, 1965.
- 32) Baillie, A. H. : J. Anat., **99**: 507, 1965.
- 33) Baillie, A. H. and Mack, W. S. : J. Endocrinol., **35**: 239, 1966.
- 34) Baillie, A. H., Calman, K. C., Ferguson, M. M. and Hart, D. Mck. : J. Endocrinol., **34**: 1, 1966.
- 35) Maeir, D. M. : Endocrinol., **76**: 463, 1965.
- 36) Deane, H. W. and Rubin, B. L. : Anat. Microsc. Morph. exp., **54**: 49, 1965.
- 37) Samuels, L. T., Helmreich, M. L., Lasater, M. B. and Reich, H. : Science, **113**: 490, 1951.
- 38) Samuels, L. T. and Helmreich, M. : Endocrinol., **58**: 435, 1956.
- 39) 熊本悦明：日泌尿会誌, **54**: 1063, 1963.
- 40) 市川篤二・ほか：ホと臨, **11**: 129, 1963.
- 41) Niemi, M. and Ikonen, M. : Endocrinol., **70**: 167, 1962.
- 42) Niemi, M. and Ikonen, M. : Endocrinol., **72**: 443, 1963.
- 43) Barr, M. L. and Bertram, E. G. : Nature, **163**: 676, 1949.
- 44) Steinberger, E., Steinberger, A. and Vilar, O. : Endocrinol., **79**: 406, 1966.
- 45) Shikata, M. and Hall, P. F. : Biochem. Biophys. Acta, **136**: 484, 1967.
- 46) Boucek, R. J., Telegdy, G. and Sarad, K. : Acta Endocrinol., **54**: 295, 1967.
- 47) Inano, H. and Tamaoki, B. : Endocrinol., **77**: 579, 1966.

(1974年1月22日受付)