

特発性男子不妊症の精巣の形態学的研究

—Leydig 細胞の定量化およびその超微細構造について—

名古屋大学医学部泌尿器科学教室 (主任 : 三宅弘治教授)

橋本 純一, 山本 雅憲, 三宅 弘治

名古屋大学医学部第2解剖学教室 (主任 : 星野 洸教授)

星 野 洸

A MORPHOLOGICAL STUDY ON THE TESTIS OF THE PATIENTS WITH IDIOPATHIC MALE INFERTILITY

—QUANTIFICATION AND ULTRASTRUCTURE OF LEYDIG CELLS—

Junichi HASHIMOTO, Masanori YAMAMOTO and Koji MIYAKE

From the Department of Urology, Nagoya University School of Medicine

(Director: Prof. K. Miyake)

Takeshi HOSHINO

From the Department of Anatomy, Nagoya University School of Medicine

(Director: Prof. T. Hoshino)

Testicular biopsy was performed on 51 patients with idiopathic male infertility and 13 normal fertile adults. The biopsied specimens were examined by light and electron microscopy.

A quantitative evaluation of Leydig cell number was made by determining the mean number of Leydig cells per one cross section of seminiferous tubule in the entire histologic section of each specimen, which was defined as "Leydig cell index"

In both oligospermic and azospermic groups, the Leydig cell index was significantly elevated as compared with in that the normal group, which indicated the presence of Leydig cell hyperplasia in the infertile testis. In addition, this index significantly correlated with serum luteinizing hormone and follicle stimulating hormone levels but not with serum testosterone level.

Leydig cells were classified into three types based upon their morphological characteristics. Type I Leydig cells were functionally active and mature ones, with a smooth-surfaced round or oval nucleus, had abundant smooth endoplasmic reticulum (SER), characteristic mitochondria and relatively few lysosomes. Type II Leydig cells were functionally less active, and contained an irregularly shaped nucleus, less abundant SER, mitochondria with undeveloped cristae and relatively few lysosomes. Type III Leydig cells included immature and regressive cells, which were considered to have almost no hormone secreting function. The immature Leydig cells were spindle-shaped and had few cell organelles. The regressive cells had poorly developed SER and many secondary lysosomes in the cytoplasm. In the normal group, type I Leydig cells are the most numerous but in the infertile groups type II Leydig cells are the most numerous. However, in the latter, there is no significant difference in relative number of each Leydig cell type among the groups classified according to the number of sperm or Leydig cell.

In summary, Leydig cell hyperplasia observed in the testis of the infertile patients was supposed to be induced by the elevation of the serum LH. Despite of the significant increase in Leydig cell number, the serum testosterone was not elevated, and this was considered to be due to the fact that the hyperplastic cells are mainly composed of functionally less active type II Leydig cells. In addition, especially in the severe hyperplastic group, not only type II but also type I Leydig cells increased in number. However, in this group, the serum testosterone level was not elevated. Therefore, the function of type I Leydig cells was suggested to be impaired.

(Acta Urol. Jpn. 34: 1995-2011, 1988)

Key words: Infertility, Ultrastructure, Leydig cell

緒 言

従来、不妊症と言えはその原因を女性側に求めることが多かったが、内分泌学的あるいは病理組織学検査および染色体の検索などの診断法の発達により、男性側にもかなりの原因があることがわかってきた。その頻度は、欧米では40～50%、本邦では40～74.5%とされている¹⁾。男子不妊症の原因としては、多種多様のものがあるが、pre-testicular, testicular, post-testicular に分類すると理解しやすい。Wong ら²⁾は testicular の原因が全体の79.7%を占めると報告している。特発性男子不妊症とは、この testicular の原因のなかで、原因不明の造精機能障害のことで、男子不妊症の原因の大部分を占める。

精巣生検の歴史は意外に古く、1905年、Posner らが精巣穿刺法により無精子症患者に対して施行し、その後、Huhner ら、Weisman らにより追試されたが、この方法は危険であることに加えて、適切な組織標本が採取できないことなどから、陰囊部皮膚切開による手術的な方法にとって代わられた。この方法は、Charny³⁾ および Hotchkiss⁴⁾ により導入され、男子不妊症の診断および治療方針を立てる上で、また予後を推測する上で必要な検査法になっている。

ところで、以前より、特発性男子不妊症の組織学的特徴のうちの1つに、精巣間質の Leydig 細胞の増加が指摘されてきているが、その評価は主観的で定量的なものはみられない。また、radio immunoassay の発達により、血中ホルモンもかなりの精度をもって測定できるようになり、特発性男子不妊症においても、血中ホルモンの変動が報告されている。

そこで、特発性男子不妊症の精巣間質の Leydig 細胞の定量化を行い、精子数による比較あるいは血中ホルモン、精細管の障害程度との関係を調べ、また、透過型電子顕微鏡（以下、電顕と略す）を用いて、個々の Leydig 細胞の超微細構造を観察しその機能を検討したところ、興味ある知見を得たので報告する。

対象および方法

1984年4月より1986年3月までの間に、当科不妊外来を受診し、特発性男子不妊症と診断された患者のうち、評価可能な51名を対象とした (Table 1)。また、精管結紮術時に患者の承諾を得て、精巣生検を施行した13名をコントロールとした (Table 2)。

それぞれの患者につき、血中ホルモン (LH, FSH, テストステロン) の測定および精巣生検を施行した。

血中ホルモンの測定は、午後1時に肘静脈より採血

し北里ラボラトリーに依頼した。

精巣生検は、局所麻酔下に、Charny³⁾ の方法に準じて右側精巣について行い、組織を採取後、光顕用標本と電顕用標本に2分し、ただちに、光顕用標本はカルノア液に、電顕用標本は 0.15 mol カコシル酸緩衝液で3%に調整したグルタルアルデヒド (4°C) に移した。

光顕用標本の作製は以下の順序で施行した。カルノア液にて約5時間固定後、アルコール系列にて脱水、パラフィン包埋を施行し、ミクロトームにて 4 μm の厚さに薄切した。脱パラフィン後、HE (hematoxylin-eosin) 染色を施し、Leydig 細胞の定量を行った。

電顕用標本の作製は、以下のように、固定、脱水、包埋、薄切、染色の順で行った。

①固定：上記グルタルアルデヒドにて、2時間、前固定後、リン酸緩衝液 (0.1 mol, pH 7.2, 4°C) にて3回洗浄、このリン酸緩衝液にて2%に調整したオスミウム酸に移し、4°C で振盪しながら、後固定を2時間行なった。

②脱水：以下、室温で行った。30%、50%、70%、80%、90%、95%エタノールの順に組織を移し、それぞれにおいて30秒ないし2分間、脱水を行った。つぎに、無水エタノールにて5分間脱水、エタノールを変え、脱水を3回行った後、QY1 と無水エタノールを等量混合した液にて5分間、QY1 のみで15分間、QY1 を変え、さらに5分間浸した。

③包埋：あらかじめ調整してあったエポキシ樹脂と QY1 アルコールを等量混合した液に組織を移し、1時間振盪して組織にエポキシ樹脂を浸透させ、つぎに、エポキシ樹脂のみに組織を移し、37°C で1時間、65°C で18時間放置し、包埋を行った。なおエポキシ樹脂の調整は、DDSA: エポン812: MNA: DMP-30=99: 82: 19: 3 の割合で行った。

④薄切および染色：LKB 超ミクロトームにより薄切を行い、光顕用に厚さが約 1 μm の切片を、また、電顕用に切片の干渉色が銀灰色になる厚さの切片を作製した。光顕用の切片は、トルイジンブルーで染色して観察し、また、電顕用の切片は、酢酸ウラン、クエン酸鉛にて2重染色を施行、日立 H-500 型透過型電子顕微鏡にて観察した。

結 果

1) Leydig 細胞の定量化

Leydig 細胞の定量化は、Weiss ら⁵⁾の方法により、標本の全視野の Leydig 細胞数および精細管断面の

Table 1. Patients with idiopathic male infertility

Case No.	Sperm	LH (mIU/mL)	FSH (mIU/mL)	T (ng/dL)	Johnsen's score ⁶⁾	Leydig cell index	Relative number of each Leydig cell type (%)		
							type I	type II	type III
1	A	45.8	57.7	370	2.0	54.0	10	40	50
2	O	13.8	26.4	431	4.0	22.9	10	67	23
3	O	10.0	15.7	466	8.7	20.6	19	48	33
4	A	24.7	37.2	278	1.7	16.8	31	54	15
5	A	13.0	15.9	191	2.0	11.7	9	65	26
6	A	47.3	95.7	598	2.0	20.6	20	47	33
7	A	70.0	66.2	246	1.0	64.1	33	54	13
8	A	66.4	100.5	326	1.2	75.1	45	37	18
9	A	17.7	23.9	438	1.7	17.2	3	54	43
10	O	17.8	55.5	478	1.7	16.3	13	68	19
11	A	66.6	64.2	630	1.0	24.5	43	50	7
12	A	61.8	72.2	261	1.3	25.7	42	40	18
13	O	8.8	18.2	521	8.3	18.7	15	55	30
14	O	11.0	31.5	500	2.0	19.1	50	33	17
15	A	18.4	54.7	376	2.0	30.9	31	55	14
16	A	23.6	47.6	470	2.0	9.9	17	58	25
17	A	18.1	40.9	469	2.0	26.8	26	61	13
18	A	9.3	47.0	269	1.8	10.1	20	58	22
19	A	10.5	3.2	617	1.8	3.1	32	32	36
20	O	7.2	7.1	373	8.6	12.5	27	60	13
21	O	8.1	4.6	300	9.0	6.4	13	74	13
22	A	10.6	21.4	395	7.7	14.8			
23	O	13.7	27.3	377	7.2	27.7			
24	O	3.5	6.4	371	8.4	8.9	14	14	72
25	O	10.6	20.9	290	7.3	10.3			
26	A	21.8	12.2	594	5.1	8.3	22	45	33
27	A	12.8	12.8	435	2.0	23.7	13	51	36
28	O	20.0	24.0	758	5.8	13.3	36	36	28
29	O	20.0	25.1	643	6.4	22.4	34	55	11
30	O	19.9	22.9	345	7.1	10.4	35	49	16
31	A	8.1	7.2	300	8.6	5.1			
32	O	21.0	31.0	590	6.8	10.7	33	61	6
33	O	10.6	5.1	465	6.4	4.3			
34	O	13.2	9.7	750	7.9	18.1	16	49	35
35	O	27.2	16.6	597	2.0	14.4	32	45	23
36	O	32.7	23.0	405	8.0	4.1	37	50	13
37	A	31.5	25.0	290	2.0	17.6	10	30	60
38	O	17.0	11.0	408	5.7	11.5	11	78	11
39	A	38.5	38.1	282	1.7	11.7	38	51	11
40	O	25.7	29.2	321	2.0	23.0	61	36	3
41	O	24.6	30.8	432	3.4	16.2	42	45	13
42	O	10.2	8.4	482	7.7	19.1	39	51	10
43	O	19.1	25.5	337	8.4	21.4			
44	A	14.0	48.0	456	2.0	13.9			
45	O	29.6	26.1	821	8.3	19.6			
46	A	52.5	38.9	212	1.2	13.1			
47	O	35.7	33.5	699	4.9	15.7			
48	A	20.7	20.2	531	2.0	11.7			
49	A	22.5	27.3	521	2.0	6.9			
50	O	44.1	39.4	792	2.0	32.7			
51	A	86.6	81.7	689	3.4	28.1			

A : azoospermia, O : oligospermia, LH : serum luteinizing hormone, FSH : serum follicle stimulating hormone, T : serum testosterone

数を計測し、精細管断面1個あたりの平均の Leydig 細胞数を算出、これを Leydig cell index と定義し、この index により Leydig 細胞数を表した。

① 正常、乏精子症および無精子症各グループ別の Leydig cell index (Fig. 1)

平均値は、正常が7.3、乏精子症が16.2、無精子症が21.8であった。各グループ間の有意差検定は、Wilcoxon の順位和検定により行い、正常と乏精子症間、正常と無精子症間に1%以下の危険率で有意差を認めた。ただ、正常ではばらつきが小さかったが、無精子症では、比較的大きなばらつきを認めた。

② LH と Leydig cell index との関係 (Fig. 2)

相関係数が0.594 ($P < 0.01$) で有意の正の相関関係を認めた。

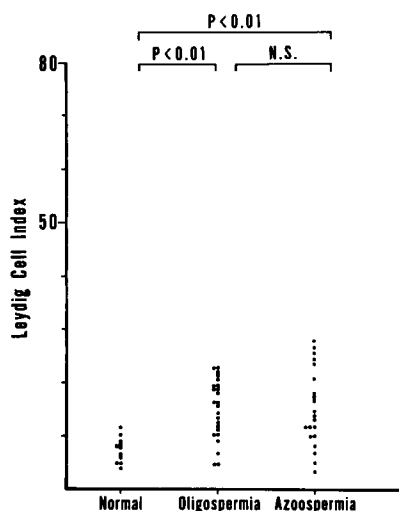


Fig. 1. Leydig cell indices in normal control, oligospermic and azoospermic groups. Significant difference is recognized between normal control and oligospermic or azoospermic groups.

③ FSH と Leydig cell index との関係 (Fig. 3)

相関係数が0.647 ($P < 0.01$) で有意の正の相関関係を認めた。

④ テストステロンと Leydig cell index との関係 (Fig. 4)

相関係数が-0.082で有意の相関関係は認められなかった。

⑤ Johnsen's score⁶⁾ と Leydig cell index との関係 (Fig. 5)

相関係数が-0.341 ($P < 0.05$) で有意の負の相関

Table 2. Normal controls

No.	Leydig cell index	Relative number of each Leydig cell type (%)		
		type I	type II	type III
1	7.6			
2	9.0			
3	3.7			
4	4.7			
5	6.7			
6	5.9	50	30	20
7	10.2			
8	8.5	50	33	17
9	11.6	64	18	18
10	4.8	70	15	15
11	8.0			
12		75	13	12
13		66	31	3

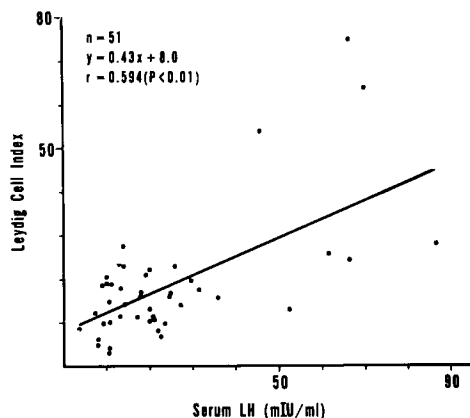


Fig. 2. Correlation between serum LH level and Leydig cell index. Leydig cell index significantly correlates with serum LH level.

関係を認めた。

2) Leydig 細胞の超微細構造

① Leydig 細胞の分類

Leydig 細胞をその細胞が持つ機能により分類するため、まず、その細胞が含む滑面小胞体 (以下、SER と略す) の量により分類することを試みた。以下、type I を SER の発達が良好な細胞、type II を SER の発達が中等度の細胞、type III を SER の発達が悪い細胞とする。

i) 正常精巣

type I (Fig. 6) 細胞の形は多角球形で、核は球

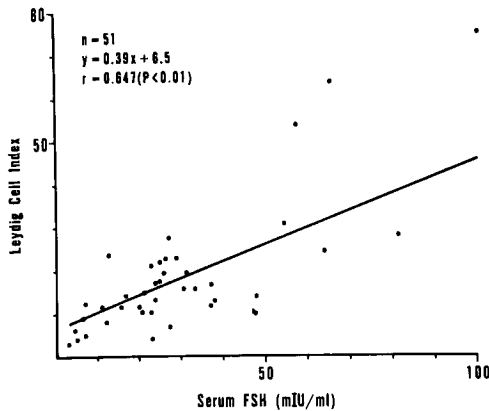


Fig. 3. Correlation between serum FSH level and Leydig cell index. Leydig cell index significantly correlates with serum FSH level.

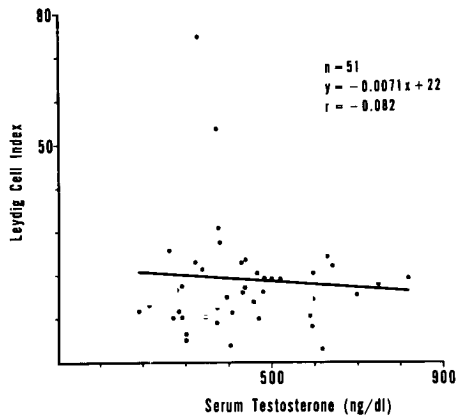


Fig. 4. Correlation between serum testosterone level and Leydig cell index. Leydig cell index reveals no significant correlation with serum testosterone level.

形あるいは楕円形, その表面は平滑で, ヘテロクロマチンが核質内で均一に疎に分布しているが, 特に核膜に沿って集積し, 1~2 個の明瞭な核小体を持つ。まれに, 2 核を持つ細胞もみられた。SER は細胞質全体に密に分布し, 管状あるいは小胞状を呈し, その径は比較的均一である。ミトコンドリアは, 細胞質中央あるいは核周囲に多く存在し, 形はさまざまで, 小さい。その基質は, やや高電子密度で, より電子密度の高い球形の顆粒を 1~2 個含む。クリステは, 層板状あるいは管状を呈する。ライソゾームは, 比較的少なく, 一次ライソゾームと二次ライソゾームが区別できた。一次ライソゾームは, 球形あるいは楕円形で, 時々陥凹を示すものもみられ, 一層の限界膜を持つ。その内部構造は, 微細顆粒状, 均一で, やや高電子密度

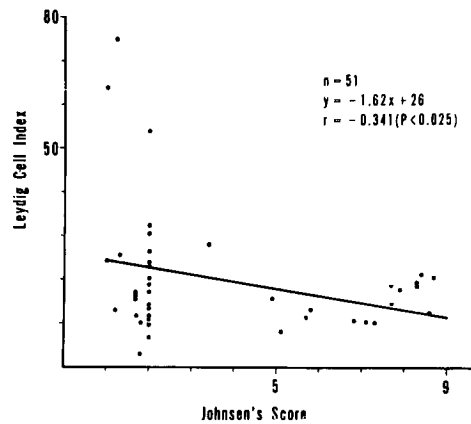
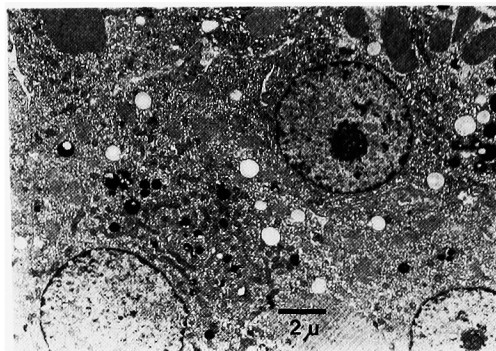


Fig. 5. Correlation between Johnson's score and Leydig cell index. Leydig cell index shows significant negative-relationship with Johnson's score.

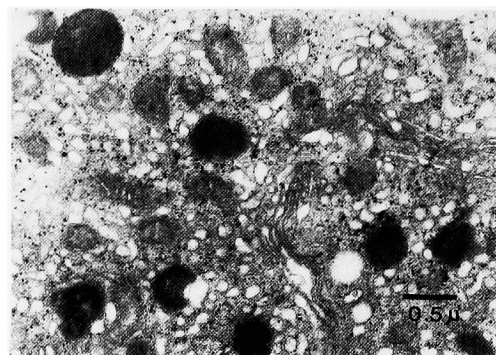
を呈する。二次ライソゾームは, 大きさ形はさまざまで, 空胞状の, あるいは高電子密度の粗大顆粒状の物質を含む。また, 一次ライソゾームの方が二次ライソゾームより多く存在した。ゴルジ装置は, 小型のものが時に観察されたが, 粗面小胞体 (以下, RER と略す) はまれにみられるのみであった。また, 脂肪滴は比較的少なく, free ribosome, グリコーゲン顆粒が細胞質全体に散在しているのが観察された。

type II (Fig. 7): type I 同様, 細胞の形は多角球形, 核は球形あるいは楕円形を呈するが, その表面は type I に比べ, やや凹凸不整である。ヘテロクロマチンの分布, 核小体については, type I と同様である。SER は, type I に比べ, 全体として疎になっているが, その形大きさは, type I と同様である。ミトコンドリアは, type I に比べややクリステの発達が悪いように思われた。ライソゾームは, type I 同様, 一次ライソゾームと二次ライソゾームに区別されたが, 前者より後者の割合が高くなっていた。ゴルジ装置, RER はまれにみられるのみで, また, 脂肪滴も比較的少なかったが, 時々, 細胞質全体に多数見られるものも存在した。

type III: 細胞の形が, 紡錘形の細胞 (Fig. 8) と多角球形の細胞がみられた。前者は, Leydig 細胞の未熟型に相当するものと考えられ, 核は伸展しその表面は不整, SER は細胞質にまばらに存在するのみで。その他の細胞内小器官の発達は非常に悪い。特徴的な所見として, 後藤ら⁷⁾も指摘しているように, 細胞質内に多数の微細線維がみられた。後者は, 退行変性をきたしつつある細胞と考えられ, SER は減少し, 細

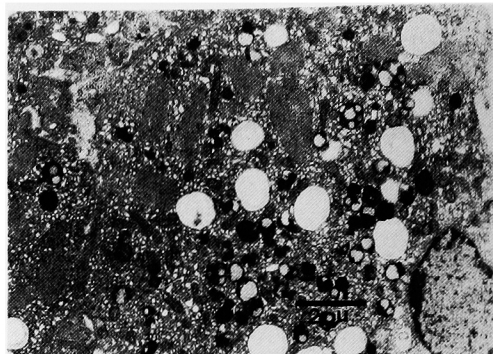


A

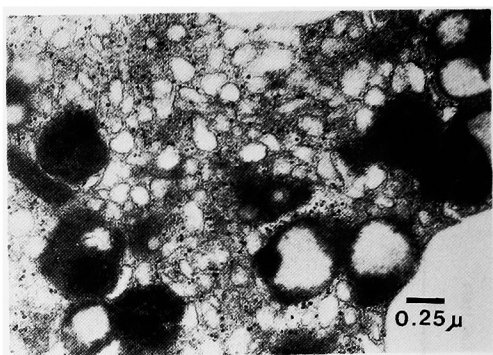


B

Fig. 6. Type I Leydig cells in normal testis. (from normal control No. 12) A: A low power view of type I Leydig cells. The cell is polygonal in shape and contains abundant cell organelles and a round nucleus, the surface of which is smooth. (original magnification $\times 2,500$) B: A high power view of a type I Leydig cell. The cytoplasm is filled with SER, and mitochondria are rather small, containing tubular or lamellar cristae. Lysosomes are characteristically those of the primary type. (original magnification $\times 15,000$)



A



B

Fig. 7. Type II Leydig cells of normal testis. (from normal control No. 12) A: A low power view. The surface of nucleus is irregular compared to that of the type I cell and SER develops more poorly. This cell contains relatively abundant lysosomes, lipid droplets and paracrystalline inclusions. (original magnification $\times 3,500$) B: A high power view. Most of the lysosomes are those of the secondary type and mitochondria include undeveloped cristae. (original magnification $\times 15,000$)

胞内小器官の数はさまざまであるが、老廃物を貪食したと考えられる二次ライソゾームが増加していた (Fig. 9)。

その他、結晶構造として、ラインケのクリスタル (Fig. 10)、類結晶 (Fig. 11) がみられた。類結晶は、Payer⁸⁾ の分類によると、type E が全例に認められた。各例において、type E 以外に、1～2種の類結晶が認められ、全体として、type A, B, D が確認できた。

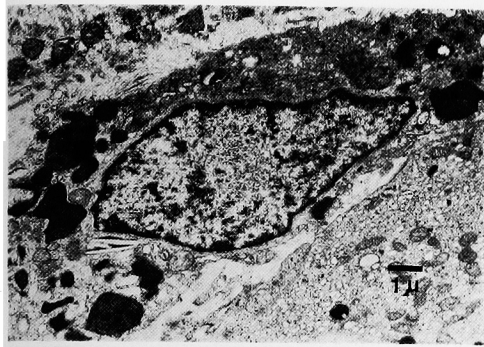
ii) 不妊精巣

type I (Fig. 12): 細胞の形、核、SER に関しては、正常精巣の type I と同様の傾向を示した。しか

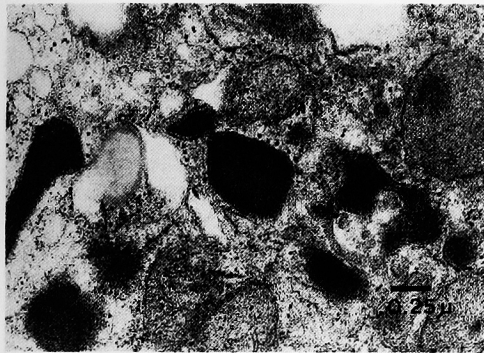
し、ミトコンドリアはクリスタが不明瞭で、基質が低電子密度の膨化したミトコンドリアが認められた。ライソゾームも正常精巣の type I 同様、一次ライソゾームと二次ライソゾームが認められ、その数は比較的少ないが、正常精巣の type I とは異なり、二次ライソゾームの方が多いように思われた。

type II (Fig. 13): 細胞の形、核、SER は、正常精巣の type II と同様の傾向を示したが、ミトコンドリアは、不妊精巣の type I にみられたのと同様に、クリスタが不明瞭で、基質が低電子密度の膨化したミトコンドリアが認められた。

type III: 正常精巣の type III 同様、未熟型と思



A



B

Fig. 8. Type III Leydig cells of normal testis. (an immature type, from normal control No. 12) A: A low power view. The cell is spindle-shaped and has increased nucleus to cytoplasm ratio. Cell organelles are poorly developed. (original magnification $\times 5,000$) B: A high power view. Most lysosomes are those of primary type and mitochondria reveals the features characteristic to those of the mature Leydig cells. (original magnification $\times 15,000$)

われる細胞 (Fig. 14) と退行変性をきたしたと思われる細胞 (Fig. 15) がみられた。

不妊精巣の Leydig 細胞のその他の細胞学的な違いとして、まず、膨化したミトコンドリアが、Leydig 細胞が増加するにつれて多くなる傾向を示し、主に、type I, type II にみられた。

ラインケのクリスタルは、Leydig 細胞が増加するにつれ、出現する頻度が低くなる傾向を示した。

類結晶は、Leydig 細胞数による差は認められず、ほとんどの症例において type E が認められ、症例によっては他の類結晶も存在した。type E はまれに核内にも存在した (Fig. 16)。全体として、type A, B, C, D のすべてが確認でき (Fig. 11)、また、同一細胞に type E とラインケのクリスタルが共存す

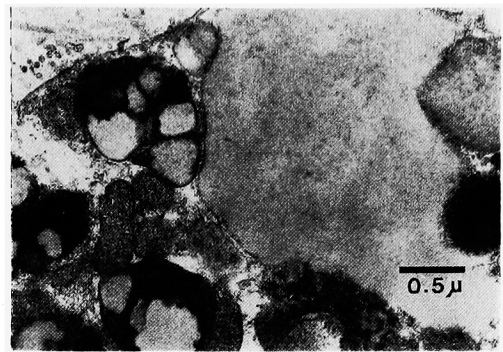


Fig. 9. A portion of type III Leydig cell from normal testis. (a regressive type, from normal control No. 12) The cytoplasm is filled with numerous secondary lysosomes. (original magnification $\times 15,000$)

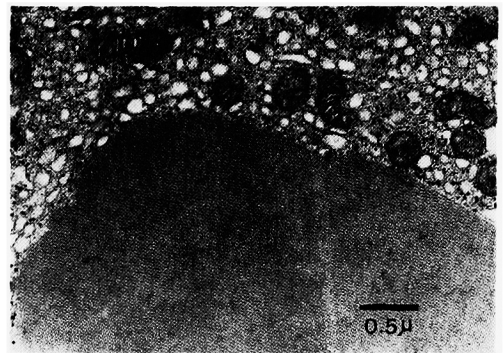


Fig. 10. The crystal of Reinke. (from normal control No. 12, original magnification $\times 15,000$)

るものがまれにみられた (Fig. 17)。類結晶の大きさおよび形は、正常精巣のものと差は認められなかった。

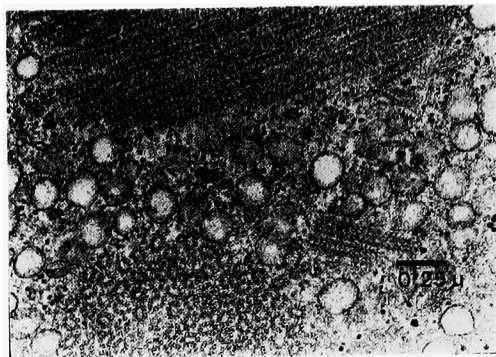
脂肪滴は、全体としてあまりみられなかったが、Leydig 細胞の高度増加群の 3 症例でよく発達していた。

②各 type の Leydig 細胞が各症例において占める割合

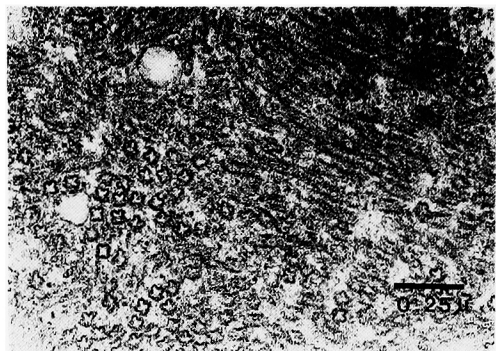
i) 正常、乏精子症および無精子症各グループ間の比較 (Fig. 18)

正常では、type I の占める割合がもっとも大きかったが、乏精子症および無精子症では、type II がもっとも多く、乏精子症と無精子症のグループ間において、各 type の Leydig 細胞が占める割合に差は認められなかった。

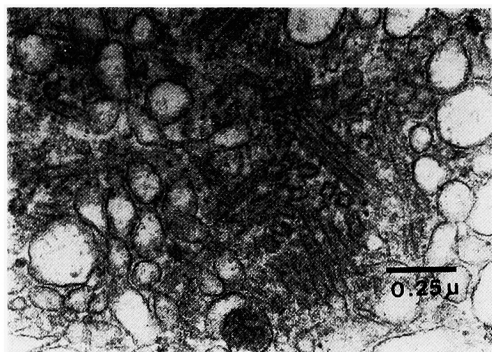
ii) Leydig 細胞が軽度増加したグループ、中等度増加したグループおよび高度に増加したグループの 3



A



B

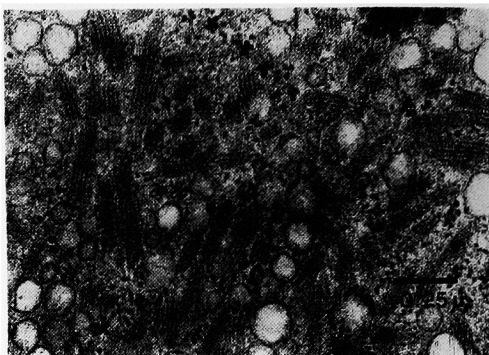


C

Fig. 11. Paracrystalline inclusion bodies. A : The upper ones are observed in longitudinal section and the lower in cross section. In cross section, each circular structure is composed of six subunits. This inclusion body is identical to Pa-



D



E

yer's type A. (from case No. 39, original magnification $\times 30,000$) B : In cross section, this structure appears as a four-pointed star made up of a continuous line, and corresponds to Payer's type B. (from normal control No. 8, original magnification $\times 40,000$) C: In cross section, this structure appears as a four-pointed star made up of electron dense granules, and corresponds to Payer's type C. (from case No. 9, original magnification $\times 40,000$) D : Inclusions are composed of six subunits and corresponds to Payer's type D. (from normal control No. 8, original magnification $\times 10,000$) E: Inclusion bodies which are composed of electron dense granules appear as S-shaped in cross section and arranged in four or five parallel rows in longitudinal section; and corresponds to Payer's type E. (from normal control No. 10, original magnification $\times 40,000$)

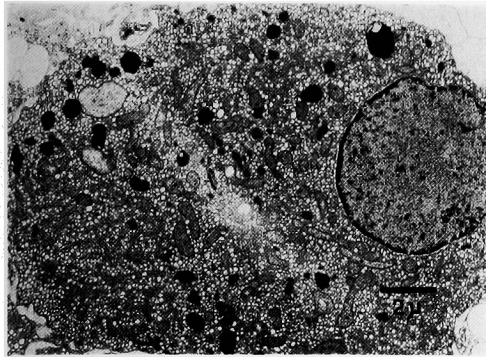
グループ間の比較 (Fig. 19).

各グループ間において、各 type の Leydig 細胞が占める割合に差は認められなかった。

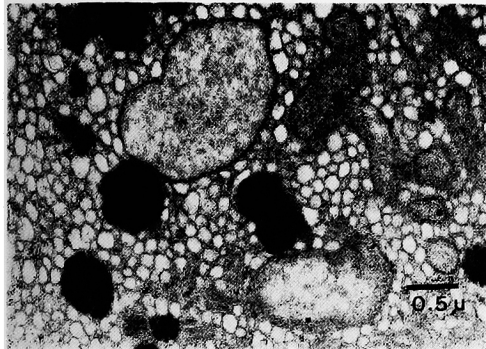
考 察

視床下部—下垂体—性腺系のホルモンによる互いの

調節について、最近、その解明が進みつつある⁹⁾。一般には、視床下部より分泌された gonadotropin releasing hormone (以下、GnRH と略す) は、下垂体を刺激して LH および FSH の分泌を促進、LH は精巣の Leydig 細胞に作用し、テストステロンの合成分泌を促進する。また、FSH は精巣の Sertoli

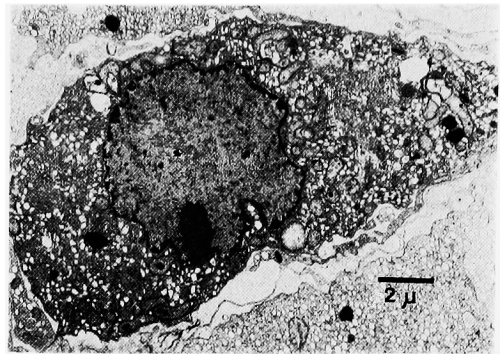


A

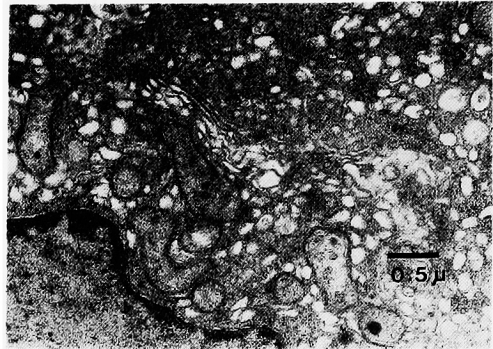


B

Fig. 12. A type I Leydig cell of a patient with idiopathic male infertility. (from case 40) A: A low power view. The cell tends to have the same features as the type I Leydig cell in normal control but it contains swollen mitochondria and lysosomes most of which are those of the secondary type. (original magnification $\times 4,000$) B: A high power view. Swollen mitochondria and secondary lysosomes are visible. (original magnification $\times 15,000$)



A



B

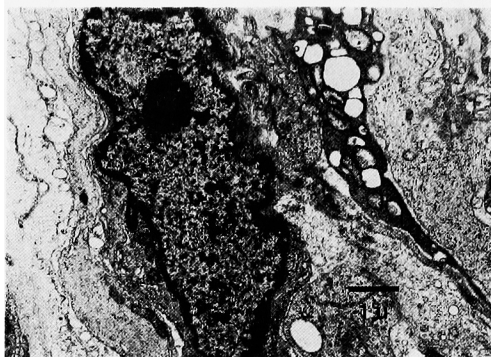
Fig. 13. A type II Leydig cell of a patient with idiopathic male infertility. (from case No. 40) A: A low power view. Like the type I Leydig cell, the cytological features resemble those of the type II Leydig cell of the normal testis, but this cell contains swollen mitochondria. (original magnification $\times 4,000$) B: A high power view. Mitochondria which have undeveloped cristae. (original magnification $\times 15,000$)

細胞に作用し, androgen binding protein およびインヒビンの合成分泌を促進すると同時に Leydig 細胞において, LH-receptor の数を増加させる. 逆に, Leydig 細胞より分泌されたテストステロンは, 下垂体からの LH の分泌を抑制, また, 視床下部のレベルでもネガティブに作用する. また, Sertoli 細胞から分泌されたインヒビンは, 特異的に下垂体からの FSH の分泌を抑制する.

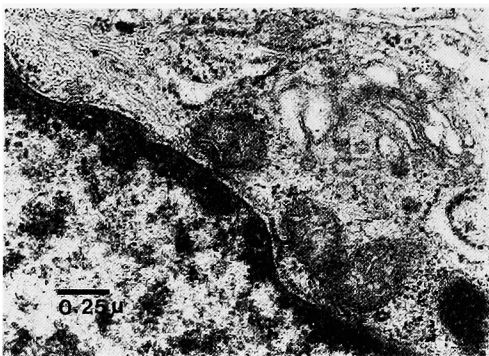
さて, 血中ゴナドトロピンおよびテストステロン値の変動について, Vigersky ら⁹⁾は, LH は人では 90 分毎に分泌され, FSH は, LH ほどには episodic に分泌されないが, テストステロンは, LH の分泌に反応して増加すると報告している. また, 青山ら¹⁰⁾

によると, 高ゴナドトロピンの症例においても, 変動幅は小さいが血中ゴナドトロピンの変動が認められたと言う. そこで, ホルモンの測定は, 1 回のみではその解釈上考慮する必要があると思われたが, Swerdloff ら¹¹⁾によると, 20 分間隔で 3 回測定し, その平均値を採用する方法が, 臨床上有容範囲内にあるというので, 実際に 2 例について同様に測定してみたところ, 採血時刻による差はほとんどみられなかった. これらのことから, われわれは, 採血時刻を PM 1 時と決めて, 1 回をみの測定としたが, その誤差は臨床問題ないと思われた.

特発性男子不妊症における血中ゴナドトロピンおよびテストステロン値についてはいくつか報告がある.



A



B

Fig. 14. A type III Leydig cell of a patient with idiopathic male infertility. (an immature type, from case No. 40) A: A low power view. The cytological features resemble those of the type III Leydig cell (an immature type) of the normal testis. (original magnification $\times 6,000$) B: A high power view. In the cytoplasm, numerous microfilaments are visible. (original magnification $\times 20,000$)

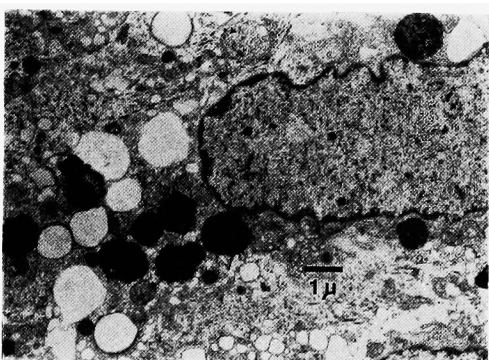


Fig. 15. A type III Leydig cell of a patient with idiopathic male infertility. (a regressive type, from case No. 35) There are numerous secondary lysosomes and lipid droplets in the cytoplasm. (original magnification $\times 2,000$)



Fig. 16. Payer's type E inclusion bodies in the nucleus. (from case No. 37, original magnification $\times 10,000$)

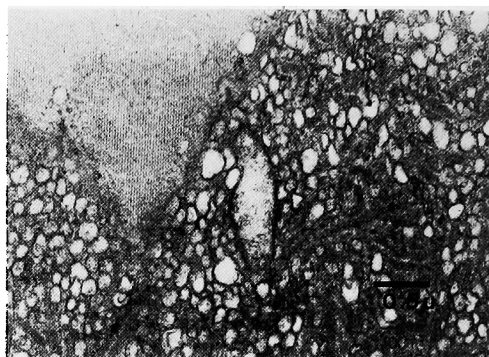


Fig. 17. The crystal of Reinke and Payer's type E inclusion bodies coexist in the same cell. (from case No. 17, original magnification $\times 10,000$)

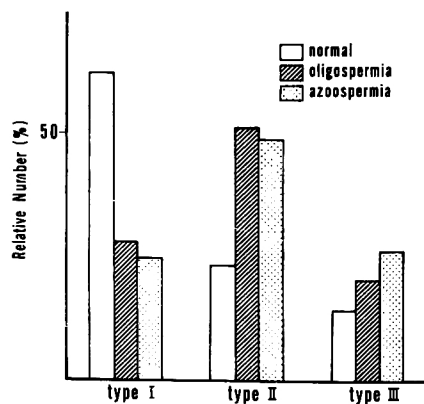


Fig. 18. Relative numbers of each Leydig cell type in normal, oligospermic and azoospermic groups.

LH については、内島ら¹²⁾が無精子症で、Ishida ら¹³⁾が Sertoli cell only syndrome で、また、細井¹⁴⁾、Urry ら¹⁵⁾が精子数が $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例

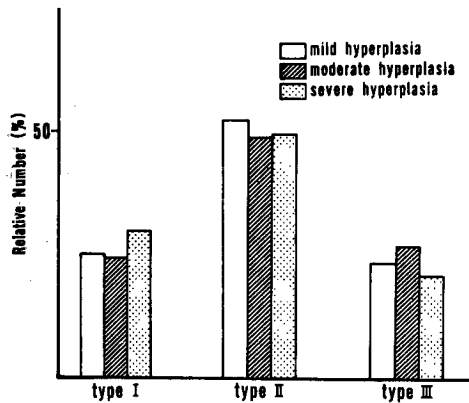


Fig. 19. Relative numbers of each Leydig cell type in slight, moderate and severe groups in terms of Leydig cell hyperplasia.

で有意に上昇していると報告し、小松ら¹⁶⁾、谷風¹⁷⁾は、上昇する傾向を、de Kretser ら¹⁸⁾は、Sertoli cell only syndrome で半数が上昇していたと報告している。一方、今野ら¹⁹⁾、Rosen ら²⁰⁾は、正常であったと報告しているが、精巣の大きさが正常である症例を対象としていたためと考えられる。FSH については、無精子症で^{12,16-17,21)}、乏精子症、無精子症共に²⁰⁾、Sertoli cell only syndrome^{13,18)}あるいは精子数が $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例で¹⁴⁾有意に上昇しているという報告がある。テストステロンについては、正常と有意差を示さないとする報告^{12,13,17,20)}、無精子症において有意に低いとする報告^{14,15,19)}があるが、一般に、精子数が減少するとテストステロン値は低くなり、無精子症においてもっとも低いとする報告が多い。以上のように、特発性男子不妊症においては、精子形成障害が高度になるにつれ、血中ゴナドトロピン値の増加およびテストステロン値の低下傾向が認められるが、その詳細な機序については不明の部分が多い。特発性男子不妊症における LH の増加の機序について、推論が許されるなら、何らかの原因(精巣の循環障害、精巣間質の線維化など)により、Leydig 細胞の機能が低下、その結果、テストステロンの産生あるいは分泌が低下し、下垂体へのネガティブフィードバックにより、LH の分泌が増加するのかもしれないが、このことに関しては、今後の検討を要する問題である。

特発性男子不妊症の精巣の病理組織像は、主に精細管の所見に基づいて分類されることが多いが、間質の変化について詳細な検討をしているものは少なく、特に Leydig 細胞の増減に関しては、詳細に検討され

ているものはほとんど見当たらない。長汐²²⁾は、精巣の組織像を I 度～V 度に分類し、III 度～V 度で Leydig 細胞の増加を伴うことが多いとし、また、百瀬ら²³⁾、山本²⁴⁾は、germinal cell aplasia で、ときに増加を示すこともあるが、通常、正常のことが多いと報告している。Engle²⁵⁾、Wong ら²⁶⁾は、数、性状とも正常であったとし、Nelson²⁷⁾は、complete fibrosis において正常より減少していたと報告している。一方、del Castillo ら²⁸⁾は、Sertoli cell only syndrome において、精細管径の減少によると思われる Leydig 細胞の過形成を報告、Howard ら²⁹⁾は、精細管の障害が高度になるにつれて、Leydig 細胞の増加が大になるとし、Nistal ら³⁰⁾は、germ cell-hypoplasia の高度な症例、spermatogonia での arrest 例および germ cell absence において Sertoli 細胞の成熟している例で、Leydig 細胞の増加を認めている。このように、特発性男子不妊症の精巣においては一般に Leydig 細胞の増加が報告されているが、その評価はいずれも主観的であり、また、精子形成障害が進行するにつれて、精巣の容積が減少し、みかけ上の増加の可能性も否定できない。

Heller らは、Leydig 細胞の増減を定量的に評価する方法として、成人男子では、Sertoli 細胞数はさまざまな刺激、例えば、薬物、ホルモン、放射線などによって変化しないということから、Leydig 細胞数と Sertoli 細胞数の比を提唱し³¹⁾、正常成人に hCG (human chorionic gonadotropin) を投与して Leydig 細胞数をこの比を用いて定量したところ、変化は認めなかったと報告している³²⁾。また、Weiss ら³³⁾は、Leydig 細胞数の評価法として、①精細管断面 1 個あたりの平均の Leydig 細胞数、②精細管断面 1 個あたりの平均の Leydig 細胞塊数、③ Leydig 細胞塊 1 個あたりの平均の Leydig 細胞数を提唱し、精索静脈瘤の精巣の Leydig 細胞数を定量したところ、①②③は互いに有意に相関し、②が臨床的に応用可能であることを示した。後藤ら⁷⁾も、上記方法により、停留精巣の Leydig 細胞数を定量したところ、成人症例においては、正常精巣と比較して、停留側および対側の陰嚢内精巣で、Leydig 細胞が明らかに増加していたと報告している。

特発性男子不妊症の精巣においては、精子形成障害が高度になると、最終的には精細管は硝子化し、Sertoli 細胞が認められなくなるという点および Leydig 細胞の増加が高度になると、隣接した Leydig 細胞塊は一塊となり、一つの cluster を判断することが困難になる点で、われわれは、報告のあった定量法の

うち、精細管断面1個あたりの平均の Leydig 細胞数（以下、Leydig cell index とする）により定量を行った。

まず、正常成人、乏精子症および無精子症の Leydig cell index の平均値は、順に、7.3, 16.2, 21.8 で、統計学的には乏精子症と無精子症の間に有意差は認められなかったが、共に、正常よりは有意に増加していた。このことより、特発性男子不妊症において Leydig 細胞の増加の程度は、精子数とは関係ないと思われた。

つぎに、血中ホルモンと Leydig cell index との関係を検討した。血中 LH と Leydig cell index とは有意の正の相関を示した。一般に、LH は、Leydig 細胞の細胞膜表面の LH-receptor に結合し、cyclic AMP を介してテストステロンの産生を促進するが、Leydig 細胞の分化発育を促進しその数を増加させるかどうかは、現在のところ不明である。Christensen ら³³⁾は、成熟ラットに hCG を投与し、Leydig 細胞の増加および個々の Leydig 細胞の体積の増大を認めた。また、Chemes³⁴⁾ は、未熟ラットに hCG を投与し、Leydig 細胞の増加を認めたが、その増加は Leydig 細胞の分裂と前駆細胞の分化によるものと考えている。また、Nistal ら³⁵⁾ は hypogonadotropic hypogonadism の患者に hCG を投与し、いくつかの分化段階の Leydig 細胞を間質に認め、hCG の投与により Leydig 細胞の分化が引き起こされることを示している。これらのことは、hCG は LH 作用が主であるので、LH の上昇により Leydig 細胞の分化増殖が引き起こされることの実験的裏付けになると思われるが、その機序については今後の検討を要する。

FSH も Leydig cell index と有意の正の相関を示したが、FSH は Leydig 細胞を分化発育させる作用はないと考えられるので、この相関は、FSH が LH と相関することによるものと思われる。また、Johnsen's score⁶⁾ に基づいて各精細管断面のスコアを決定し、標本の全視野の精細管断面のスコアの平均値をその個体の精細管のスコアとし、Leydig cell index との関係を見たところ、有意の負の相関を示したが、共に、精巣の障害が進行したときの現象と思われ、精細管の障害と Leydig 細胞の増加とは直接の関係はないと考えられた。

一方、テストステロンは、Leydig cell index と相関を示さず、すなわち、Leydig 細胞が増加しても必ずしもテストステロンの増加と結びつかず、個々の Leydig 細胞のテストステロンを産生分泌する機能の

低下あるいは機能を維持している細胞と機能の低下した細胞が混在していることが推測される。そこで個々の Leydig 細胞の機能を電顕を用いて検討した。

人の精巣の Leydig 細胞の超微細構造に関する最初の報告は Fawcett ら³⁶⁾ によるもので、その後、正常精巣については、Yamada³⁷⁾、Nagano³⁸⁾、de Kretser³⁹⁾、の報告があり、造精機能障害^{36,40~42)}、Klinefelter 症候群^{40,43~47)}、XX male^{48~50)}、精巣性女性化症候群^{51~53)}、停留精巣^{7,40,54,56)}についても報告がみられる。

ステロイド産生細胞には、副腎皮質細胞、精巣の Leydig 細胞、卵巣の卵胞の内茨膜細胞、黄体細胞があるが、その一般的な超微細構造の特徴として、Fawcett ら⁵⁶⁾ は、①細胞質全体を占める豊富な滑面小胞体、②非常によく目立つゴルジ装置、③さまざまな形の、しばしば異常な内部構造を示すミトコンドリア、④多くのライソゾームと集合傾向のあるリポクローム色素、⑤器官および種によりその量が異なる脂肪滴をあげている。

Leydig 細胞の超微細構造は、その機能状態により変化し、さまざまな形態をとり、また、Leydig 細胞は、その分化段階により前駆細胞、未熟細胞、成熟細胞および変性細胞に分類される。われわれは、Leydig 細胞をその細胞の持つ機能により分類することを試みた。

Leydig 細胞は、下垂体前葉より分泌される LH の刺激を受け、テストステロンを産生分泌するが、テストステロンの生合成に関与する諸酵素の Leydig 細胞内における局在より、LH の刺激を受けると、Leydig 細胞内に取り込まれた、あるいは、SER または細胞質基質で酢酸から合成されたコレステロールは、ミトコンドリアにおいてプレグネロンに変換され、つづいて、SER でテストステロンに合成されると言われている⁵⁷⁾。このように、SER がテストステロン合成に関与していることは明らかなので、まず、細胞が含む SER の量により Leydig 細胞を 3 type に分類し、SER の発達が高度な細胞を type I、中等度の細胞を type II、発達が悪い細胞を type III とした。

Type I は、その細胞学的特徴より、テストステロン産生能の高い細胞と考えられ、いわゆる成熟細胞の機能型に相当する。type II は、テストステロン産生能が type I に比較して、やや低下していると思われるつぎの 3 つの状態が考えられる。すなわち、①成熟細胞に分化しつつある状態、②成熟細胞でテストステロン産生能が一時的に低下している状態、③成熟細胞か

ら変性細胞に移行しつつある状態である。type III は、ほとんどテストステロン産生能のない細胞と考えられ、いわゆる未熟細胞あるいは変性細胞に相当する。

これらのことは、正常および不妊症の両方に当てはまることであり、それぞれの type において、正常と不妊症の間には総体的に差はなかった。しかし、正常と不妊症の間には、ミトコンドリアについて決定的な違いがあり、不妊症では、クリステが不明瞭で基質が低電子密度の膨化したミトコンドリアが認められたことである。この膨化したミトコンドリアについては、血中ゴナドトロピンが上昇し、血中テストステロンが減少した疾患で報告されてきた⁴³⁾。Klinefelter 症候群において、Paniagua ら⁴³⁾および Mor ら⁴⁶⁾が、この膨化したミトコンドリアを認めており、Paniagua らは、この膨化したミトコンドリアにより、部分的にステロイドの合成が減少するかもしれないと述べており、また、Mor らは、これはホルモン代謝が修飾されたことを表していると言っている。他に XX male⁴⁸⁾、hCG 投与後⁵⁰⁾でも認められている。Camatini ら⁴²⁾は、血中ゴナドトロピンが上昇し、血中テストステロンが減少した無精子症の症例で、同様のミトコンドリアを認めており、ミトコンドリアの基質の濃度の減少は、その前駆物質の喪失、あるいはステロイド合成に必要な酵素の欠損を反映しているのかもしれないと述べている。一方、Livini ら⁴¹⁾は、血中ホルモンが正常の無精子症の症例では、膨化したミトコンドリアを認めておらず、これらのことから、膨化したミトコンドリアと血中ゴナドトロピンの上昇および血中テストステロンの減少との関連性が示唆された。しかし、膨化したミトコンドリアと血中ゴナドトロピンの上昇および血中テストステロンの減少の程度との関連は認められず、膨化したミトコンドリアは、細胞がこのホルモン環境にさらされた期間に関係するのかもしれない。以上のことより、不妊症の type I, II は正常の type I, II に比較してテストステロン産生能がより低下していることが考えられた。

結晶構造として、ラインケのクリスタル以外に数種の類結晶が認められた。Payer⁸⁾は、類結晶を 5 type に分類しており、われわれの症例でも 5 type が区別できたが、それぞれの意義については不明である。Livni ら⁴¹⁾は、無精子症精巣で類結晶封入体が目立つのは、男性ホルモンの代謝が修飾されているためであるとしたが、今回の研究では、血中ゴナドトロピンの上昇および血中テストステロンの減少の程度と類結晶との関連は認められなかった。また、一般に、

同一細胞にラインケのクリスタルと類結晶は、共存しないと言われているが、今回の研究では、同一細胞にラインケのクリスタルと type E が共存しているのが見られた。

ところで、各症例および正常例について各 type の Leydig 細胞の占める割合を検討したところ、正常では type I が最も多く、60%以上を占め、血中テストステロンレベルの維持に寄与していると考えられた。一方、特発性男子不妊症では、精子数および Leydig 細胞数のいかににかかわらず、type II が最も多く、また、type I, II, III それぞれの占める割合は、精子数あるいは Leydig 細胞数別の比較において、差は認められなかった。よって、特発性男子不妊症においては、テストステロン産生能のやや低下した Leydig 細胞の割合およびその絶対数が増加しているということが言えるが、このことが原因で、特発性男子不妊症では、Leydig 細胞が増加しているにもかかわらず、血中テストステロンが上昇しないと考えられる。また、特発性男子不妊症のなかで、Leydig 細胞が高度に増加している症例において、type I の占める割合は、増加が軽度な症例とあまり変わらず、このことは、Leydig 細胞が高度に増加している症例において、type I の絶対数が増加していることを意味するわけであるが、それにもかかわらず、これらの症例で血中テストステロン濃度が増加しない。この理由として以下の2つのことが推測される。まず、これらの細胞のなかには、テストステロンの分泌不全を示すものあるいは分泌が抑制されているものがある可能性があるということである。実際、特発性男子不妊症の type I の細胞は、2次ライソゾームが増加しており、このライソゾームは、テストステロンを取り込んでいる可能性がある。2つめの理由として、前述のように、特発性男子不妊症の type I の細胞は、膨化したミトコンドリアを含み、形態学的に想像されるより機能が低下していることが予想される。そのために、血中テストステロンの濃度が増加しないということも考えられる。これらのことについては、今後の組織化学的あるいは生化学的な検討が必要であろう。

ところで、前述のように特発性男子不妊症において、血中の LH が上昇する機序については、一次的に Leydig 細胞のテストステロン産生能あるいは分泌能が低下し、血中のテストステロン濃度が低下、ネガティブフィードバックにより血中の LH が上昇するという考えがもっとものようである。しかし、一次的に Leydig 細胞のテストステロン産生能あるいは分泌能が低下する理由は不明である。上昇した LH

は、Leydig 細胞の数を増加させるが、電顕による Leydig 細胞の超微細構造の観察では、確かに、active な細胞もみられるが、やや inactive な細胞がもっとも多かった。これは、一つには、Leydig 細胞の down regulation というものが考えられる。Rebois らは、Leydig 細胞腫の細胞を hCG にさらすと細胞表面の hCG 受容体の数が減少することを認めているが、このことは、腫瘍化していない Leydig 細胞の LH 受容体についても同様と思われる⁶⁰⁾。また、精巣間質の線維化が原因で、LH の浸透性が低下することにより、あるいは LH の阻害物質（現在、FSH の阻害物質は報告されているが⁶⁰⁾、LH の阻害物質は不明である）により、LH の Leydig 細胞に対する刺激が弱くなり、Leydig 細胞の活性が低下するという可能性も否定できない。

結 語

1. 特発性男子不妊症51名および正常成人13名について精巣生検を施行し、精巣の光顕的観察を行い、また、特発性男子不妊症37名および正常成人6名については、電顕的観察も行った。

2. 光顕的観察では、標本の全視野の Leydig 細胞数および精細管断面数を計測し、精細管断面1個あたりの平均の Leydig 細胞数を算出、これを Leydig cell index として Leydig 細胞数の評価に用いた。

3. Leydig cell index は、正常に比較して乏精子症、無精子症ともに有意に増加していたが、乏精子症と無精子症の間では差はみられなかった。また、この index は、血中 LH および FSH と有意の正の相関、Johnsen's score とは有意の負の相関を示したが、血中テストステロンとは相関を示さなかった。

4. よって、Leydig 細胞は LH の刺激を受けて増加することが示されたが、その増加に伴う血中テストステロンの増加はみられなかった。そこで、Leydig 細胞の機能低下が示唆されるため、その機能を電顕を用いてその細胞の超微細構造を観察することにより検討した。

5. Leydig 細胞のテストステロンの産生において、SER が関与していることは明白なので、各 Leydig 細胞の SER の発達度に応じて Leydig 細胞を 3 type に分類した。

6. type I は、SER がよく発達した細胞で、核は円形あるいは楕円形で表面は平滑、ミトコンドリアは比較的小型でクリステは層板状あるいは管状を呈した。type II は、SER の発達が中等度の細胞で、核の形がやや不整となりその表面も軽度の凹凸不整を呈

し、ミトコンドリアのクリステの発達が type I より悪いように思われた。type III は、SER の発達が悪い細胞で、細胞の形が紡錘形のものや多角球形のものがみられた。前者はその他の細胞内小器官の発達も悪く、未熟細胞と考えられ、後者は、細胞内に2次ライソゾームを多数含み、退行変性をきたした細胞と考えられた。以上の細胞学的特徴より、type I がもっともテストステロン産生能が高く、以下 type II と続き、type III は、ほとんどテストステロン産生能がないと考えられた。ただ、正常と特発性男子不妊症を比較すると、type I および type II で、特発性男子不妊症には、膨化したミトコンドリアが認められ、特発性男子不妊症の type I および type II は正常のそれらに比較して、テストステロン産生能が低下していることが示唆された。また、type I では、正常では1次ライソゾームが多く、特発性男子不妊症では、2次ライソゾームが多かった。

7. 各症例および正常例において、各 type の Leydig 細胞の占める割合を求め、まず、正常、乏精子症および無精子症の各グループ間で比較を行ったところ、正常グループでは type I の割合がもっとも多かったが、乏精子症グループと無精子症グループでは type II の割合がもっとも多かった。しかし、乏精子症グループと無精子症グループの間では、各 type の Leydig 細胞の占める割合にほとんど差は見られなかった。つぎに、特発性男子不妊症を Leydig 細胞数別に3グループに分け、各 type の Leydig 細胞の占める割合について各グループ間の比較を行ったところ、各グループ共に type II がもっとも多く、また、各グループ間において、各 type の Leydig 細胞の占める割合にほとんど差はみられなかった。以上のことから特発性男子不妊症では、精巣の Leydig 細胞は、テストステロン産生能のやや低下した type II がもっとも多いことが示され、Leydig 細胞が増加しているにもかかわらず、血中テストステロンが上昇しないことの原因になっていると考えられた。また、Leydig 細胞の増加が高度な症例では、形態学的にテストステロン産生能が高いと考えられる type I の Leydig 細胞の絶対数も増加しているが、血中テストステロンの上昇が認められないので、これらの細胞も機能が低下していることが示唆された。

本論文の要旨は第31回日本不妊学会総会および第6回日本アンドロロジー学会において発表した。

文 献

- 1) 守殿貞夫: 男性不妊の臨床—最近の話題を中心に—. 臨泌 40: 7-17, 1986
- 2) Wong T and Jones TM: Evaluation of testicular biopsy in male infertility studies. In: Infertility in the male. Edited by Lipshultz LI and Howards SS. pp. 217-248, Churchill Livingstone, New York, 1983
- 3) Charny CW: Testicular biopsy. Its value in male sterility. JAMA 115: 1429-1433, 1940
- 4) Hotchkiss RS: Testicular biopsy in the diagnosis and treatment of sterility in the male. Bull NY Acad Med 18: 600-605, 1942
- 5) Weiss DB, Rodriguez-Rigau L, Smith KD, Chowdhury A and Steinberger E: Quantitation of Leydig cells in testicular biopsies of oligospermic men with varicocele. Fertil Steril 30: 305-311, 1978
- 6) Johnsen SG: Testicular biopsy score count: a method for registration of spermatogenesis in human testis. Normal values and results in 335 hypogonadal males. Hormones 1: 2-25, 1970
- 7) 後藤百万, 三宅弘治, 三矢英輔: 停留精巣の研究. 第1報: 停留精巣における間細胞の形態学的観察. 泌尿紀要 30: 327-347, 1984
- 8) Payer AF: Ultrastructural classification of paracrystalline inclusions in untreated and estrogen treated human Leydig cells. Anat Rec 198: 175-182, 1980
- 9) Vigersky RA: Pituitary-testicular axis. In: Infertility in the male. Edited by Lipshultz LI and Howards SS. pp19-41, Churchill Livingstone, New York, 1983
- 11) 青山竜生, 丸田 浩: 睪丸下垂体系の研究. 第1報 Gonadotropin 分泌動態の研究. 日泌尿会誌 65: 345-368, 1974
- 11) Swerdloff RS and de Kretser DM: Endocrine evaluation of the infertile male. In: Infertility in the male. Edited by Lipshultz LI and Howards SS. pp207-216, Churchill Livingstone, New York, 1983
- 12) 内島 豊, 平賀聖悟, 駒瀬元治, 根岸壮治: 男子不妊症の血中ホルモン動態と造精機能に関する検討. 日不妊会誌 27: 127-138, 1982
- 13) Ishida H, Isurugi K, Aso Y, Takayasu H and Tamaoki B: Endocrine studies in Sertoli-cell-only syndrome. J Urol 116: 56-58, 1976
- 14) 細井康男: 男性不妊症の内分泌学的研究. 日泌尿会誌 72: 544-558, 1981
- 15) Urry RL, Dougherty KA and Cockett ATK: Correlation between follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, testosterone and 5-hydroxy-indole acetic acid with sperm cell concentration. J Urol 116: 322-323, 1976
- 16) 小松洋輔, 友吉唯夫, 永山洋一: 乏精子症および無精子症の血中 FSH と LH. 泌尿紀要 19: 457-462, 1973
- 17) 谷風三郎: 男性不妊にかんする内分泌学的研究. 泌尿紀要 26: 947-954, 1980
- 18) de Kretser DM, Burger HG, Fortune D, Hudson B, Long AR, Paulsen CA and Taft HP: Hormonal, histological and chromosomal studies in adult males with testicular disorders. J Clin Endocrinol Metab 35: 392-401, 1972
- 19) 今野 稔, 穂坂正彦, 岩崎 皓, 西村隆一, 高井修道: 男性不妊症における睪丸間質細胞機能について. 日不妊会誌 21: 407-415, 1976
- 20) Rosen SW and Weintraub BD: Monotropic increase of serum FSH correlated with low sperm count in young men with idiopathic oligospermia and aspermia. J Clin Endocrinol Metab 32: 410-416, 1971
- 21) Leonard JM, Leach RB, Couture M and Paulsen CA: Plasma and urinary follicle-stimulating hormone levels in oligospermia. J Clin Endocrinol Metab 34: 209-214, 1972
- 22) 長汐達也: 男子不妊症の原因に関する研究. 日産婦誌 9: 497-506, 1957
- 23) 百瀬剛一, 島崎 淳, 片山 喬: 男子不妊症の研究(第1報). 無精子症患者の睪丸組織像. 日不妊会誌 4: 21-29, 1959
- 24) 山本 治: 男性不妊の研究. 第Ⅱ篇 睪丸組織像の観察. 泌尿紀要 9: 229-251, 1963
- 25) Engle ET: The testis biopsy in infertility. J Urol 57: 789-798, 1947
- 26) Wong T, Straus FH and Warner NE: Testicular biopsy in the study of male infertility. Arch Pathol Lab Med 95: 151-159, 1973
- 27) Nelson WO: Interpretation of testicular biopsy. JAMA 151: 449-454, 1953
- 28) del Castillo EB, Trabucco A and de la Balze FA: Syndrome produced by absence of the germinal epithelium without impairment of the Sertoli or Leydig cells. J Clin Endocrinol Metab 7: 493-502, 1947
- 29) Howard RP, Sniffen RC, Simmons FA and Albright F: Testicular deficiency: A clinical and pathologic study. J Clin Endocrinol Metab 121-186, 1950
- 30) Nistal M and Paniagua R: Testicular biopsy. Basic testicular lesions. In: Testicular and epididymal pathology. Edited by Nistal M and Paniagua R. pp94-113, Thieme-Stratton Inc, New York, 1984
- 31) Heller CG, Lalli MF, Pearson JE and Leach DR: A method for quantification of Leydig cells in man. J Reprod Fertil 25: 177-184, 1971
- 32) Heller CG and Leach DR: Quantification

- of Leydig cells and measurement of Leydig-cell size following administration of human chorionic gonadotrophin to normal men. *J Reprod Fertil* 25: 185-192, 1971
- 33) Christensen AK and Peacock KC: Increase in Leydig cell number in testes of adult rats treated chronically with an excess of human chorionic gonadotropin. *Biol Reprod* 22: 383-391, 1980
 - 34) Chemes HE, Rivarola MA and Bergada C: Effect of HCG on the interstitial cells and androgen production in the immature rat testis. *J Reprod Fertil* 46: 279-282, 1976
 - 35) Nistal M and Paniagua R: Leydig cell differentiation induced by stimulation with HCG and HMG in two patients affected with hypogonadotropic hypogonadism. *Andrologia* 11: 211-222, 1979
 - 36) Fawcett DW and Burgos MH: Studies on the fine structure of the mammalian testis. II. The human interstitial tissue. *Am J Anat* 107: 245-269, 1960
 - 37) Yamada E: Some observations on the fine structure of the interstitial cell in the human testis as revealed by electron microscopy. In: *Electron Microscopy*. Edited by Breese SS. 2, LL-1., ppl-17, Academic Press, New York, 1962
 - 38) Nagano T: Some observations on the structure of interstitial cells and Sertoli cells of the human testis. *Gunma Symp Endocrinol* 2: 19-28, 1965
 - 39) de Kretser DM: The fine structure of the testicular interstitial cells in men of normal androgenic status. *J Zellforsch* 80: 594-609, 1967
 - 40) Hatakeyama S: A study on the interstitial cells of the human testis, especially on their fine-structural pathology. *Acta Pathol Jpn* 15: 155-197, 1965
 - 41) Livni N, Palti Z, Segal S and Laufer A: Fine structure of Sertoli and Leydig cells in azoospermic human testis. *Arch Pathol Lab Med* 101: 442-445, 1977
 - 42) Camatini M, Franchi E, Anelli G and Chiara F: Morphological changes of Leydig cells in men with altered plasma testosterone and gonadotropin levels. *J Submicrosc Cytol* 13: 703-716, 1981
 - 43) Paniagua R, Nistal M and Bravo MP: Leydig cell types in primary testicular disorders. *Hum Pathol* 15: 181-190, 1983
 - 44) Smith BD, Leeson CR and Bunge RG: Microscopic appearance of the testis in Klinefelter's syndrome before and after suppression of gonadotrophin production with testosterone. *Invest Urol* 5: 58-72, 1967
 - 45) Nistal M, Paniagua R and Lopez-Pajares I: Ultrastructure of Leydig cells in Klinefelter's syndrome with 48, XXYY karyotype. *Virchows Arch Cell Pathol* 28: 39-46, 1978
 - 46) Mor C, Ben-Bassat M and Leiba S: Leydig's and Sertoli cells. Their fine structures in three cases of Klinefelter's syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 106: 228-230, 1982
 - 47) Nistal M, Santamaria L and Paniagua R: Quantitative and ultrastructural study of Leydig cells in Klinefelter's syndrome. *J Pathol* 146: 323-331, 1985
 - 48) Kovacs K, Singer W and Casal G: Leydig cell ultrastructure in an XX male. *J Urol* 112: 651-654, 1974
 - 49) Nistal M and Paniagua R: Ultrastructure of testicular biopsy from an XX male. *Virchows Arch Cell Pathol* 31: 45-55, 1979
 - 50) Sasagawa I, Terada T, Katayama T and Sakamoto H: Ultrastructure of the testis in an XX male with normal plasma testosterone. *Andrologia* 18: 361-367, 1986
 - 51) Gordon GB, Miller LR and Bensch KG: Electron microscopic observations of the gonad in the testicular feminization syndrome. *Lab Invest* 13: 152-160, 1964
 - 52) Smith BD, Leeson CR, Bunge RG and Anderson WR: Microscopic appearance of the gonads in postpubertal testicular feminization. *Invest Urol* 5: 73-86, 1967
 - 53) Ferency A and Richart RM: The fine structure of the gonads in the complete form of testicular feminization syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 113: 399-409, 1972
 - 54) Hadziselimovic F, Herzog B and Seguchi H: Surgical correction of cryptorchism at 2 years: electron microscopic and morphometric investigations. *J Pediatr Surg* 10: 19-26, 1975
 - 55) Bigliardi E and Vegni-Talluri: Electron microscopic study of interstitial cells in cryptorchid human testes. I: Interstitial cells in prepubertal age. *Andrologia* 14: 276-283, 1982
 - 56) Fawcett DW, Long JA and Jones AL: The ultrastructure of endocrine glands. *Recent Prog Horm Res* 25: 315-380, 1969
 - 57) Christensen AK: Leydig cells. In: *Handbook of physiology*. Edited by Greep RG and Astwood EB. Endocrinology V, pp. 57-93, Amer Physiol Soc, Washington, DC, 1975
 - 58) de Kretser: Changes in the fine structure of the human testicular interstitial cells after treatment with human gonadotrophins.

Z Zellforsch **83**: 344-358, 1967

- 59) Rebois RV and Fishman PH: Down-regulation of gonadotropin receptors in a murine Leydig tumor cell line. J Biol Chem **259**: 3096-3101, 1984

- 60) 佐藤英明: シンポジウム ホルモン抑制物質と生

殖一性機能面における “Anti-hormone” の展開と可能性— 5, [末梢] 卵巣の新しいゴナドトロピン抑制物質. 第 32 回日本不妊学会 抄録集, ppS 32-S37, 1987

(1988年6月16日迅速掲載受付)