

男子不妊症患者の精巣生検組織像と造精機能評価

浜松医科大学泌尿器科学教室（主任：河辺香月教授）

山口 安三，大田原佳久，田島 惇

東京大学医学部泌尿器科（主任：阿曾佳郎教授）

阿 曾 佳 郎

ANALYSIS OF HISTOLOGICAL FINDINGS OF TESTICULAR BIOPSIES IN MALE INFERTILITY

Yasuzo YAMAGUCHI, Yoshihisa OTAWARA and Atsushi TAJIMA

*From the Department of Urology, Hamamatsu University School of Medicine
(Director: Prof. K. Kawabe)*

Yoshio Aso

*From the Department of Urology, Faculty of Medicine, University of Tokyo
(Director: Prof. Y. Aso)*

Histological findings of testicular biopsy were studied following the Johnsen's score count method in 68 cases of idiopathic male infertility, and the relation between serum levels of luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), and testosterone (T) and histological findings were analyzed in the same cases. In oligozoospermia, there were no cases showing a Johnsen's score lower than 4. The score counts ranged widely from 1 to 9 in azoospermia. The cases with the Johnsen's score count lower than 4 revealed high values of serum LH and FSH and a low level of serum T. There was no relationship between Leydig cell accumulations or thickness of the seminiferous tubular walls and score values. Further examination using ABC (avidin biotin complex) method was carried out to find the localization of FSH and T in the testicular tissues. Immunohistochemical localization FSH was not noted in normal testicular tissues obtained the autopsy cases and testicular biopsy specimens of idiopathic male infertility. The localization of T was found in the Leydig cells and the Sertoli cells of normal and infertile testes. In the cases with the thickness of tubular walls, Sertoli cells were not stained. This fact might indicate that absence of T in Sertoli cells is related to spermatogenetic maturation only with the thickness of seminiferous tubular walls.

(Acta Urol. Jpn. 34: 1953-1957, 1988)

Key words: Idiopathic male infertility, Testicular biopsy, Immunohistochemical localization, ABC (avidin-biotin complex) method

緒 言

男子不妊症における造精機能を評価する目的で精巣生検組織の評価を行い，生検像と血中 LH，FSH，testosterone 値（以下 T と略す）との関係につき検討を行った。さらに酵素抗体法による精巣内 T，FSH の局在をも調べた。

性男子不妊症68例を対象とした。対象の年齢は23から40歳までであり，その内訳は，無精子症41例，乏精子症（精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下）27例であった。なお酵素抗体法による精巣内 T，FSH の局在に，35歳から56歳までのほぼ正常と考えられる剖検例5例の精巣についても検討した。

方 法

対 象

1978年11月より1987年3月まで，不妊を主訴として浜松医大泌尿器科を受診し，精巣生検を施行した特発

1) 精液検査

5日間以上禁欲後，用手法により精液を採取し，精子濃度を測定した。

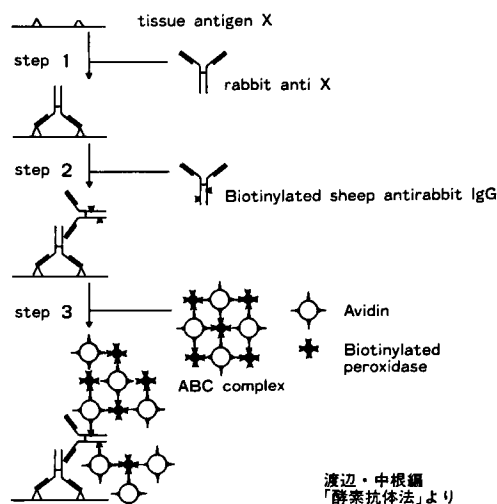


Fig. 1. ABC 法の原理

Table 1. Johnsen's score と血中 LH, FSH, testosterone 値との関係

Johnsen's score	無精子症 (例)	乏精子症 (例)	LH IU/l (2-35)	FSH IU/l (2-20)	Test.ng/dl (300-970)
1	4	0	42.7±18.6	49.9±40.4	341±194
2	14	0	23.8±16.2	31.4±17.3	596±171
3	3	0	11.0±11.7	13.0±14.5	251±260
4	4	0	12.7±6.7	27.6±18.1	594±196
5	5	2	12.2±8.2	15.8±12.7	665±360
6	4	8	12.2±5.3	16.5±10.6	610±256
7	2	4	14.7±4.5	16.7±11.6	736±454
8	2	8	10.2±2.4	11.8±3.4	705±142
9	3	5	12.4±8.0	8.9±5.8	640±305
計	41	27			

(mean±SD)

()内は正常値

2) 血中 LH, FSH, T 値の測定

外来初診時採血を行い RIA 法により血中 LH, FSH, T の測定を行った。

3) 精巣生検組織学的所見

精巣生検は、長期経過をみて精液所見の改善、妊娠の成立のみられない精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例に対し通常一側の精巣の開放性生検を行った。Bouin, あるいは Carnoy 液で固定後、パラフィン包埋し、H. E. 染色で観察した。組織学的評価は、Johnsen's score¹⁾ に準じて分類した。

4) 精巣内 T, FSH の局在

Biomeda 社の Histoscan Kits を用い、ABC法 (avidin-biotin complex method) により、パラフィン包埋標本の脱パラフィン化後、精巣内 T, FSH の局在について調べた。Fig. 1 に ABC 法の原理を示す²⁾。組織内 T を免疫組織化学的に染色する方法は、畠山³⁾ がすでに報告している方法に基づいて行

た。対照としては、抗体を含まない染色液による染色を行い、常に特異性に留意した。

結 果

精子濃度と精巣生検組織学的所見との関係

今回の検討では、いわゆる特発性男子不妊症のみを対象とし、精路の通過障害は除外した。精子濃度は全て $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例である。無精子症では、Johnsen's score は score 1 から 9 まで広く分布し、各段階の所見がみられた。無精子症41例中14例 (34.1%) が Sertoli 細胞のみの症例であった。乏精子症では、score 4 以下の症例はみられなかった (Table 1)。

血中 LH, FSH, T 値と組織学的所見との関係

血中 LH あるいは FSH 値が低下を示した症例はなかった。

血中 LH あるいは FSH 値が高値を示した症例は、全て Johnsen's score 4 以下の症例であった。すなわち今回の検討ではホルモン異常がみられたのは、全て無精子症例であった。しかし、score 4 以下の症例でも、これらの値で異常を示さないものが、25例中8例は認められた。また血中 T 値の低下は score 1 の2症例に認められたにすぎなかった。25例中17例は血中 FSH 高値の症例で、さらにその17例中7例が血中 LH 高値の症例であった。血中 LH 高値例は全て、score 1 あるいは2で、全例 FSH 高値を伴っていた。さらに、score が低くなるにつれて血中 FSH, LH 値が高値を示す傾向がみられた (Table 1)。

精細管壁肥厚の有無, Leydig 細胞の増加の有無

精巣生検組織上全視野半数以上に精細管壁肥厚, Leydig 細胞増加を認めた症例について精細管壁肥厚有り, Leydig 細胞増加有りとした。精細管壁肥厚は68例中57例に認めた。Johnsen's score 5 以下では精細管壁肥厚は全例にみられたが、score 6 以上の症例でも36例中25例に精細管壁の肥厚が認められた。

Table 2. Johnsen's score と精細管壁肥厚, Leydig 細胞増加の有無

Johnsen's score	症例数(例)	精細管壁肥厚(例) 有 無	Leydig cell accumulation (+) (-)
1	4	4 0	3 1
2	14	14 0	13 1
3	3	3 0	2 1
4	4	4 0	3 1
5	7	7 0	6 1
6	12	11 1	8 4
7	6	4 2	6 0
8	10	5 5	6 4
9	8	5 3	5 3
計	68	57 11	52 16

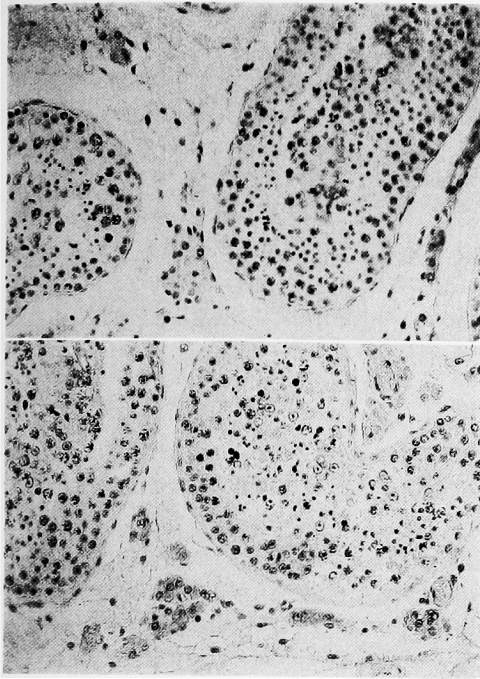


Fig. 2. 34歳剖検例の抗T抗体による免疫染色。上段はコントロール, Leydig 細胞, Sertoli 細胞, 精細管壁が染色されたが, 精細胞は染色されなかった。

Leydig 細胞の増加は68例中52例にあり, score 値に関係なく認められた。

精巣組織内 T, FSH の局在

精巣組織内 FSH の局在は, 今回検討した剖検例の正常精巣および特発性男子不妊症の精巣において, 免疫組織化学的に同定できなかった。

精細管壁肥厚のない剖検症例5例での検討では, 抗T抗体による免疫組織学的手段により染色された精巣組織内組織は, Leydig 細胞, Sertoli 細胞, 一部の精細管壁であり, 精細胞は染色されなかった (Fig. 2)。

今回検討した症例で精巣組織内Tが認められた症例に68例中21例で, その染色性の局在はまったく認められなかった。残り47例については, 精巣組織内Tの局在は, Leydig 細胞には認められたが, 47例中25例において Sertoli 細胞には局在がみられなかった。Leydig 細胞の増加している症例, 血中 LH 高値症例でも Leydig 細胞の染色の強さは正常例と差異を認めなかった。Sertoli 細胞が染色されない症例は, 全例精細管壁の肥厚がみられた。ただし, 精細管壁の肥厚した症例でも, 36例中9例に Sertoli 細胞が染色された (Fig. 3, 4)。

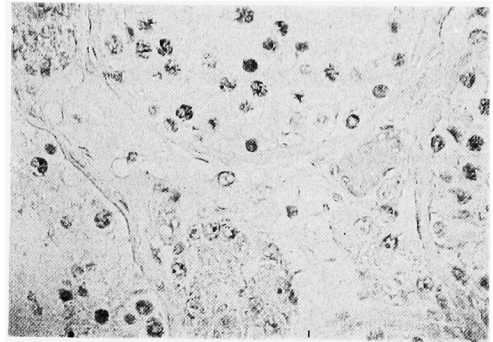


Fig. 3. Johnsen's score 5 の28歳の症例。精細管壁肥厚, Leydig 細胞増加があり, Leydig 細胞の一部だけが抗T抗体で免疫染色された。

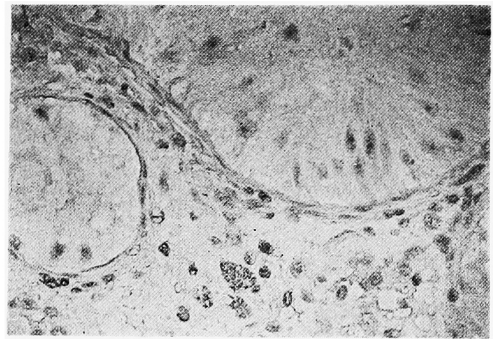


Fig. 4. Johnsen's score 2 の症例 (31歳)。精細管壁肥厚, Leydig 細胞増加がみられる。Leydig 細胞は抗T抗体で免疫染色されたが, Sertoli 細胞は染色されなかった。

Table 3. Testosterone の局在

Johnsen's score	精細管壁肥厚		Test. の局在	
	有	無	Leydig cell	Sertoli cell
1	1	0	1	0
2	8	0	8	0
3	2	0	2	0
4	2	0	2	0
5	3	0	3	0
6	6	1	7	2
7	4	2	6	4
8	5	5	10	8
9	5	3	8	6
計	36	11	47	20

考 察

男子不妊症の原因は種々あるが, ここでは原因不明

の精巣の造精機能異常により精子が減少する、いわゆる特発性男子不妊症を対象とした検討を行った。

臨床で、間接的な造精機能の推測に、精液検査、理学的所見、ホルモン検査が行なわれているが、直接的に、正確に造精機能の変化を知るためには精巣生検が必要である。今回精子濃度、血中 LH, FSH, T 値と精巣生検組織像との関係について調べ、さらに精巣内 FSH, T の局在について検討した。

精巣生検組織像の評価については、諸家の分類⁴⁾があるが、今回各施設でよく用いられ、かつ簡便な Johnsen's score¹⁾を採用した。Johnsen's score は精細胞の成熟度の客観的評価には便利であるが、精細管壁、間質の評価がなされていない点で精巣組織評価として不完全である。そこで、精細管壁肥厚の有無、Leydig 細胞の増加の有無についても調べた。

精子濃度と Johnsen's score との関係

精子濃度と Johnsen's score との関係について、根岸ら⁵⁾は、無精子症例では、score 1 から 9 にわたり広範囲に分布し、約 1/3 の症例が Sertoli 細胞のみの症例であり、さらに乏精子症では score 5 以上であったと報告している。今回の検討の結果は、これとはほぼ同様であった。

Nelson⁶⁾、Pryor⁷⁾ らによれば、無精子症例で精子形成能の良好な症例は、精路閉塞としている。しかし、今回 Johnsen's score 8 および 9 の 5 症例に対し精管造影を行ったが精路閉塞所見はみられなかった。これらの症例では、全例に精細管壁の肥厚が認められ、三宅⁸⁾が述べているように、精細管での栄養障害、精細管通過障害が考えられた。

無精子症と乏精子症とでは、全体として精巣組織上組織破壊の程度の違いがみられた。しかし両者の score の同じものでは精細管壁肥厚の程度、Leydig 細胞の増加の程度に明らかな違いはみられなかった。

血中 LH, FSH, T 値と Johnsen's score との関係

今回の検討では、血中 LH, FSH, T 値の異常は score 4 以下の症例にのみ認められた。score が低値症例では、FSH の上昇が最も多くみられ、続いて LH の上昇がみられる。T 値の低下がみられる症例は最も少ない。ただし、T 値の低下は精細胞の欠如した症例にしか認めず、造精能のかなりの低下を示す組織を有する症例でも、T 値は比較的正常に保たれていた。

血中ホルモン値が異常であれば、score も低値であることが推測される。しかし逆に、score 低値でも、中には血中ホルモン異常値を示さない症例もあった。

精巣内 FSH, T の局在

精子成熟、精子形成には FSH, T が必要である⁹⁾。FSH は直接未熟精子細胞に働き、成熟精子への過程を促進する作用があり、T は Sertoli 細胞に取り込まれ、androgen binding protein と結合して作用を現わすものと考えられている。さらに LH は精巣内 T を一定に保つために Leydig 細胞に働き血中 T 値の調節を行っていると考えられている¹⁰⁾。また、正常では、Leydig 細胞で分泌された T は、濃度差移行より精細管内に入るとされている¹¹⁾。そこで今回、酵素抗体法により精巣組織内 FSH, T の局在について調べてみた。

今回の検討では、正常精巣組織内にも FSH は、組織化学的に同定できなかった。これは、抗体力価が低いためか、あるいは組織標本の固定による影響が考えられたが、いずれであるか不明であった。

畠山によれば³⁾、抗 T 抗体で免疫染色されたのは、Leydig 細胞と一部の Sertoli 細胞だけであったが、今回対照群として剖検症例 5 例の検討では、Leydig 細胞、Sertoli 細胞、一部の精細管壁が染色された。

特発性男子不妊症例の抗 T 抗体による免疫染色では、Leydig 細胞の染色は、染色可能であった 47 例全例で観察された。しかし、Leydig 細胞が増加しているにもかかわらず、Leydig 細胞の染色は対照群と比較して散在性にしか染色されないことにより、Leydig 細胞の質の低下が推測された。また、精細管壁肥厚例では、Sertoli 細胞が染色されない症例がみられ、Leydig 細胞で分泌された T が精細管内に移行しにくいことが示唆された。しかし、精細管壁肥厚の認められた症例にも、Sertoli 細胞が染色された例が 36 例中 9 例にみられ、精細管壁肥厚症例でも精細管内に T が移行することもあり、これは精細管壁の肥厚の程度あるいは通過性の変化によるものと思われた。

結 語

特発性男子不妊症例の造精機能評価を行い、血中ホルモン値と組織学的評価との関係につき検討し、酵素抗体法による精巣組織内 FSH, T の局在との関係について検討を加え、以下の結果を得た。

1. 無精子症では、Johnsen's score 1 から 9 まですく広く分布し、乏精子症では、Johnsen's score 4 以下の症例はみられなかった。

2. score の高いものでも、約 2/3 の症例に精細管壁肥厚、Leydig 細胞の増加がみられた。

3. Johnsen's score 4 以下では、血中 FSH および LH 高値がみられた。血中 T 低値は、score 1 の

2例だけで, LH, FSH 高値例でも, 正常 score のものが多かった。

4. 精細管壁肥厚例あるいは score 低値例では, 精巣内に T が移行しにくいことが示唆された。

本論文の要旨は, 著者の一人山口が第37回日本泌尿器科学会中部総会ラウンド・テーブルディスカッションおよび第6回日本アンドロロジー学会で報告した。

文 献

- 1) Johnsen SG Testicular biopsy score count—a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1: 2-25, 1970
- 2) 渡辺慶一, 中根一穂編集: 改訂版 酵素抗体法. p. 108, 学際企画, 東京, 1985
- 3) 畠山 茂: 人睪丸萎縮の病理. *日病会誌* 73: 3-29, 1984
- 4) 市川篤二, 落合京一郎, 高安久雄監修; 新臨床泌尿器科全書 8A, pp139-141, 金原出版, 東京, 1984
- 5) 根岸壮治, 高木健太郎: ヒトにおける精子形成能—特に睪丸生検所見と妊孕性との関係. *ホと臨床* 22: 719-726, 1974
- 6) Nelson WO: Interpretation of testicular biopsy. *J Amer Med Assoc*, 151: 449-454, 1953
- 7) Pryor JP: Plasma gonadotrophic hormones, testicular biopsy and seminal analysis in the men of infertile marriages. *Brit J Urol* 48: 709-717, 1976
- 8) 三宅弘治: 特発性不妊精巣の病態生理. *臨泌* 42: 105-114, 1988
- 9) Steinberger, E: Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Physiol Rev* 51: 1-22, 1971
- 10) Hasson V, Trygstad, French FS, McLean WS, Smith AA, Tindall DJ, Weddington SC, Perstrusz P, Nayfeh SN and Ritzen EM: Androgen transport and receptor mechanisms in the testis and epididymis. *Nature* 250: 387, 1974
- 11) Morse HC, Horike N, Rowley MJ and Heller CG: Testosterone concentrations in testes of normal men: effects of testosterone propionate administration. *J Clin Endocrinol Metab* 37: 882-886, 1973

(1988年7月12日受付)