

ヒト精巣機能に及ぼす高温環境の影響

大阪大学医学部泌尿器科教室 (主任: 園田孝夫教授)

並木 幹夫, 中村 正広, 奥山 明彦

健康保険組合連合会大阪中央病院 (部長: 藤岡秀樹)

土井 康裕*, 松井 孝之*, 藤末 洋*, 竹山 政美**
藤岡 秀樹

INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE FUNCTION OF THE HUMAN TESTES

Mikio NAMIKI, Masahiro NAKAMURA and Akihito OKUYAMA

From the Department of Urology, Osaka University Medical School
(Director: Prof. T. Sonoda)

Yasuhiro DOI, Takayuki MATSUI, Hiroshi FUJISUE,
Masami TAKEYAMA and Hideki FUJIOKA

From the Department of Urology, Osaka Central Hospital
(Chief: Dr. H. Fujioka)

The influence of temperature on human Leydig and Sertoli cell functions was investigated *in vitro* using the organ culture technique.

Specific ^{125}I -FSH and ^{125}I -hCG binding sites in testes from patients with prostate cancer cultured for 1, 3, 5 or 7 days at 33°C or 37°C were measured and compared. There were no significant differences in ^{125}I -FSH or ^{125}I -hCG binding sites between the two temperature groups at 1 to 7 days of culture.

Testosterone concentration in the medium obtained from testicular organ culture at 33°C did not differ significantly from that at 37°C at 1 to 7 days of culture.

In conclusion, a high temperature may not disturb the Leydig and Sertoli cell functions in a short term.

(Acta Urol. Jpn. 34: 1767-1770, 1988)

Key words: Testicular function, Temperature

緒 言

精索静脈瘤は男子不妊症の一因として知られており^{1,2)}, その造精障害を引き起こす機序としては精巣内温度の上昇, 静脈うっ血による低酸素状態, 副腎静脈よりの障害物質の流入などが推測されてきた^{1,3,4)}. そしておお論争はあるものの, 精巣内温度の上昇が造精障害を引き起こす主な機序と考えられている. 実際陰嚢内温度を上昇させると精子形成が減少することが示され^{5,6)}, 精索静脈瘤患者では陰嚢内温度が上昇していることが報告されている⁷⁾. しかし, 精巣内温度

の上昇がいかに精子形成を障害するのか, すなわち高温が直接的に germ cell に作用するのか, Leydig cell や Sertoli cell 機能を障害することにより間接的に germ cell の分化が障害されるのかは未だ明らかではない.

今回われわれは, ヒト精巣に及ぼす高温環境の影響を精巣器官培養を用いた *in vitro* の実験モデルで検討した.

対象および方法

8例の無治療前立腺癌患者(62~75歳)の去勢術に際し得られた精巣をそれぞれ2群に分け, 1群は33°Cで他群は37°Cで後述する方法で器官培養を7日間行った. 培養開始1, 3, 5および7日後にそれぞれ

*現: 兵庫医科大学泌尿器科学教室

**現: 市立堺病院泌尿器科

精巣組織およびその培養液を集め、精巣組織の ^{125}I -FSH bindings および ^{125}I -hCG bindings 測定および培養液中の testosterone 濃度測定までそれらを -80°C で凍結保存した。

精巣器官培養の方法は Haneji らの方法⁹⁾に従った。すなわち精巣は約 1 mm 立方に細切りし、wire mesh grid に乗せた Millipore filter 上に約 10 片置き、培養液は 10% newborn calf serum を添加した Eagle's minimum essential medium を用い、5% CO_2 と 95% air の humidified atmosphere 中で培養した。7 日間の培養期間中、培養精巣組織の viability が保たれているか確かめるため、至適温度と考えられる 33°C で培養した精巣組織の hCG に対する反応性 (24 時間に培養液中に遊出される progesterone および testosterone で判断) を培養直後、1 日後、3 日後、5 日後、7 日後に検討したが、7 日間 hCG に対する反応性は保たれていた。

精巣組織の ^{125}I -FSH および ^{125}I -hCG bindings の測定はすでに報告した方法⁹⁾に準じて行ったので簡単に述べる。すなわちまず -80°C で凍結していた培養精巣組織を解凍し、ハサミで細切後、teflon-glass homogenizer で homogenize し、ナイロンメッシ

ュ (No. 60) を通した後、10,000 g で 30 分間遠心した。続いて沈渣を 0.01 M phosphate buffered saline (PBS) ~ 0.1% bovine serum albumin (BSA) (pH 7.5) にて suspend し、 ^{125}I -FSH bindings 測定の場合はその 10 mg 組織相当を約 50,000 cpm の ^{125}I -human FSH と、 ^{125}I hCG bindings 測定の場合は 20 mg 組織相当を約 100,000 cpm の ^{125}I -hCG と混合、final volume は 500 μl とし 25°C で 20 時間 incubate した。incubation 終了後 3 ml の buffer を加えて反応を止め、bound hormone と free hormone を 10,000 g、10 分間遠心にて分離した。沈渣の放射活性を測定し、total binding とした。non-specific binding は上記 incubation を 200 倍量の human menopausal gonadotropin (^{125}I -FSH bindings 測定の場合) または hCG (^{125}I -hCG bindings 測定の場合) を加えて行うことにより決定した。total binding より non-specific binding を差し引いた specific binding を求めた。

結 果

33°C および 37°C で器官培養された精巣組織の ^{125}I -FSH bindings および ^{125}I -hCG bindings をそ

Table 1. The influence of temperature on the specific ^{125}I -FSH binding to cultured testis

Duration of culture (day)	^{125}I -FSH binding to testicular tissue (cpm/10mg wet tissue)	
	cultured at 33°C	cultured at 37°C
1	2282 $\pm$ 144	2102 $\pm$ 151
3	2321 $\pm$ 200	2330 $\pm$ 181
5	2387 $\pm$ 202	2402 $\pm$ 197
7	2227 $\pm$ 207	2156 $\pm$ 207

Values are mean $\pm$ SE of 8 different experiments.
There are no statistical differences between 2 groups at indicated days (t-test was used).

Table 2. The influence of temperature on the specific ^{125}I -hCG binding to cultured testis

Duration of culture (day)	^{125}I -hCG binding to testicular tissue (cpm/20mg wet tissue)	
	cultured at 33°C	cultured at 37°C
1	2451 $\pm$ 208	2610 $\pm$ 125
3	2310 $\pm$ 188	2320 $\pm$ 138
5	2077 $\pm$ 172	2010 $\pm$ 188
7	2122 $\pm$ 177	2187 $\pm$ 167

Values are mean $\pm$ SE of 8 different experiments.
There are no statistical differences between 2 groups at indicated days (t-test was used).

Table 3. The influence of temperature on testosterone production in testicular organ culture.

Duration of culture (day)	Testosterone produced by cultured testis (ng/mg wet tissue·ml medium)	
	cultured at 33°C	cultured at 37°C
1	1.05±0.17	1.05±0.19
3	2.48±0.66	2.26±0.67
5	3.55±0.88	3.01±0.60
7	5.05±0.77	5.01±0.66

Values are mean±SE of 8 different experiments.
There are no statistical differences between 2 groups at indicated days (t-test was used).

れぞれ Table 1 および Table 2 に示した。7日間の培養においては ^{125}I -FSH bindings および ^{125}I -hCG bindings は 33°C で培養した場合と 37°C で培養した場合で有意差を認めなかった (Student's t-test)。

33°C および 37°C で器官培養した際の、それぞれの培養液中の testosterone 濃度を培養組織量当たりで表したものを Table 3 に示した。7日間の培養において、培養精巣より遊出される testosterone は 33°C で培養した場合と 37°C で培養した場合で有意差を認めなかった (Student's t-test)。

考 察

男子不妊症の一因である精索静脈瘤を有する患者の陰嚢内温度が正常人の陰嚢内温度より上昇している事実や⁷⁾、高熱を伴う疾患の後や高温環境での仕事に従事する人に造精障害が高頻度に認められること⁵⁾などより、精巣内温度の上昇と造精障害が密に関係していることは明らかであり、実験的にも精巣温度と精巣機能に関する研究が多く行われてきた¹⁰⁻¹²⁾。しかし精巣温度の上昇がいかに精子形成を障害するのか、すなわち高温が直接的に germ cell に作用するのか、Leydig cell や Sertoli cell 機能を障害することにより2次的に germ cell の分化が障害されるのかは未だ不明である。われわれは精巣器官培養が *in vivo* と似た状況を作り得ることを報告し¹³⁾、さらにこの方法を用いて高温環境では ^3H -thymidine の germ cell への取り込みが低下することを証明したが¹⁴⁾、今回の実験ではやはり精巣器官培養を用いて、高温環境がヒト精巣の Leydig cell および Sertoli cell におよぼす影響について検討した。Leydig cell 機能の評価としては Leydig cell に特異的な hCG receptor と testosterone 産生につき、精巣機能にとって至適温度と考えられる 33°C と高温と考えられる 37°C で比較した。Sertoli cell 機能の評価法としては an-

drogen binding protein, plasminogen activator, cyclic adenosine monophosphate や lactate などの産生などで検討することが可能であるが、今回の実験ではヒト精巣 Sertoli cell に特異的に存在する¹⁵⁾ FSH receptor で高温の影響を検討した。

7日間の器官培養では培養精巣組織の Leydig cell 機能 (^{125}I -hCG bindings および testosterone production) および Sertoli cell 機能 (^{125}I -FSH bindings) とともに至適温度 (33°C) および高温環境 (37°C) で差異を認めなかった。7日間という短かい期間で高温環境の影響を必ずしも評価できないかもしれないが、22時間の培養で ^3H -thymidine の germ cell への取り込みが高温環境では著明に低下する事実¹⁴⁾より、少なくとも短期間においては高温環境は Leydig cell 機能や Sertoli cell 機能に影響をおよぼすことなく、germ cell の分化を直接的に障害することが判明した。これらの結果は *in vivo* での結果¹⁶⁾、すなわち精索静脈瘤患者の精巣組織の FSH receptor, hCG receptor, testosterone content が control と差異がないという結果と一致する。

今後は長期にわたる同様の実験や、幅広い温度を設定した上での実験により精巣機能と精巣温度との関係がより明らかにできると考えられる。またこれらの実験結果の分析は男子不妊症の治療¹⁷⁾や避妊法の開発¹⁸⁾などの臨床的応用にて有用と考えられる。

結 語

(1) 8例の無治療前立腺癌患者の精巣を用い、33°C および 37°C で7日間器官培養した際の精巣組織 ^{125}I -hCG bindings, ^{125}I -FSH bindings および培養液中で遊出される testosterone 濃度を両群間で比較した。

(2) 33°C で培養した群と 37°C で培養した群間で精巣組織 ^{125}I -hCG bindings, ^{125}I -FSH bindings および培養液中 testosterone 濃度は、いずれも有意

差を認めなかった。

(3) 以上の結果より、短期間の精巣器官培養においてはヒト精巢 Leydig cell および Sertoli cell 機能は障害されないことが判明した。

稿を終えるに当たり、human FSH を御提供頂いた National Pituitary Program の Dr Raiti に謝意を表します、本論文の要旨は第59回日本内分泌学会学術総会（於：仙台）で発表した。

文 献

- 1) Netto NR Jr: Varicocele. In Aspects of Male Infertility (Edited by White, B.C.) pp. 70-88, Williams & Wilkins, Baltimore, 1984
- 2) Cockett ATK, Takihara H and Cosentino MJ: The varicocele. *Fertil Steril* **41**: 5-11, 1984
- 3) Verstoppen GR and Steeno OP: Varicocele and the pathogenesis of the associated subfertility: a review of the various theories; theories concerning the deleterious effects of varicocele on fertility. *andrologia* **10**: 85-102, 1978
- 4) Nistal M and Piniagus R: Vascular disorders of the testis. In Testicular and Epididymal Pathology (Edited by Nistal, M. and Piniagua, R.) pp. 201-226, Thieme-Stratton, New York, 1984
- 5) Procope BJ: Effect of repeated increase of body temperature on human sperm cells. *Int J Fertil* **10**: 333-339, 1965
- 6) Robinson D, Rock J and Menkin MF: Control of human spermatogenesis by induced changes of intrascrotal temperature. *JAMA* **204**: 290-297, 1968
- 7) Zorngiotti AW and Macleod J: Studies in temperature, human semen quality, and varicocele. *Fertil Steril* **24**: 854-863, 1973
- 8) Haneji T, Maekawa M and Nishimune Y: Etionic acid (vitamin A acid) induces spermatogenesis in adult mouse cryptorchid testis in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* **108**: 1320-1324, 1982
- 9) Namiki M, Koide T, Okuyama A, Sonoda T, Itatani H, Miyake A, Aono T, Terada N and Matsumono K: Abnormality of testicular FSH receptors in infertile men. *Acta Endocrinol (Copenh)* **106**: 548-555, 1984
- 10) Hagenas L, Ritzen EM, Stenvensson J, Hansson V and Purvis K: Temperature dependence of Sertoli cell function. *Int J Androl (Suppl 2)*: 449-458, 1978
- 11) Munebi AK, Cassorla FG, D'Agata R, Altertson BD, Loriaux DL and Lipsett MB: The effects of temperature on the activity of testicular steroidogenic enzymes. *Steroids* **43**: 325-331, 1984
- 12) Hall PF, Kew D and Mita M: Influence of temperature on the functions of cultured Sertoli cells. *Endocrinology* **116**: 1926-1932, 1985
- 13) Namiki M, Nakamura M, Okuyama A, Sonoda T, Itatani H, Sugano H, Sakurai T, Nishimune Y and Matsumoto K: Reduction of human and rat testicular follicle stimulating hormone receptors by human menopausal gonadotropin in vivo and in vitro. *Clin Endocrinol (Oxf)* **26**: 675-684, 1987
- 14) Nakamura M, Namiki M, Okuyama A, Matsui T, Doi Y, Takeyama M, Fujioka H, Nishimune Y, Matsumoto K and Sonoda T: Temperature sensitivity of human spermatogonia and spermatocytes in vitro. *Arch Androl (in press)*
- 15) Walstrom T, Huhtaniemi I, Hovatta O and Seppälä M: Localization of luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, prolactin, and their receptors in human and rat testis using immunohistochemistry and radioreceptor assay. *J Clin Endocrinol Metab* **57**: 825-830, 1983
- 16) Namiki M, Nakamura M, Okuyama A, Sonoda T, Nishimune Y, Takatsuka D and Matsumoto K: Influence of temperature on the function of Sertoli and Leydig cells of human testes. *Fertil Steril* **47**: 475-480, 1987
- 17) Mulcahy JJ: Scrotal hypothermia and the infertile man. *J Urol* **132**: 469-470, 1984
- 18) Miesusset R, Grandjean H, Mansat A and Pontonnier E: Inhibiting effect of artificial cryptorchidism on spermatogenesis. *Fertil Steril* **43**: 489-594, 1985

(1987年12月7日受付)