

精 巢 下 降 の 分 子 生 物 学

生 野 猛*

北九州市立医療センター小児外科

MOLECULAR AND ANATOMICAL STUDIES
OF TESTICULAR DESCENT

Takeshi SHONO

The Department of Pediatric Surgery, Kitakyushu Municipal Hospital

The mechanism of testicular descent is multifactorial, and the process is known to occur in two steps accompanied by different anatomies and hormonal regulation. In the first step, the testis descends from the lower pole of the kidney to the pelvic cavity near the bladder neck as a result of the swelling reaction of the gubernaculum. Next, in the second step, the testis descends into the scrotum through the inguinal canal via the gubernacular migration. The first step is androgen-independent, whereas the second step depends on the androgen action. Recently, several molecular studies on testicular descent have been reported. Several factors, such as androgen, calcitonin gene-related peptide (CGRP), epidermal growth factor (EGF), Hoxa-10 and insulin-like factor 3 (INSL3) have been suggested to be possible regulators of testicular descent. Because cryptorchidism has been frequently shown in androgen-insensitive human and mice (TFM-mice), androgen has been thought to play an important role in testicular descent. CGRP, which is released from the genitofemoral nerve, has been suggested to mediate the inguinoscrotal testicular descent. The epidermal growth factor (EGF) may promote both testosterone-induced wolffian duct differentiation and testicular descent by activating the androgen responsive systems. In male mice, a targeted disruption of the HOXA 10 gene causes cryptorchidism and the cryptorchid testes in these mutant mice are located in the lower abdominal cavity, whereas the cryptorchid testes in male mice lacking the INSL3 gene or its receptor Lgr8 were located in the abdominal cavity high. Recently, estrogens or environmental endocrine disruptors have also been suspected to induce a down-regulated INSL3 expression and thus disturb testicular descent.

(Hinyokika Kiyo 53 : 505-508, 2007)

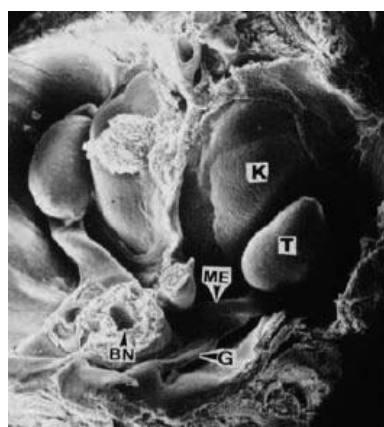
Key words : Testicular descent, EGF, HOXA10, INSL31. 精巢下降の二相性機序と
分子生物学的背景

精巢下降に関する研究の歴史は古い。18世紀の半ばに John Hunter は胎児の精巢導帯“gubernaculum”が精巢下降の“舵”の役目をしているとした。1932年 Engle はサルの下垂体からの抽出物質が精巢下降を促進することを発見し、精巢下降に男性ホルモンが関与していることを指摘した¹⁾。1985年 Hutson は精巢下降の二相性機序を提唱しそれぞれ異なるホルモンと解剖学的要素が関与していると報告している²⁾。未分化生殖腺から分化した胎児精巢が尿生殖隆起から鼠径部まで下降するのが第一相であり、ヒトでは胎生10~15週の間に、ラットやマウスなどの齧歯類では胎生の後期に見られる。第一相の胎生10~15週の間に、胎児の腰部は急速に発達し腎臓や卵巣が骨盤内から腹腔内に移動するが、精巢は gubernaculum により鼠径部に係留

された状態を維持しているため第一相は相対的な精巢下降と考えられている³⁾ (Fig. 1)。この間 gubernaculum を刺激して発達を促し、精巢を鼠径部に係留させる物質として古くからミューラー管阻止物質 (mullerian inhibiting substance: MIS) が指摘されてきたが、近年 MIS と同じく胎児精巢から分泌される insl3 が精巢下降の第一相に働く有力なホルモンと考えられている。その理由として、1) INSL3 遺伝子を欠損したマウスでは腹腔内の精巢下降が障害され腹腔内停留精巢が発生する、2) 逆に INSL3 遺伝子を過剰発現した雌マウスでは精巢導帯が発達し卵巣が精巢と同じように下降するなどの報告がある^{4,5)}。また INSL3 はアンドロゲンや HOXA10 とは独立して精巢下降に関与しているものと考えられている⁶⁾。

精巢下降の第二相は鼠径部から陰嚢内への移動であり、gubernaculum の migration に誘導される。ヒトでは胎生24週頃に始まり38週頃に完了するが、ラットやマウスでは出生直前に始まり生後2~3週の間に精巢は陰嚢底まで下降する。精巢下降に先立ち

* 現 : 佐賀県立病院小児外科



A



B

Fig. 1. 走査電顕で見たマウス胎仔：A：（妊娠14日目の雄胎仔）初期の精巣は腎臓とともに骨盤内の膀胱頸部付近に位置している。未発達の中腎と精巣導帯を認める。B：（妊娠18日目の雄胎仔）精巣は肥大した精巣導帯により骨盤内の膀胱頸部付近に固定されたままであるが腎臓は高位に上昇している。T (PT)；精巣，K；腎臓，BN；膀胱頸部，G；精巣導帯，ME；中腎（文献3より引用）。

gubernaculum は鼠径部から陰嚢へ向けて肥大し遊走するが、その中に反転した腹膜により腹膜鞘状突起が形成され精巣を陰嚢内へ誘導する⁷⁾。この第二相にはアンドロゲンの作用が重要と考えられている。その理由としてアンドロゲン受容体に異常を有する TFM マウスやヒトおよび抗アンドロゲン製剤を投与したラットでは選択的に精巣下降の第二相が障害され停留精巣は下腹部または鼠径上部に留まる^{8,9)}。一方、幼弱ラットの陰部大腿神経を切断すると停留精巣が発生することについては古くから知られているが、Hutson らはアンドロゲンの刺激により陰部大腿神経から分泌された CGRP が gubernaculum の遊走運動を活性化し精巣下降を誘導するとしている¹⁰⁾。アンドロゲンの精巣下降に及ぼす作用機序には不明な点もあるが精巣に直接的に作用するのではなく、陰部大腿神経を介

した間接的な作用もその1つと考えられている。その他、鼠径部精巣下降に対するアンドロゲンの作用として胎児精巣を頭側より支持する cranial suspensory ligament (CSL) を退縮させ鼠径部から陰嚢内への下降を促す作用がある。一方、HOXA10 ノックアウトマウスでは脊椎、生殖器官の発生異常に加えて停留精巣が合併することが報告されている^{11,12)}。このマウスでは精巣下降の第二相をコントロールする陰部大腿神経の脊髓核が存在する Th11～L2 に異常が発生するが、HOXA10 遺伝子は精巣下降の臨界期に一致して精巣導帯にも発現していることから、HOXA10 は陰部大腿神経と精巣導帯の発達を介して精巣下降の第二相に関与しているものと思われる¹²⁾。一方、上皮成長因子 (EGF) 欠乏胎仔マウスでは精巣上体の異常と出生後に鼠径部停留精巣が見られる。EGF は胎盤からのゴナドトロピン放出を促すとともにアンドロゲン受容体を活性化して胎児の精巣下降を促進しウオルフ管の分化を促すと考えられている^{13,14)}。最近、Kurokawa ら¹⁵⁾は EGF ラットを用いた実験で停留精巣に対する精巣固定術後の生殖細胞の発達に EGF が重要な役割を果たすと報告しており今後、臨床への応用が期待される。

2. 精巣下降と内分泌攪乱物質の影響

近年、内分泌攪乱物質がヒトや動物の生殖器官の発達を抑制する報告が多くなされているが、われわれはこれまで内分泌攪乱物質の1つであるフタル酸エステルがラット胎子の精巣下降を抑制して停留精巣を引き起こすことを報告してきた¹⁶⁾。精巣下降の臨界期にフタル酸エステルを投与されたラット胎子では精巣導帯の発達と腹腔内精巣下降が抑制され出生後に腹腔内停留精巣が発生する (Fig. 2)。フタル酸エステルが腹腔内精巣下降を選択的に抑制することから、精巣下降責任遺伝子として最も注目されている INSL3 とフタル酸エステルとの関連性について検討した¹⁷⁾。妊娠ラットにモノブチルフタル酸 (mono-n-butyl phthalate) の1%混合飼料を妊娠15～18日まで4日間投与し、妊娠19日に取り出した雄胎仔の腹腔内精巣下降度を調べた。その結果、妊娠19日目の胎仔精巣の腹腔内精巣下降度はフタル酸エステル投与群がコントロール群に比べ有意に減少していた。また RT-PCR 法を用いて妊娠19日目の胎仔精巣内の Insl-3 mRNA の発現を確認した結果、Insl-3 mRNA の発現もフタル酸エステル投与群はコントロール群に比べ有意に減少していた。さらにフタル酸エステル投与群では胎仔ラットの精巣導帯の発達が著しく障害されていたことよりフタル酸エステルは胎仔精巣の INSL3 の発現を抑制することにより、精巣導帯の発達と腹腔内精巣下降を障害し停留精巣の発生に強く関与していることが

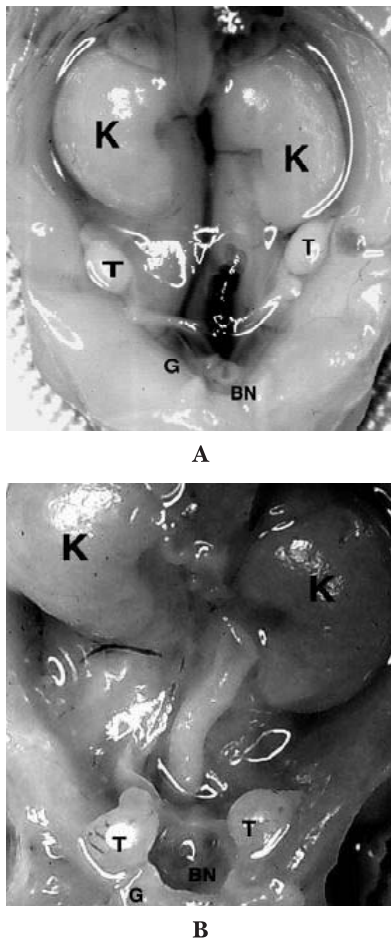


Fig. 2. 妊娠19日目のラット雄胎子：A：フタル酸エステル投与ラット。精巣導帯は薄弱で延長し精巣は腹腔内高位で腎下極付近に位置している。B：コントロールラット。精巣は肥大した精巣導帯により骨盤内の膀胱頸部付近に係留されている。T；精巣，K；腎臓，BN；膀胱頸部，G；精巣導帯（文献17より引用）。

示唆された。同様の報告は Wilson らもジエチルヘチルフタル酸エステルがラット胎子の INSL3 の発現を抑制することを報告している¹⁸⁾。

近年、分子生物学の進歩に伴い HOXA10 や INSL3 などが可能性のある精巣下降責任遺伝子として報告されてきたが、ヒトの停留精巣症例において必ずしもこれらの遺伝子に健常人と比較して有意な異常は認められていない^{19, 20)}。停留精巣の発生原因は多面的であり種々の因子が複合的に作用しているものと考えられるが、生後に遺伝子異常の見られない症例も胎児の精巣下降の臨界期に精巣下降責任遺伝子の発現を一過性に抑制する外因子があれば停留精巣が発生する可能性は残るであろう。

文 献

- 1) Engle ET: Experimentally induced descent of testis in the Macacus monkey by hormones from anterior

- pituitary and pregnancy urine. *Endocrinol* **16**: 513-520, 1932
- 2) Hutson JM: A biphasic model for the hormonal control of testicular descent. *Lancet* **2**: 419-421, 1985
- 3) Shono T, Ram-Anderson S and Hutson JM: Transabdominal testicular descent is really ovarian ascent. *J Urol* **152**: 781-784, 1994
- 4) Zimmermann S, Steding G, Emmen JM, et al.: Targeted disruption of the INSL3 gene causes bilateral cryptorchidism. *Mol Endocrinol* **13**: 681-691, 1999
- 5) Adham IM, Steding G, Thamm T, et al.: The over expression of the insl3 in female mice causes descent of the ovaries. *Mol Endocrinol* **16**: 244-252, 2002
- 6) Feng S, Bogatcheva NV, Truong A, et al.: Over expression of insulin-like 3 does not prevent cryptorchidism in GNRHR or HOXA10 deficient mice. *J Urol* **176**: 399-404, 2006
- 7) Backhouse KM: Embryology of testicular descent and maldescent. *Urol Clin North Am* **9**: 315-325, 1982
- 8) Hutson JM: Testicular feminization: a model for testicular descent in mice and men. *J Pediatr Surg* **21**: 195-198, 1986
- 9) Shono T, Ram-Anderson S, Goh DW, et al.: The effect of flutamide on testicular descent in rats examined by scanning electron microscopy. *J Pediatr Surg* **29**: 839-844, 1994
- 10) Larkins SL, Hutson JM and Williams MPL: Localization of calcitonin gene-related peptide immunoreactivity within the spinal nucleus of the genitofemoral nerve. *Pediatr Surg Int* **6**: 176-179, 1991
- 11) Satokata I, Benson G and Maas R: Sexually dimorphic sterility phenotype in Hoxa10-deficient mice. *Nature* **374**: 460-463, 1995
- 12) Podlasek CA, Seo RM, Clemens JQ, et al.: HOXA10 deficient male mice exhibit abnormal development of the accessory sex organs. *Dev Dyn* **214**: 1-12, 1999
- 13) Cain MP, Kramer SA, Tindall DJ, et al.: Epidermal growth factor reverses antiandrogen induced cryptorchidism and epididymal development. *J Urol* **152**: 770-773, 1994
- 14) Gupta C and Singh M: Stimulation of epidermal growth factor gene expression during the fetal mouse reproductive tract differentiation: Role of androgen and its receptor. *Endocrinol* **137**: 705-711, 1996
- 15) Kurokawa S, Kojima Y, Mizuno K, et al.: Effect of epidermal growth factor on spermatogenesis in the cryptorchid rat. *J Urol* **174**: 2415-2419, 2005
- 16) Imajima T, Shono T, Zakaria O, et al.: Prenatal phthalate causes cryptorchidism postnatally by inducing transabdominal ascent of the testis in fetal rats. *J Pediatr Surg* **32**: 18-21, 1997

- 17) Shono T, Shima Y, Kondo T, et al.: In utero exposure to mono-N-butyl phthalate impairs insulin-like factor 3 gene expression and the transabdominal phase of testicular descent in fetal rats. *J Pediatr Surg* **40**: 1861-1864, 2005
- 18) Wilson VS, Lambright C, Furr J, et al.: Phthalate ester-induced gubernacular lesions are associated with reduced insl3 gene expression in the fetal rat testis. *Toxicol Lett* **146**: 207-215, 2004
- 19) Baker LA, Nef S, Nguyen MT, et al.: The insulin-3 gene: lack of a genetic basis for human cryptorchidism. *J Urol* **167**: 2534-2537, 2002
- 20) Kolon TF, Wiener JS, Lewitton M, et al.: Analysis of Homeobox gene Hoxa10 mutations in cryptorchidism. *J Urol* **161**: 275-280, 1999

(Received on March 1, 2007)
(Accepted on March 15, 2007)