

精子形成障害の内分泌学的背景

—ライディヒおよびセルトリ細胞機能の
in vivo および *in vitro* での評価—

大阪大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 園田孝夫教授)

奥山 明彦, 野々村祝夫, 中村 正広

並 木 幹 夫, 松 田 稔

健康保健組合連合会大阪中央病院泌尿器科 (部長: 藤岡秀樹)

土井 康裕*, 松井 孝之*, 高 栄哲

近藤 宣幸, 竹山 政美**, 藤岡 秀樹

ENDOCRINOLOGICAL PROFILE OF HUMAN SPERMATOGENIC IMPAIRMENT

—EVALUATION OF FUNCTION OF LEYDIG AND SERTOLI
CELLS IN *IN VIVO* OR *IN VITRO* STUDIES—

Akihiko OKUYAMA, Norio NONOMURA, Masahiro NAKAMURA,
Mikio NAMIKI and Minoru MATSUDA

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

Yasuhiro DOR, Takayuki MATSUI, Eitetsu KOH,
Nobuyuki KONDOH, Masami TAKEYAMA and Hideki FUJIOKA

From the Department of Urology, Kenkohoken-kumiai-rengokai Osaka Central Hospital
(Chief: H. Fujioka)

In vivo and *in vitro* studies were performed to determine the function of Leydig and Sertoli cells of the human testis with various degrees of spermatogenic impairment. The increases in basal and peak serum levels of luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) after LH-RH administration correlated with the degree of impairment of spermatogenesis, and the basal peripheral blood levels of testosterone and that after human chorionic gonadotropin (hCG) administration for patients with moderate or severe impairment were significantly lower than the values for those with mild impairment. The concentration of testosterone in the internal spermatic vein of varicocele patients with or without hCG treatment did not differ between in mild and moderate impairment. In studies on cultured Sertoli cells, the production rate of plasminogen activator in patients with severe impairment was significantly lower than that in patients with moderate or mild impairment. The decrease in testicular high-affinity binding site for FSH correlated with the degree of hypospermatogenesis found in idiopathic male infertility, but, on the contrary, the hCG (LH) receptors showed no correlation with the degree of impairment of spermatogenesis. In the investigation of the relationship between testicular FSH receptors and the effectiveness of human menopausal gonadotropin (hMG)-hCG treatment on idiopathic male infertility, the presence or absence of testicular FSH receptors predicted the responsiveness to the treatment.

(Acta Urol. Jpn. 34: 1943-1948, 1988)

Key words: Spermatogenic impairment, Endocrinology, Leydig cell, Sertoli cell

* 現兵庫医科大学泌尿器科

** 現市立堺病院泌尿器科

緒 言

精子形成には間脳下垂体精巣系と称される内分泌臓器相互間の調節機序が関与していることは周知である。具体的には LH がライディヒ細胞に作用することによりテストステロン (T.) を産生する。また FSH はセルトリ細胞に作用しアンドロゲン結合蛋白やトランスフェリン、プラスミノゲンアクティベーター (PA) など、胚細胞の分化成熟に不可欠である各種タンパクの産生分泌を行うが、前述の T. もまた直接セルトリ細胞に取り込まれ精子形成に関与していることが動物実験から知られている。ヒトにおいても精子形成にこの 2 種類の支持栄養細胞の正常な機能が要求されることは高度の障害を呈するクラインフェルター症候群や両側停留精巣例において高 LH、FSH 値をみることから明白であるが、具体的にさまざまな程度の精子形成障害を有する症例の細胞機能を正しく観察評価し、妊娠能の予後を決定することは意外と困難である。精子形成障害とライディヒ、セルトリ両細胞機能との関係をまず非侵襲的な末梢血中ホルモン値より追求し、続いて内精静脈血中 T. を測定、培養セルトリ細胞を用いて PA 産生能を求め、また微量組織による hCG (LH)、FSH 両受容体の測定結果をそれぞれ簡略に紹介し、最後に受容体の有無と内分泌療法に対する治療効果との関係をつけ加える。

対象および方法

対象

対象は1979年より1987年までの8年間に不妊を主訴として大阪大学泌尿器科および健康保険組合連合会大阪中央病院泌尿器科を受診した患者のうち、都合3回の精液検査の平均値から精子濃度4,000万以下の乏精子症と判定されたもののうち、既往や理学的所見などから特発性不妊症の範疇に含まれるもの220例、左側精索静脈瘤58例、また無精子症を呈し末梢血染色体所見から47,XXY クラインフェルター症候群と診断された16例を対象とした。

ホルモン測定および精巣生検術

全例に対して空腹安静下に肘静脈より採血し、血中 LH、FSH、プロラクチン (PRL)、テストステロン (T.)、エストラジオール (E₂) を 2~3 回 RIA にて測定それぞれの平均値を求めたが、PRL 値が 25 ng/ml、E₂ 値が 30 pg/ml 以上のものは当初より対象から除外している。特発性不妊症およびクラインフェルター症候群の全例に対して局所麻酔下に精巣生検術を施行、切除組織はブアン氏液にて固定後 H-E 染色し

精子形成障害の程度を Johnsen のスコアカウントに基づき、精細管中に精子をみとめるスコアカウント 8.0 以上のもの、精母細胞をみとめるスコアカウント 4.0 以上のもの、また 4.0 未満のもの 3 群に分類し軽度障害、中等度障害、高度障害とした¹⁾。また精索静脈瘤に対しては腰椎麻酔下に Palomo 法に基づき内精静脈結紮術を施行、術中精巣側より採血し T. を求め、また両側精巣生検術を行った。

負荷試験

特発性不妊症 61 例また左右精巣の組織学的障害が同程度の精索静脈瘤 19 例に対して LH-RH 負荷試験を、また前者の 20 例、後者 43 例に対して hCG 負荷試験をそれぞれ施行、LH-RH 負荷試験は 100 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 静注法にて、hCG 負荷試験は 10,000 IU/ m^2 1 回筋注後 4 日目に採血し T. を求めた²⁾。精索静脈瘤のうち 17 例に対しては特に手術 4 日前に hCG を負荷し、末梢血中のみならず内精静脈血中の T. を求め hCG 負荷に対する内精静脈血レベルでの反応値とし負荷のないものと比較検討した。

PA の測定方法

精索静脈瘤 12 例の精巣組織 10 mg wet tissue をコラゲネースを含む培養液中で細切し、トリプシン処理と遠沈をくり返すことにより可及セルトリ細胞に富む細胞浮遊液を作成、32.5°C 24 時間の培養後 ¹²⁵I-フィブリン法にて細胞当りの PA 活性を求めたが、培養液中にウシの FSH 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加したもの、およびサイクロヘキマイド 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加したもののそれぞれの PA 活性を測定、前者より後者を差し引いたものを de novo の PA 産生量として Fig. 7 に示した³⁾。

精巣 FSH、hCG 受容体の測定方法

未治療前立腺癌患者の精巣を用いた一連の実験成果から、FSH、hCG とともに総量 30~60 mg wet tissue の微量組織にて測定可能であることが判明した⁴⁾。他誌にて報告済みであるため詳細は割愛するが特発性不妊症 57 例について specific binding の scatchard plot より分析した FSH および hCG の親和定数 (K_a) と最大結合部位数 (B max) をそれぞれ求めた。FSH には親和性の異なる 2 つの結合部位が存在したが生物学的意義が明白な high-affinity binding site を今回の検討対象とした^{4,5)}。

FSH 受容体と治療効果との関係

FSH 受容体測定を行った特発性不妊症 48 症例に対して造精機能の回復を目的として hMG 150 IU、hCG 2,000 IU を毎週 1 回、6 カ月間投与し、治療効果を精子濃度の推移より判定評価した。

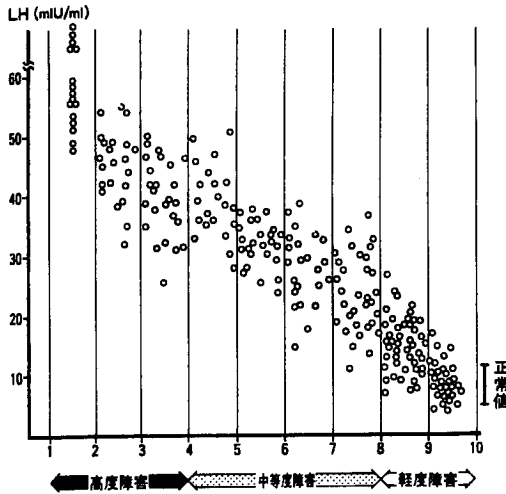


Fig. 1. 精子形成障害と血中 LH との関係 (特発性不妊症およびクラインフェルター症候群 236 例について)

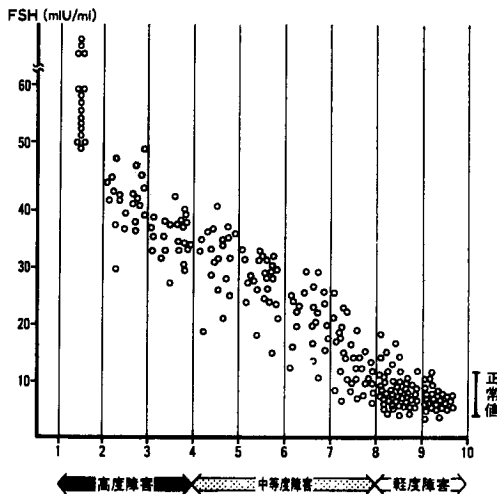


Fig. 2. 精子形成障害と血中 FSH との関係 (特発性不妊症およびクラインフェルター症候群 236 例について)

統計学的な検討には Student t-test, Wilcoxon rank sum test および Wilcoxon single-rank test を用いた。

結 果

1. 精子形成障害と末梢血中ホルモン値

血中 LH, FSH とともに軽度障害群ではそれぞれのほぼ正常値を踏襲するが, スコア 8.0 未満の中等度障害群では障害に伴って漸増を認め, スコア 4.0 未満に

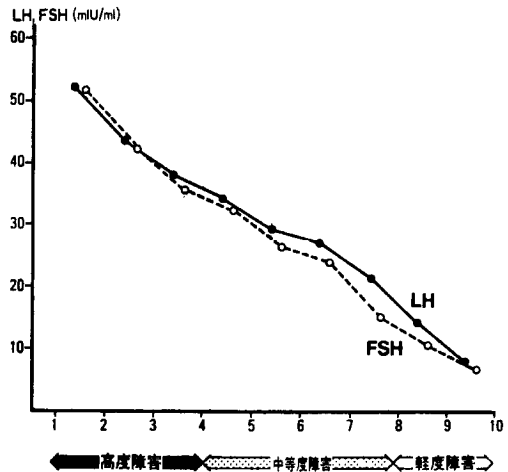


Fig. 3. 精子形成障害と血中 LH・FSH の平均値 (特発性不妊症およびクラインフェルター症候群 236 例について)

なると全例が正常値を上回る。score 2 の 4 例, また score 1 の 12 例はクラインフェルター症候群でありいずれも LH, FSH とともに 40 mIU/ml の高値を呈する (Fig. 1, 2)。

各スコア別の平均値を Fig. 3 に示したが score 6 ぐらいまでは LH の上昇が FSH にやや先行, score 6 以下では両者の増加傾向はほぼ平行する (Fig. 3)。LH-RH 負荷試験における基礎値と反応値を 3 群間で, また hCG 負荷試験については 5 群間で比較検討したが, 前者では群間に明白な有意差を, 後者では score 8 未満で反応値に, 6 未満で基礎値にも有意な低下がみとめられている (Fig. 4, 5)。

2. 精子形成障害と内精静脈血中 T との関係

hCG を負荷したものでは中等度障害群がやや低値であったが有意差は存在しない (Fig. 6)。

3. 精子形成障害と PA 活性との関係

各群の症例数が少ないものの高度障害群では他の 2 群に比較して低値であった (Fig. 7)。

4. 精子形成障害と FSH, hCG 受容体との関係

FSH 受容体の有無については, 軽度障害群では 20 例全例に, 中等度障害では 19 例中 16 例 (84%) に, 高度障害では 18 例中 8 例 (44%) にそれぞれ受容体が存在し障害の進行に伴い受容体欠損例が増加した。また B max の平均値も軽度障害と高度障害の両群間に有意差をみとめた ($P < 0.05$) (Fig. 8)。hCG 受容体は FSH 受容体と相違し, 全例にその存在をみとめ B max 値と障害程度との間に相関性を見出し得なかった (Fig. 9)。

5. FSH 受容体と治療効果との関係

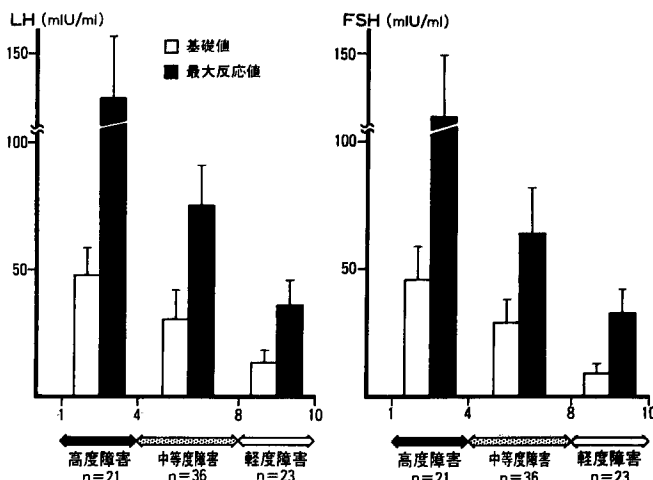


Fig. 4. 精子形成障害と LH-RH 負荷試験との関係 (特発性不妊症および精索静脈瘤80例について)

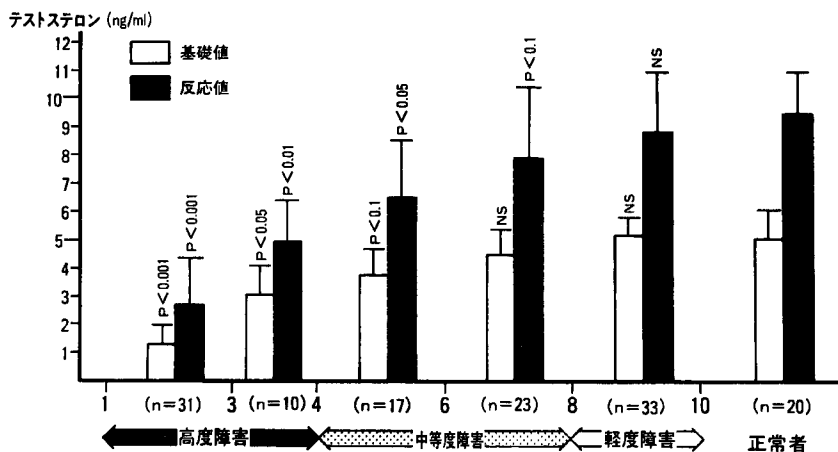


Fig. 5. 精子形成障害と hCG 負荷試験との関係 (特発性不妊症および精索静脈瘤113例について)

受容体を有する 35 例中 24 例 (69%) が hMG-hCG 投与に対して有効であった。また受容体欠損例では 13 例中 1 例 (8%) のみ有効であった (Fig. 10)。

考 察

精子形成障害の程度を末梢血中の LH, FSH 値により非侵襲的に推定する試みはこれまでも検討されており、また FSH の上昇にはじまり障害の顕症化に伴って LH が上昇するといわれている^{6,7)}。LH, FSH はともに変動著明な分泌様式であるため LH, FSH 値を正しく判定評価するには数度にわたり採血して平均値を求めるか、LH-RH 負荷試験による予備能を評価する whichever が要求される。われわれの LH, FSH 値は障害早期にはやや LH が FSH に先んじて上昇し、中等度の障害を呈するようになって

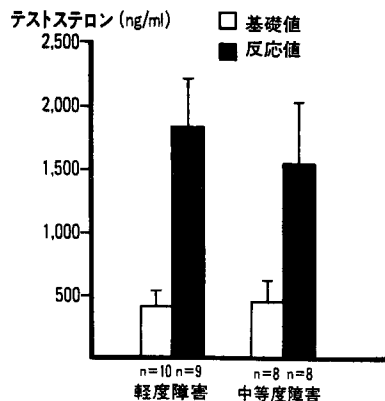


Fig. 6. 内精静脈血中テストステロンの基礎値と hCG 負荷に対する反応値 (精索静脈瘤 32 例について)

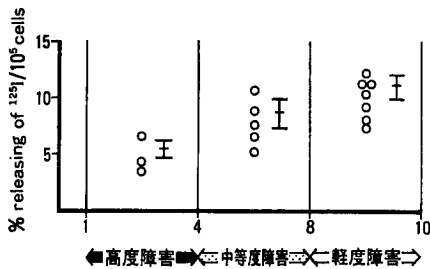


Fig. 7. 精子形成障害とプラスミノゲンアクティベーター活性との関係 (精索静脈瘤12例より得られた培養セルトリ細胞を使用)

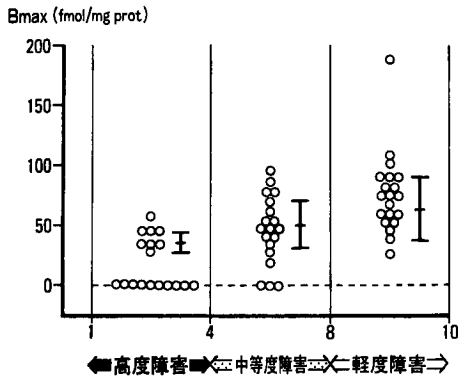


Fig. 8. 精子形成障害と FSH 受容体との関係 (特発性不妊症57例について)

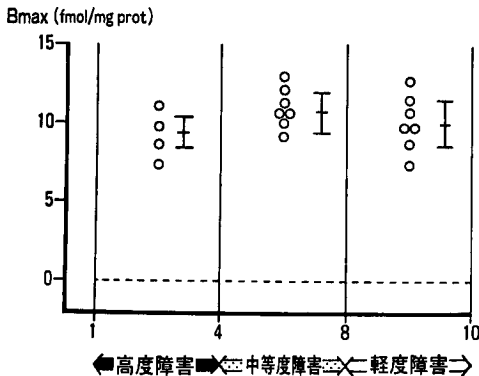


Fig. 9. 精子形成障害と hCG 受容体との関係 (特発性不妊症および精索静脈瘤18例について)

はじめて両者が平行した上昇のパターンを示した。障害の比較的早期に LH の上昇する機序の解釈は hCG 荷重試験の基礎値および反応値, あるいは内精静脈血中 T 値に有意差をみとめないことから困難であるが, 精子形成障害の比較的早期に微細は障害がライディヒ細胞に出現するか, あるいはライディヒ細胞の障害機転がまず発生し, 障害がテストステロンの

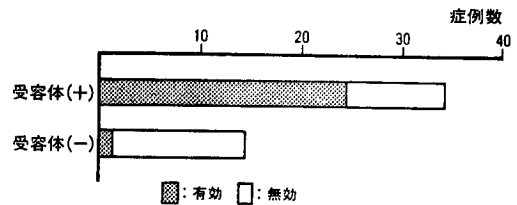


Fig. 10. FSH 受容体の有無と hMG-hCG 療法に対する反応性について (特発性不妊症48例について)

分泌異常を介するか, あるいは他の物質を介した機序により精子形成障害を惹起あるいは促進すると解釈せざるを得ない。または中枢の活性化によるゴナドトロピンの分泌の域値が LH に比較して FSH がやや高いとも解釈される。いずれにせよ障害早期では LH, FSH とともに目立った上昇はなく一般的な光顕レベルでの組織像からも正常者との判別に苦しむのが現状である。この時点では hCG (LH) や FSH の受容体を測定したり, セルトリ細胞の分泌能を PA 活性から求めるなどわれわれが試みた *in vitro* の手技でも著変を見出すことは困難であった。電顕や組織化学および光顕の連続切片を用いた実験成果から比較的早期に精細管壁に形態および機能上の異常所見が出現し, 基底膜を介する物質代謝障害がセルトリ細胞機能を低下させ, また間質の細胞構成に質的な異常が出現しライディヒ細胞機能障害が出現すると解釈すれば, この早期における障害機転が比較的容易に説明可能となる^{7,8)}。さらにパラクラインと称される胚細胞とセルトリ, ライディヒ両細胞三者間の上位中枢を介さない機能調節系がヒト精巣内でも存在すると仮定すると, 胚細胞の機能的障害がまず出現し, つづいてセルトリ, ライディヒ細胞の機能異常が惹起され, 両細胞の機能障害の高度化によってはじめて末梢血中 LH, FSH が上昇するという従来と逆の解釈も導入可能となる⁹⁾。

障害が中等度を越えると末梢血中のホルモン値や精巣組織像から障害程度の評価が容易となり, FSH 受容体濃度の低下や欠損がみられ T 値からライディヒ細胞の分泌予備能低下をみとめる score count 4 未満の高度障害例ではセルトリ細胞が存在しても FSH 受容体の同定は困難となり, また蛋白合成能の異常も PA 活性の低下から推測される。高度障害例では血中 FSH の高度上昇による FSH 受容体の占有といわれる現象も考慮すべきであろうが, 生理量を上回る FSH を外的投与しても占有率が全受容体の 15% にすぎないとする動物実験結果は血中高濃度の FSH

による受容体の占有説を否定する¹⁰⁾。一方 hCG 受容体が FSH のそれとは相違して高度障害群でも維持されていることは興味深い。われわれは細胞培養系ではなく組織蛋白重量当りの受容体濃度を算出した。このため間質の占める相対的な割合が大となる高度障害例では見かけ上の受容体濃度の低下はないものの実質的には低下しているものと推定される。

特発性不妊症では精子形成障害が比較的軽度であっても各種薬剤投与に対する反応性の悪い症例に遭遇する。われわれは微量の精巣組織よりセルトリ細胞の FSH 受容体の同定を試み hMG-hCG 療法に対する反応性を検討評価し、受容体を有するものでは69%の有効率を得た。しかし残る31%の症例では反応がなく、受容体以降核への取り込みや蛋白合成のレベルでの問題、精細管基底膜を介する FSH 移行障害、胚細胞にはじまる機能的障害やセルトリ細胞との関係などが今後に残された課題となる。

結 語

- 1) 特発性不妊症、精索静脈瘤およびクラインフェルター症候群を対象として精巣生検術にて確認された精子形成障害の程度と、末梢血中 LH, FSH, T. との関係、LH-RH 負荷および hCG 負荷に対する反応値との関係を求めた。また内精静脈血中 T. についても検討した。
- 2) セルトリ細胞の細胞培養系を用いて PA 活性を測定し、これをセルトリ細胞の蛋白合成能の指標と考えた。
- 3) 微量精巣組織を用いて hCG (LH), FSH 受容体を測定し、精子形成障害との関係を検討、また受容体の有無と内分泌学的治療効果との関係を求めた。

文 献

- 1) Johnsen SG: Testicular biopsy score count—A method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormone*

- 1: 2-25, 1970
- 2) Okuyama A, Namiki M, Koide T, Itatani H, Mizutani S, Sonoda T, Aono T and Matsumoto: A simple hCG stimulation test for normal and hypogonadal males. *Arch Androl* 6: 75-81, 1981
- 3) Nishimune Y, Sawada K, Maekawa M, Sakamaki K, Okuyama A, Nakamura M, Namiki M, Matsumoto K and Matsuo O: Secretion of plasminogen activator in culture medium of human testicular cells from biopsy specimen in response to follicle-stimulating hormone. *J Androl*: in press.
- 4) 並木幹夫, 中村正広, 奥山明彦, 関田孝夫: 精巣のゴナドトロピンレセプター。ホルモンと臨床 34: 1131-1134, 1986
- 5) Namiki M, Nakamura M, Okuyama A, Itatani H, Sonoda T and Matsumoto K: Testicular follicle stimulating hormone receptors and effectiveness of human menopausal gonadotropin-human chorionic gonadotropin treatment in infertile men. *Clin Endocrinol* 25: 495-500, 1986
- 6) 伊藤晴夫, 川村健二, 片海善吾, 角谷秀典, 布施秀樹, 皆川秀夫, 島崎 淳: 男子不妊症の内分泌学的研究 I. 精子数と血中ホルモンの関係。日不妊会誌 29: 294-300, 1984
- 7) 三宅弘治, 欄 芳郎, 佐橋正之: 精巣生検よりみた特発性男子不妊症。泌尿紀要 29: 991-1004, 1983
- 8) 三宅弘治: 特発性不妊症の病態生理。臨泌 42: 105-114, 1988
- 9) Risbridger GP, Kerr JB, Peake RA and de Kretser DM: An assessment of Leydig cell function after bilateral efferent duct ligation: further evidence for local control of Leydig cell function. *Endocrinology* 109: 1234-1241, 1981
- 10) Chen Y-DI and Payne AH: Regulation of testicular LH receptors by homologous hormone: In vivo studies on receptor occupancy and receptor loss. *Biochem Biophys Res Commun* 74: 1589-1596, 1977

(1988年7月12日受付)