Morphological Study on the Hypoplastic Testis with Aplasia of the Epididymis, Ductus Deferens, and Gland of the Ductus Deferens in the TW Inbred Rat

Chiyo AJISAWA, Hiroshi IKADAI and Tomonori IMAMICHI.

*Imamichi Institute for Animal Reproduction, 3-100
Nissin-cho, Omiya-shi, 330 Japan*

(Received 12 October 1984/Accepted 5 December 1984)

In the TW inbred rat, about 50% of the males show bilateral or unilateral testicular hypoplasia with aplasia of the ipsilateral epididymis, ductus deferens and gland of the ductus deferens. To investigate the pathogenesis of the testicular abnormality in the TW rats, the weight and morphology of the testes on the aplastic and normal side were studied between one week and one year of age. The weight of the testes on the affected side was greater than those on the normal side at four and five weeks. However, it rose to a plateau at six weeks and then remained at about one half to one third the weight of a normal testis. As for the testicular histology, there were no obvious changes from one day to three weeks of age. The diameter of the seminiferous tubules became larger and the number of germ cells decreased at four and five weeks. At six weeks, degeneration and loss of germ cells were observed and many multinucleated giant cells appeared. Thereafter, the loss of germ cells became more severe, and they eventually disappeared with increasing age, but Sertoli's cells continued to exist. In the interstitial area, edematous changes and proliferation of Leydig's cells were observed. The efferent duct of another strain, with normal testes, was ligated at three weeks of age, and changes of the testis after the operation were examined to investigate whether or not these anomalies of the TW strain were due to the absence of the accessories, which may block the excretion of the testicular fluid. The weight of the ligated testis increased at one and three weeks and decreased at six and 12 weeks after the operation. The number of germ cells had decreased after one week. Degeneration and loss of germ cells were observed, and giant cells appeared after three and six weeks. Most of the seminiferous tubules decreased in size, and the germ cell layers disappeared after 12 weeks. Edema and proliferation of Leydig's cells were also observed in the interstitial area. These results indicate that testicular anomalies of the TW strain can be attributed to the blockage of testicular fluid excretion by the absence of the accessories.

Wolff 氏管由来臓器の欠損を伴う精巣異常系ラット (TW) の精巣組織像の変化

味 沢 千 代・筏 井 洋・今 道 友 則

動物繁殖研究所

TW 系ラットは、動物繁殖研究所で育種繁殖されている Wistar-Imamichi 系ラットから分離され、兄妹交配により26世代継代されてきた系統である。その特徴は、ウォルフ管由来臓器（精巣上体・精管・精管腺）の一部もしくは全欠損と、欠損側の精巣の異常である。このような異常は雄の約50%に発現し、片側のみ異常な場合と、両側異常の場合がある。両側異常個体は不妊であるが、片側異常個体には妊孕性がある。雌の生殖器系には異常は認められない[4,5]。

本論文では、TW 系ラットの生後1年令に至るまでの精巣重量、および精巣・精巣上体の組織像の変化について述べる。また、TW 系ラットの精巣異常は、副性器の欠損による精細管内液排出障害に起因して発現する可能性が考えられたため、正常ラットの精巣輸出管を若齢期に結紮し、その後の精巣重量および組織像の変化を調べた成績についても報告する。

材料および方法

動物：動物繁殖研究所において育成された TW 系ラットを用いた。その育成過程および異常のタイプと頻度については、前報で詳細に報告した[4,5]。本実験には、兄妹交配22～24世代の動物を用いた。動物は、コンベンショナル環境、温度 $22\pm4^{\circ}\text{C}$ 、自然採光の動物室で飼育された。市販固型飼料（オリエンタル酵母社製 EF）および水を自由摂取させた。

精巣重量：精巣の外観および精巣上体・精管・精管腺の欠損の有無を肉眼にて観察し、副性器の欠損の有無により精巣を以下の3群に分類した。(1)正常精巣（両側とも副性器の欠損がみられない正常個体の精巣）。(2)異常側精巣（両側および片側異常個体で、同側の精巣上体・精管・精管腺に欠損のみられた精巣）。(3)正常側精巣（片側のみ副性器の欠損がみられる個体で、異常のみられない側の精巣）。生後1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 15, 30 および50の各週齢に、各群3～20匹の動物を屠殺し、開腹し、精巣重量を測定した。

組織学的検索：精巣重量秤量後、各群3～10個の精巣を Bouin 液にて固定後、パラフィン包埋し、 $4\mu\text{m}$ に薄切し、ヘマトキシリン-エオジン染色を施し、鏡検した。一部の精巣では、1精巣当り15精細管断面中の精細胞数を数え、比較した。

精巣輸出管結紮実験：3週齢のWistar-Imamichi 雄ラットを用いた。腹部剃毛後、エーテル麻酔下で陰茎前の腹部正中線を切開し、左側の精巣輸出管を結紮した。

右側の精巣輸出管には偽手術を施し、対照とした。術後1, 3, 6 および12週に、各3匹を屠殺し、精巣重量を測定した後、精巣および精巣上体の組織切片を作製した。

成 績

肉眼解剖：TW 系雄ラットでは精巣上体、精管および精管腺に先天的な形成不全が認められる。解剖顕微鏡下で観察すればこれらの形成不全は生後1日齢より識別でき、その後加齢に伴い明瞭になる。前回の検索成績と同様に、今回の検索でもこれらの副性器の全てが欠損している例が多かったが、中には一部分が形成されている例も認められた (Fig. 1)。

精巣重量：TW 系ラットの異常側精巣重量は、4, 5 および6週齢では $414.4\pm86.0\text{mg}$, $785.8\pm126.4\text{mg}$ および $983.6\pm300.3\text{mg}$ であり、正常精巣の $273.5\pm35.6\text{mg}$, $488.0\pm24.6\text{mg}$, $651.6\pm138.3\text{mg}$ および正常側精

Fig. 1. Genital organs of the TW rat. In this case, the left testis is hypoplastic and the ipsilateral epididymis and proximal part of the ductus deferens (arrow) are absent.

Fig. 2. Changes in testicular weight of the TW rat strain.

-■ : testicular weight of the rat in which no aplasia was observed.
-● : weight of the normal testis of the unilaterally aplastic rat, in which the contralateral epididymis, ductus deferens and/or gland of the ductus deferens were absent.
-○ : weight of the aplastic testis of the unilaterally or bilaterally aplastic rat, in which the ipsilateral epididymis, ductus deferens and/or gland of ductus deferens were absent.

巢の 288.3 ± 57.6 mg, 483.6 ± 38.2 mg, 783.1 ± 180.0 mg に比べて重かった。6週齢以後、正常精巣および正常側精巣では重量が増加し続けたが、異常側精巣では、重量増加がみられなかった。11週齢以後、異常側精巣の重量は約500~700mgであり、正常精巣および正常側精巣(約1500~1800mg)の1/2~1/3であった(Fig. 2)。

精巣組織所見：1, 2および3週齢では、異常側精巣と正常側精巣の組織像に、差は認められなかった。3週齢では、正常側精巣(Fig. 3 A)・異常側精巣(Fig. 3 B)共に、精細管内に多数の精母細胞が認められた。1精細管内の精細胞数の平均は、正常側28.7個、異常側27.1個で、差は認められなかった。

4週齢の正常側精巣では精母細胞の産生が盛んに見られ、精細管内は精細胞で満たされていた(Fig. 3 C)。5週齢の正常側精巣の約1/3の精細管では、精子細胞が観察された。一方、異常側精巣では、ほとんどの精細管で、精細管径および内腔の拡大が観察された。この様な精細管では精子細胞は観察されず、1精細管断面当りの

細胞数の平均は122.9個で、正常側精巣の214.2個に比べて少なかった(Fig. 3 D)。

6週齢の正常側精巣では、精細管内は精細胞に満たされ、多くの精細管で精子が観察された。異常側精巣では、精細胞の変性・消失が認められた。その度合いは精細管により異なっていたが、精細胞の変性・消失が著しい精細管では精母細胞が消失し、セルトリ細胞と精祖細胞のみが観察された。精母細胞の存在する精細管では、多核巨細胞が観察された。しかしながら、約1/5~1/3の精細管では、精子形成像が認められた。

7, 9および11週齢の正常側精巣では、活発な精子形成が観察された(Fig. 3 E)。一方異常側精巣では、精細胞の変性・消失が認められた(Fig. 3 F)。精細胞の変性・消失は、週齢が増すにつれ甚しくなった。7および9週齢では多数の多核巨細胞が認められたが、11週齢では精母細胞の消失の度合いが進み、多核巨細胞は減少した。

15, 30および50週齢の異常側精巣では、大部分の精細

Fig. 3. Testicular histology of the TW rat strain.

- A : Normal testis at three weeks of age. $\times 100$
- B : Aplastic testis at three weeks of age. No obvious changes are observed. $\times 100$
- C : Normal testis at four weeks of age. $\times 100$
- D : Aplastic testis at four weeks of age. The diameter and the lumen of the tubules appear to be enlarged. The germinal cells are reduced in number. $\times 100$
- E : Normal testis at nine weeks. $\times 40$
- F : Aplastic testis at nine weeks. The tubules reveal varying degrees of degeneration. Many multinucleated cells are found. $\times 40$
- G : Normal testis at 30 weeks. $\times 40$
- H : Aplastic testis at 30 weeks. Most seminiferous tubules have undergone degeneration and contain only Sertoli's cells. Note marked interstitial edema. $\times 40$

Fig. 4. Mean testicular weight after the unilateral ductuli efferentes ligation. Rats were operated on at three weeks of age.

□ : sham-operated testis.
 ▨ : ligated testis.

管で精細胞が消失し、ほとんどセルトリ細胞のみとなった。しかし精子形成像を示す精細管も、わずかながら存在した。間質には水腫と、間質細胞の増殖が認められた (Fig. 3 H)。30および50週齢の異常側精巣の一部の精細管内腔には、精子の頭部を含む赤紫色に染まった物質が充満している像が認められた。

正常精巣および正常側精巣には、すべての週齢において異常は認められなかった。

精巣輸尿管結紮後の精巣重量および組織所見：精巣輸尿管結紮1, 3, 6および12週後の精巣重量の変化を Fig. 4 に示した。結紮側精巣重量は、結紮1週後（4週齢）お

よび3週後（6週齢）には、偽手術対照側に比べ増大し、結紮6・12週後（9・15週齢）には萎縮した。

結紮1週後（4週齢）の対照側精巣の精細管は、多数の精細胞でしめられていた (Fig. 5 A)。一方結紮側では、精母細胞の減少と精細管内腔の拡大が認められ、少数の多核巨細胞が観察された (Fig. 5 B)。結紮3週後（6週齢）の対照側精巣では、多数の精子細胞が認められ、一部の精細管では精子が観察された。結紮側精巣では、精細胞の変性・消失および多核巨細胞が観察された。精細胞の変性・消失の度合いは精細管によって異なり、精細胞が消失してほとんどセルトリ細胞のみが存在

Fig. 5. Histology of the testis in the rat after ductuli efferentes ligation at three weeks.

A : Control testis one week after sham-operation (four weeks of age). $\times 100$

B : A testis one week after ligation. Tubular lumen appears to be enlarged. $\times 100$

C : Control testis six weeks after sham-operation (nine weeks of age). $\times 40$

D : A testis six weeks after ligation. The tubules reveal varying degrees of degeneration. Multinucleated cells are found. $\times 40$

する精細管から、精子形成像を呈する精細管までの変異が認められた。結紮6週後（9週齢）の対照側精巣では、盛んな精子形成が観察された（Fig. 5 C）。結紮側では、結紮3週後とほぼ同様の組織像が観察された（Fig. 5 D）。結紮12週後（15週齢）の結紮側精巣では、精細胞の変性・消失が進み、多くの精細管ではほとんどセルトリ細胞のみとなったが、精子形成像を呈する精細管もわずかに存在した。多核巨細胞は、少数の精細管に認められるのみであり、間質の水腫と間質細胞の増殖が認められた。

考 察

TW 系ラットの異常側精巣では、4および5週齢で、精巣の重量増加と精細管内腔の拡大が観察された。6週齢以後、精細胞の顕著な変性・消失がおり、15週齢以後、多くの精細管はほとんどセルトリ細胞のみとなり、間質に水腫と間質細胞の増殖が認められた。本ラットにおいては、異常側では精巣上体や輸精管等の副性器が欠損しているので、副性器の欠損による精巣内液の排出障

害により、二次的に精巣の障害が引き起されている可能性が考えられた。人為的に精巣内液の排出障害を起す方法として、精巣輸出管の結紮が報告され、主に成熟ラットを用いて結紮後の精巣の変化が研究されている[1-3, 7, 10]。すなわち精巣輸出管を結紮すると、精巣内液の貯留により結紮後1～3日間精巣重量は増大し、精細管径および内腔が拡大する[1-3, 7, 10]。またこの間にセルトリ細胞の微細構造が変化し[1]、血液精巣関門に障害が起き、同関門の物質透過性が変化する[7]。その後精細胞が変性・消失し、精巣は急速に萎縮すると記述されている。

著者らが3週齢にて精巣輸出管を結紮した結果、結紮1週後（4週齢）に精巣の重量増加と精細管内腔の拡大が観察され、結紮3週（6週齢）以後、精細胞の変性が認められ、結紮12週後（15週齢）には多くの精細管はほとんどセルトリ細胞のみとなり、間質に水腫と間質細胞の増殖が認められた。この3週齢での結紮成績は、精巣の変化がゆるやかではあるが、成熟ラットでの報告と基本的には同じであり、かつ TW 系ラットの異常側精巣の変化と同一であった。また、正常ラットでは生後4～

5週齢で精細管内液の分泌が始まると報告されており[9], TW系の異常側精巣においても3週齢での結紮側精巣においても, ちょうど同時期の生後4~6週齢に一旦精巣重量の増加と精細管内腔の拡大が認められ, 次第に精細胞が変性・消失してくことから, TW系ラットの精巣障害は, 副性器欠損に伴う精巣内液の貯留により二次的に起ると考えられる。

なお, TW系ラットにおいて欠損が認められる精巣上体や輸精管は Wolff 氏管に由来し, 胎生後期に精巣より分泌されるテストステロンにより影響を受けて分化するといわれている。従って TW系の胎生期精巣のアンドロゲン合成に何らかの障害があり, このことが精巣上体や輸精管欠損の原因となる可能性が考えられる。よって TW系ラットの精巣異常は, 副性器欠損に伴う二次的な変化に加え, 精巣自体に異常がある可能性も否定できない。副性器が欠損する原因については, 今後詳細な検討が必要である。

TW系ラットと類似の副性器の欠損は, ヒトにおいても報告されており[6], ヒトでは欠損した輸精管をつなぐことにより妊孕能が回復したという報告もある[8]。TW系ラットはこの様な症例の病因検索のためのモデルとして有用であろう。

要 約

雄の約50%に片側または両側性に, 精巣上体・精管・精管腺の完全もしくは部分的欠損を伴う精巣異常を発現する TW系ラットの, 生後精巣重量および組織像の変化を調べた。

TW系の異常側精巣重量は, 4・5週齢では正常側に比べ有意に大きかったが, 6週齢以後増加はみられず, 9週齢以後正常精巣の1/2~1/3となった。組織像では, 4・5週齢では精細管径および内腔の拡大, 精細胞の減少が認められた。6週齢以後, 一部の精細管で精細胞の変性・消失・多核巨細胞の発現が認められた。その後加齢につれ変性は進み, 15週齢以後ほとんどの精細管ではセルトリ細胞のみが観察され, 間質の水腫および間質細胞増殖が認められた。また, TW系ラットの精巣異常は, 副性器欠損による精細管内液の排出障害に起因する可能性が考えられたため, 正常なラットの精巣輸出管結紮後の, 精巣重量および組織像の変化を調べた。精巣輸出管結紮後の精巣重量は, 結紮1・3週後(4・6週齢)

には増大し, 6・12週後には萎縮した。組織像の変化は, 結紮1週後には精母細胞の減少と精細管内腔の拡大が, 3・6週後には精細胞の変性・消失と多核巨細胞が, 12週後には多くの精細管ではセルトリ細胞のみが観察され, 間質の水腫と間細胞の増殖が認められた。以上の結果より, TW系ラットの精巣異常の原因は, 副性器欠損に起因する精細管内液の排出障害によることが明らかになった。

謝 辞

本論文を御校閲いただいた, 東北大学医学部信永利馬助教授に深謝する。

文 献

- [1] Anton, E. (1979). Early ultrastructural changes in the rat testis after ductuli efferentes ligation. *Fertility and Sterility.*, **31**, 187-194.
- [2] Collins, P. M., Collins, W. P., McNerrily, A. S., and Tsang, W. N. (1978). Plasma FSH, LH and testosterone levels in the male rat during degeneration of the germinal epithelium caused by severe heat treatment or ligation of the vasa efferentia. *J. Reprod. Fert.*, **54**, 285-291.
- [3] Free, M. J., and Jaffe, R. A. (1979). Collection of rete testis fluid from rats without previous efferent duct ligation. *Biol. Reprod.*, **20**, 269-278.
- [4] 藤田博文・笹井洋・上松嘉男・鈴木勝士・今道友則(1983). 異常小精巣ラットの育成と形態学的観察. 実験動物, **32**, 85-92.
- [5] 笹井洋. (1983). 育種によって作り上げられた先天異常を呈する実験動物の系統. 家畜繁殖学雑誌, **29**, 38-42.
- [6] Lingardh, G., Domellof, L., and Fahroeus, B. (1975). Dysplasia of the testis and epididymis. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, **9**, 1-4.
- [7] Neaves, N. B. (1973). Permeability of Sertoli cell tight junction to Lanthanum after ligation of ductus deferens and ductuli efferentes. *J. Cell Biology.* **59**, 559-572.
- [8] Rubin, S. O. (1975). Congenital absence of the vas deferens. *Scand. J. Nephrol.*, **9**, 94-99.
- [9] Setchell, B. P. (1970). Testicular fluid and the rete testis. In *The Testis*, vol. 1, pp. 179-216, Johnson, A. D., Gomess, W. R., and Vandemark, N. L. (edit.), Academic Press, New York and London.
- [10] Smith, G. (1962). The effects of ligation of the vasa efferentia and vasectomy on testicular function in the adult rat. *J. Endocrinol.*, **23**, 385-399.
- [11] Wilson, J. D., Griffin, J. E., George, F. W., and Leshin, M. (1981). The role of gonadal steroids in sexual differentiation. *Recent progress in hormone research*, **37**, 1-39.