特発性男性不妊症における精巣内 aromatase 活性に関する検討

岡山大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 大森弘之教授)

市 川 孝 治

A STUDY ON INTRATESTICULAR AROMATASE ACTIVITY IN MALE INFERTILITY

Takaharu Ichikawa

Department of Urology, Okayama University Medical School
(Director: Prof. H. Ohmori)

We report here the influence of intratesticular aromatase activity and intratesticular estrogen concentration on spermatogenesis. In the present study, we measured the levels of aromatase activity and the concentrations of intratesticular testosterone (T) and estradiol (E_2) in 21 testicular tissues from biopsy of 20 idiopathic male infertility patients, 5 testicular tissues from castration of 4 prostatic cancer patients and a testicular tissue from an autopsy. Serum T, Free T, E_2 , LH and FSH were also measured if possible. Aromatase activity in the testis were assayed by measuring the amount of 3H_2O formed during the conversion of [1β - 3H] androstenedione to estrogen. Histological evaluation of the testes were performed using the Johnsen's score count (JSC) method.

The rate of aromatase activity was linear in regard to time and amount of tissue. The production of 3H_2O was inhibited by 4-hydroxyandrostenedione. The apparent K_m (Michaelis constant) of the reaction was 23.2 nM. The rate of aromatase activity increased linearly as JSC level decreased ($r = -0.67$). Also, it significantly correlated with intratesticular T ($r = 0.69$), E_2 ($r = 0.88$) and T/ E_2 ratio ($r = -0.85$), whereas it was not correlated with serum T, free T, E_2 , T/ E_2 ratio and free T/ E_2 ratio. Therefore, our results suggest the possibility that the increase in the rate of aromatase activity and the concentration of E_2 may influence spermatogenesis.

Key words: intratesticular aromatase activity, estrogen, spermatogenesis

要旨: 造精機能に対する精巣内の aromatase 活性, estradiol (E_2) の影響を検討した。測定用試料は, 特発性男性不妊症患者のうち精巣生検を施行された20例21精巣と前立腺癌にて精巣摘除を施行された4例5精巣および腎癌の剖検1例1精巣である。

Aromatase 活性は, 3H -water method にて測定し, また可能な限り組織内 T, E_2 および血清中の T, free T, E_2 , LH, FSH も測定した。組織学的評価には Johnsen's score count (JSC) を用いた。

精巣内 aromatase 活性は incubation 時間, 組織量に比例して上昇し, 阻害剤である 4-hydroxyandrostenedione 添加にて有意に抑制された。精巣内 aromatase の K_m は 23.2 nM であった。aromatase 活性と JSC との間には相関係数 -0.67 なる負の相関がみられた。Aromatase 活性と血清中 T, free T, E_2 , T/ E_2 , free T/ E_2 , との間には有意な関係はなかったが, 組織内 T, E_2 , T/ E_2 との間にはそれぞれ相関係数 0.69 , 0.88 , -0.85 なる相関関係を認めた。造精機能障害が強い症例ほど精巣内 E_2 濃度が高いことを考慮すると, 精巣内 aromatase 活性の上昇とこれによる E_2 濃度の増加が造精機能障害に関与している可能性があると考えられた。

キーワード: 精巣内アロマトラーゼ活性, エストロゲン, 造精機能

緒 言

男性不妊症の病因は造精機能障害、精路通過障害、副性器異常、性交不全および精子形態異常の5つに大別される。このうち、特発性男性不妊症は原発性造精機能障害に含まれ、男性不妊症の大部分を占めるが、この正確な病態生理についてはほとんど解明されていない。Leydig cell はヒト精子形成に対し重要な役割を果たしている。その中の一つに LH の支配を受けて高濃度の testosterone を分泌することが挙げられる¹⁾²⁾が、ヒト精巣における testosterone の代謝に関しては、これまで testosterone の dihydrotestosterone, $3\alpha(\beta)$ -androstanediol, d-androstenedione への代謝についての報告^{3)~5)}が主であり、aromatization にて生成される estrogen についての検討はほとんどなされていない。著者は精巣内 testosterone の代謝産物である estrogen の造精機能への影響を検討する目的で、ヒト精巣内の aromatase の存在について十分な検討を加え、精巣内 aromatase 活性を測定するとともに、精巣内 testosterone, estradiol を測定し組織学的所見と比較したので報告する。

対象と方法

対象は当科ホルモン外来を受診し特発性男性不妊症と診断され精巣生検を施行された患者20例21精巣、年齢は23歳から38歳(平均31.3歳)で、その内訳は azoospermia 11例, oligozoospermia 6例, asthenozoospermia 3例、および、前立腺癌にて精巣摘除を施行された4例5精巣、年齢は66歳から82歳(平均73.5歳)、腎癌の剖検1例1精巣、年齢は61歳である。なお、腎癌症例は保存的治療のみを受けており、抗癌剤などの造精障害を惹起する薬剤は投与されていない。これらの症例に対して、血清中の Total testosterone (以下 T), Free testosterone (以下 free T), estradiol (以下 E_2), LH, FSH の濃度を測定するとともに精巣内の T, E_2 濃度, aromatase 活性を測定した。また、精巣の組織学的評価として Johnsen's score count (以下 JSC) を算出し、上記各種パラメータとの間の統計学的検討を行った。

1. 血清中 T, free T, E_2 , LH, FSH 濃度の測定

血中の T, free T, E_2 , LH, FSH は午後2時から3時の間に肘静脈より採取し、T, free T, E_2 はそれぞれ日本 DPC コーポレーションのトータルテストステロンキット、フリーテストステロンキット、エストラジオ-IV キットを、LH, FSH はそれぞれ第一ラジオアイソトープ研究所のスパック-SLH キットおよびス

パック-S FSH キットを用いて測定した。

2. 精巣内 T, E_2 濃度の測定

精巣生検は2%リドカインの局所麻酔下にて Charny⁶⁾の方法に従って行った。これらの組織と前立腺癌症例の精巣摘除、および剖検より得られた精巣組織は、付着した血液を除去し重量測定後、直ちに液体窒素にて -196°C に保存した。精巣内 T, E_2 の測定は保存後3日以内に、十分にホモジネートした組織液を日本 DPC コーポレーションのトータルテストステロンキット、およびエストラジオールキットを用いて行った。

3. 精巣内 aromatase の kinetics および活性の測定

精巣生検、精巣摘除および剖検にて得られた組織に付着した血液を除去し重量測定後、直ちに液体窒素にて -196°C に保存し、3日以内に測定を行った。ミクロゾーム分画を抽出するため、採取した組織に必要な量の 0.1M リン酸 buffer (pH 7.5) を加えて、テフロンホモゲナイザーにて十分ホモジネートした後、2,000回転で10分間遠心した。上清を採取し、これを酵素液と呼ぶこととした。この酵素液を用いて、androgen が estrogen に変換される aromatization の過程で 1β の水素が離脱することを応用した ^3H -water method⁷⁾にて精巣内 aromatase の kinetics および活性の測定を行った。Fig. 1 にこの方法の概要を示す。

1) 精巣内 aromatase の kinetics

基質濃度と反応速度との関係

精巣組織20mg 相当の酵素液200 μl に3.2~102.5nM の濃度の $[1\beta\text{-}^3\text{H}]\text{-androst-4-ene-3,17-dione}$ ($A\text{-}^3\text{H}$) 100 μl を基質として加え、さらにリン酸 buffer 500 μl , 補酵素である NADPH (1mg) 100 μl , および100mM EDTA-KCl 100 μl も加えて全量を1ml とし、 37°C で120分間 incubation した。なお、 $A\text{-}^3\text{H}$ (比放射能24.1

Fig. 1 Assay procedure of intratesticular aromatase activity (^3H -water method).

Ci/mmol) は New England Nuclear Research Product (Boston, M.A., U.S.A.) から購入した。

incubation 時間と反応量および aromatase 阻害剤添加での反応量との関係

精巣組織60mg 相当の酵素液600μl に100nM の濃度の A-³H を100μl 基質として加え、さらにリン酸 buffer 100μl, 補酵素である NADPH (1mg) 100μl, および100mM EDTA-KCl 100μl を加えて全量を1ml とし、37°Cで15~120分間 incubation した。また、リン酸 buffer 100μl の代わりに、リン酸 buffer 50μl と aromatase 阻害剤である4-hydroxyandrostenedione 50μl を添加した実験も行い、阻害剤による効果を比較した。

組織量と反応量との関係

精巣組織10~50mg 相当の酵素液100~500μl に100 nM の濃度の A-³H を100μl 基質として加え、さらに補酵素である NADPH(1mg)100μl, 100mM EDTA-KCl 100μl, および必要量のリン酸 buffer を加えて全量を1 ml とし、37°Cで120分間 incubation した。

2) Aromatase 活性の測定

基質と反応のため120分間 incubation 後、直ちに氷冷し反応を止め、蒸留水1ml, クロロホルム3ml を加え十分に攪拌後、2,000回転10分間遠心した。上清の水層をとり活性炭処理を行い、再度3,000回転10分間遠心した。これにて得られた上清の水層を500μl とりシンチレーターを2ml 加えた後、水層の³H 放射活性を測定し、精巣の単位重量 (mg) 当たりの³H₂O 生成モル数をもって精巣 aromatase 活性とした。

4. JSC の算出

精巣生検、精巣摘除および剖検にて得られた組織をブアン液にて固定後、Johnsen⁸⁾の方法に準じて同一検

者にて JSC を算出した。

5. 各種パラメータの統計学的検討

精巣内 aromatase 活性と血清中のホルモン値、JSC および精巣内 T, E₂ との間のそれぞれの相関関係を検討した。相関関係は Spearman の順位相関係数を用いて解析した。

結 果

1. 血清中 T, free T, E₂, LH, FSH

血清中のそれぞれの測定結果は、T が4.13±1.74 ng/ml (平均±標準偏差, 以下同様), free T が17.8±6.42pg/ml, E₂ が25.5±9.88pg/ml, LH が4.48±3.38 mIU/ml, FSH が13.2±12.3mIU/ml で、T は全症例で正常範囲にあった。また、LH, FSH はともに軽度高値を示す症例が多かった。なお、特発性男性不妊症症例以外でこれらのホルモン測定が可能であった症例は1例であり、特発性男性不妊症症例との間に差は認められなかった。

2. 精巣内 T, E₂ 濃度

組織量に限りがあるため全症例で測定できなかったが、測定可能であった17例における精巣内 T, E₂ の測定結果は、それぞれ1.54±1.18×10³ng/g, 18.2±21.3 ng/g であり、精巣内 T 濃度は E₂ に比し約100倍高値を示した。血清中ホルモンおよび精巣内 T, E₂ の測定結果を Table 1 に示す。特発性男性不妊症症例とそれ以外の症例における精巣内 T, E₂ 濃度には、統計学的有意差は認められなかった。

3. 精巣内 aromatase の kinetics および活性

1) 精巣内 aromatase の kinetics

基質濃度と反応速度との関係

基質濃度を変え、aromatase 活性(生成される³H₂O 量)を求めた。Fig. 2 にその結果を示す。Lineweaver-

Table 1 Serum and intratesticular hormone levels

	Idiopathic male infertility	PC and RCC	Total
Serum T	4.09±1.78	4.80	4.13±1.74 (ng/ml)
Serum free T	17.6±6.54	21.2	17.8±6.42 (pg/ml)
Serum E ₂	25.4±10.1	27.0	25.5±9.88 (pg/ml)
Serum LH	4.56±3.45	3.00	4.48±3.38 (mIU/ml)
Serum FSH	13.7±12.5	4.61	13.2±12.3 (mIU/ml)
Intratesticular T	1.67±1.20	1.45±0.98	1.54±1.18 (×10 ³ ng/g)
Intratesticular E ₂	20.1±27.5	18.1±11.0	18.2±21.3 (ng/g)

Data expressed as mean±S.E.
Idiopathic male infertility : serum hormone n=19, intratesticular hormone n=11, PC and RCC : Prostatic cancer and renal cell cancer, serum hormone n=1, intratesticular hormone n=6

Fig. 2 Effect of substrate concentration on intratesticular aromatase activity.

Fig. 3 Lineweaver-Burk plot of initial velocity of $^3\text{H}_2\text{O}$ formed vs. concentration of androstenedione. V: Velocity of reaction, fmol $^3\text{H}_2\text{O}$ /hr/mg tissue equivalent. S: $[1\beta\text{-}^3\text{H}]$ androstenedione concentration.

Burkのプロットより K_m , V_{max} を求めると、それぞれ 23.2 nM , $39.5\text{ fmol/hr/mg wet tissue}$ であった (Fig. 3)。

incubation 時間と反応量および aromatase 阻害剤添加での反応量との関係

酵素量 (精巣組織量) を一定にし incubation 時間を変化させると, aromatase 活性 ($^3\text{H}_2\text{O}$ 量) は 120 分間の incubation でもほぼ直線的に上昇し, aromatase inhibitor である 4-hydroxyandrostenedione を添加することにより, 著明に抑制された (Fig. 4)。

酵素量と反応量との関係

酵素量 (精巣組織量) を増加させると Fig. 5 の如く, 酵素量の増加に対しほぼ直線的に aromatase 活性も

Fig. 4 Effect of incubation time on intratesticular aromatase activity with and without aromatase inhibitor.

Fig. 5 Effect of tissue concentration on intratesticular aromatase activity.

上昇した。

2) Aromatase 活性の測定

$^3\text{H}_2\text{O}$ 量より求めた全症例の aromatase 活性は, $12.1 \pm 11.1\text{ fmol/hr/mg}$ であった。特発性男性不妊症例のみでは, $11.3 \pm 12.1\text{ fmol/hr/mg}$, それ以外の症例では $13.4 \pm 8.57\text{ fmol/hr/mg}$ であり, 血清および精巣内ホルモンの場合と同様に統計学的有意差は認められなかった。

4. JSC の算出

JSC の算出は検者による相違を考慮し同一検者にて行った。これにて得られた全症例の ISC は 5.49 ± 2.33 であった。

5. 各種パラメータの統計学的検討 (Table 2)

1) 精巣内 aromatase 活性と血清中 T, free T, E_2 , LH および FSH との関係

精巣内 aromatase 活性と血清中 T, free T および

Fig. 6 Correlation between intratesticular aromatase activity and JSC.

E₂との関係について Spearman の順位相関係数を求めると、それぞれ0.12 (p=0.63), -0.10 (p=0.68), -0.05 (p=0.82) といずれも有意な相関は認められなかった。なお、T と E₂ との比である T/E₂ ratio, および free T と E₂ との比である Free T/E₂ ratio でも同様に精巣内 aromatase 活性との相関を検討したが有意な関係は認められなかった。精巣内 aromatase 活性と血清中 LH, FSH との間についてはそれぞれ、相関係数0.43 (p=0.06), 0.56 (p=0.01) であり、精巣内 aromatase 活性と血清中 FSH との間には有意な相関が見られ、精巣内 aromatase 活性の上昇につれて血清中 FSH は増加した。

2) 精巣内 aromatase 活性と JSC との関係
精巣内 aromatase 活性と造精機能障害の関係を比

Table 2 Correlation among parameters

	JSC	Aromatase activity
Serum T p values	0.36 0.34	0.12 0.63
Serum free T p values	-0.008 0.98	-0.10 0.67
Serum E ₂ p values	-0.43 0.25	-0.05 0.82
Serum T/E ₂ p values	0.46 0.21	-0.07 0.77
Serum free T/E ₂ ratio p values	0.23 0.56	-0.14 0.57
Serum LH p values	-0.80 0.01	0.43 0.06
Serum FSH p values	-0.86 0.003	0.56 0.01
Intratesticular T p values	-0.58 0.01	0.69 0.002
Intratesticular E ₂ p values	-0.80 0.0001	0.88 <0.0001
Intratesticular T/E ₂ ratio p values	0.49 0.05	-0.85 <0.0001

較する目的で JSC との相関を検討した。Fig. 6 は両者の回帰直線を示しているが、相関係数 -0.67 と負の相関を認め、aromatase 活性が高い症例ほど精巣障害が強いことが示された。

3) 精巣内 aromatase 活性と精巣内 T, E₂ との間の相関

精巣内 aromatase 活性と精巣内 T, E₂ との相関を

Fig. 7 A: Correlation between intratesticular aromatase activity and intratesticular testosterone. B: Correlation between intratesticular aromatase activity and intratesticular estradiol.

Fig. 8 Correlation between intratesticular aromatase activity and intratesticular T/E₂ ratio.

検討した。Fig. 7 に回帰直線を示すが、それぞれ相関係数0.69 ($p=0.002$), 0.88 ($p<0.0001$) と共に有意な相関関係が認められ、造精機能障害が強いほど精巣内 T, E₂濃度は増加していることが示された。精巣内 aromatase 活性と精巣内 T と精巣内 E₂との比 T/E₂ ratio との間でも同様の相関を検討すると、これらの間には相関係数-0.85なる負の強い相関が認められた (Fig. 8)。

考 察

原発性造精機能障害である特発性男性不妊症の正確な病態については現在ほとんど解明されておらず、したがって、特発性男性不妊症に対する治療も試みられているが、必ずしも満足のいく結果は得られていない。

Leydig 細胞膜に LH 受容体が存在することは以前より報告されており⁹⁾, LH を介した Leydig 細胞での androgen の合成と, Sertoli 細胞から分泌される androgen binding protein (ABP) の働きにより、精細管内および精巣上体内は高濃度の T 環境下に維持され、精子形成と成熟に大きな意義をもつとされている¹⁰⁾。穂坂ら⁵⁾は老人の精巣を用いた T の dihydrotestosterone, 3 α (β)-androstenediol, 4-androstenedione への代謝に関する検討において、精子形成には testosterone の直接作用が重要であることを報告している。著者は、この代謝以降の C₁₈ステロイドが特発性男性不妊症患者においてどのように関与しているのかを検討する目的で、今回の実験を行った。この際、ヒト精巣における aromatase の存在についてはこれまで十分な検討がなされていないため、その kinetics についても検討した。

Aromatase は脳、胎盤、脂肪、皮膚、筋組織などの細胞ミクロソームに多く存在し、androgen を

estrogen に変換する反応系を触媒する酵素である^{11)~13)}。これまで aromatase 活性の定量は主に RIA 法でなされてきたが Canick ら¹⁴⁾は RIA 法による測定値は aromatase 活性を正確に反映していないと指摘し、また微量組織内の酵素活性の測定は困難であることから、androgen が estrogen に変換される aromatization の過程で 1 β 位の水素が離脱することを応用した ³H-water method⁷⁾が現在用いられている。今回の aromatase 活性もこの方法を用いて測定したが、微量な精巣組織でも信頼性のある測定結果が得られた。ヒト精巣内 aromatase の K_m は 23.2 nM で、この値はこれまで報告されている脳内 aromatase の K_m^{15)~18)}と一致した。また、incubation 時間と反応量との関係では、120 分間の incubation でもほぼ直線的に aromatase 活性 (³H₂O 生成量) は上昇し、aromatase 阻害剤である 4-hydroxyandrostenedione を添加することにより著明に抑制されたこと、および酵素量と反応量との関係において、酵素量(精巣組織)を増加させることにより aromatase 活性がほぼ直線的に上昇したことから、生成された ³H₂O は aromatase による酵素反応により生成したことが証明され、精巣内 aromatase の存在が明らかとなった。

精巣内 aromatase の組織内分布については幾つかの報告がなされている。Payne ら¹⁹⁾はヒト精巣の精細管を分離し、分離精細管と未処理精巣組織の E₂生成量を従来の RIA 法を用いて測定した結果、未処理精巣組織の E₂生成量は分離精細管に比し 1.5~2.7 倍高値であったとして、精巣内 aromatization は主に間質で行われるとしている。また、Canick ら¹⁴⁾も幼若ラットを用いて同様の結果を報告している。しかし、Gore-Langton ら²⁰⁾は幼若ラットから得た Sertoli 細胞を培養し FSH を添加することで、Sertoli 細胞の E₂生成量が有意に増加すると報告し、Nitta ら²¹⁾はマウスの精巣を用いて germ cell が主に aromatase を含有し、間質よりもその活性は高いと報告しており、現在のところ精巣内 aromatase の組織内分布については Leydig 細胞、Sertoli 細胞、germ cell などが挙げられている。

加齢に伴って造精機能が低下することは一般に知られており、その精巣の組織学的特徴は精細管の硝子化、精細管内径の縮小化、精細管壁の肥厚などが挙げられる²²⁾。これらの所見は特発性男性不妊症における精巣の組織学的所見と類似し、また加齢に伴う造精機能の低下の原因も現在不明であることから、前立腺癌患者、保存的治療のみの腎癌患者も対象として各種パラメー

タの統計学的検討を加えることとした。

精巣内 aromatase 活性と各種血清中ホルモンとの関連性では、FSH のみに相関係数 0.56 ($p=0.01$) なる有意な相関関係が認められたのみで、他の T, free T, E_2 , LH との間には有意の相関は認められなかった。一方、精巣内 aromatase 活性と造精機能の指標である JSC との関係は相関係数 -0.67 と強い負の相関を認め、精巣内 T, E_2 と造精機能との関連性を検討すると、Table 2 に示したように、精巣内 T, E_2 と JSC との間の相関係数はそれぞれ -0.58 ($p=0.01$), -0.80 ($p=0.0001$) で、精巣内 T, E_2 と精巣内 aromatase 活性との間の相関係数はそれぞれ 0.69 ($p=0.002$), 0.88 ($p<0.0001$) であり、造精機能障害が強い症例ほど精巣内 T, E_2 はともに増加した。さらに精巣内 T と精巣内 E_2 との比である T/ E_2 ratio と精巣内 aromatase との相関関係をみると、相関係数 -0.85 なる強い負の相関が認められ、造精機能障害が強い症例ほど T に比し E_2 が増加していることが示された。これらより、精巣内 aromatase 活性の上昇とこれによる E_2 濃度増加が造精機能障害に関与している可能性があるものと考えられた。血清 FSH が精巣 aromatase 活性と正の相関関係にあったことは、このことから十分理解されるものである。さらに、加齢に伴う造精機能障害においても精巣内 aromatase 活性の上昇と E_2 濃度の増加がその病態に関与している可能性が示唆されたことは興味ある結果と言える。しかしながら、今回の検討からは、造精機能障害を呈する精巣における精巣内 aromatase 活性の上昇と、これによる精巣内 E_2 濃度の増加が造精機能障害の原因であるのか、結果であるのかについては証明できなかった。この点については今後さらに検討を加えていかなければならない。

これまで、血清中の各種ホルモンと造精機能との関係を検討した報告は多い^{23)~26)}が、ヒト精巣内 E_2 についての報告は少ない。Jones²⁷⁾は、健康成人に hCG と estradiol を投与することにより、estrogen が精巣 Leydig 細胞の T 産生を直接障害することを報告し、Kalla ら²⁸⁾もラットにおいて同様の結果を報告している。また、activin や inhibin は Leydig 細胞に働き androgen の分泌調節を行い、精母細胞の増殖をも調節していること²⁹⁾が知られているが、Nitta ら²¹⁾は、マウス精巣を用いて aromatase の組織内分布を詳細に検討し、germ cell 内にも aromatase が存在し estrogen の生成を行っていることを示し、estrogen が autocrine,

paracrine として造精機能に与っている可能性を示している。すなわち、germ cell 由来の estrogen は Leydig 細胞に negative feedback することにより、Leydig 細胞の androgen 生成の調節を行ったり、germ cell 自体に直接作用し spermatogenesis に影響を与えるとともに、精巣上体などの estrogen receptor が豊富な組織に働き造精機能を左右する環境の調節に与っている可能性があるとしている。一般に特発性男性不妊症の精巣組織には、精細管壁の肥厚と間質における線維化および Leydig 細胞の増加と形態的变化が指摘されている³⁰⁾。精巣内 aromatase 活性の上昇と、これによる精巣内 E_2 濃度の増加が造精機能障害を惹起する原因であるとするれば、造精機能障害の 1 つの病態として次の仮説が考えられる。すなわち、造精機能障害を呈する精巣においては、何らかの原因で精巣内 aromatase 活性の上昇が起こり、精巣内 E_2 濃度が増加し、Leydig 細胞はこれにより直接抑制を受ける。ところが、精巣内 T 濃度を維持するため、inhibin, activin による調節や中枢からの LH 分泌が増加することにより Leydig 細胞は過剰の刺激を受けることとなり、Leydig 細胞数の増加と形態的变化を引き起こす。本研究においては、造精機能障害を呈する精巣では精巣内 aromatase の上昇とそれによる E_2 の増加がどのような原因で起こるのか解明できなかったが、autocrine, paracrine による調節も複雑に関係しているものと思われる。特発性男性不妊症の病態解明はこの疾患の治療法確立の上で今後もさらに追求されるべき重要な課題である。

結 語

1. 特発性男性不妊症患者、前立腺患者、剖検例より得られた血液、精巣組織を用いて血清中 T, free T, E_2 , LH, FSH, 精巣内 T, E_2 および aromatase 活性を測定し、組織学的所見と比較検討した。

2. Aromatase 活性は³H-water method にて測定し、ヒト精巣内 aromatase の存在が証明され、この Km は 23.2 nM であった。

3. 精巣内 aromatase 活性と血清中ホルモンとの間の相関を検討すると、FSH のみに弱い相関関係が認められた。

4. 精巣内 aromatase 活性と JSC との間には相関係数 -0.67 なる負の相関関係が認められ、JSC が低い症例ほど aromatase 活性は上昇していた。

5. 精巣内 aromatase 活性と精巣内 T, E_2 との間には、それぞれ相関係数 0.69, 0.88 と、共に有意な相関

関係が認められ、精巣内 aromatase 活性と精巣内 T と精巣内 E_2 との比 T/ E_2 ratio との間にも相関係数 -0.85 なる強い負の相関がみられた。

6. 精巣内 aromatase 活性の上昇とこれによる精巣内 E_2 濃度の増加が造精機能障害に関与している可能性があると考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導ならびに御校閲を賜った恩師大森弘之教授に深謝いたします。また、直接御指導頂いた大枝忠史講師、貴重な御助言を頂いた帝国臓器製薬薬理学研究部本間誠次郎氏、そして実験に御協力頂いた湯川厚巳技官に深く感謝します。

なお、本論文の要旨は第82回日本泌尿器科学会にて発表した。

文 献

- Steinberger, A., Steinberger, E. and Perloff, W. H.: Mammary testis in organ culture. *Exp. Cell Res.*, **36**, 19—27, 1964.
- Lostroh, A.J.: Effect of follicle-stimulating hormone and interstitial cell-stimulating hormone on spermatogenesis in Long-Evans rats hypophysectomized for six months. *Acta Endocrinol.*, **43**, 592—600, 1963.
- Rivalora, M.A., Podesta, E.J., Chemes, H.E. and Calandra, R.S.: Androgen metabolism and concentration in the seminiferous tubules at different stages of development. *J. Steroid Biochem.*, **6**, 365—369, 1975.
- Cigorraga, S., Podesta, E.J., Chemes, H.E., Rivalora, M.A. and Charreau, E.H.: Metabolism of testosterone and dihydrotestosterone in subcellular fractions of seminiferous tubules at the time of initiation of the meiotic division. *J. Steroid Biochem.*, **8**, 747—752, 1977.
- 穂坂正彦, 西村隆一, 高井修造: ヒト分離精細管における testosterone 代謝. *日不妊会誌*, **28**, 143—150, 1983.
- Charny, C.W.: Testicular biopsy. Its value in male sterility. *J.A.M.A.*, **115**, 1429—1433, 1940.
- Bellio, F.L. and Osawa, Y.: Localization of estrogen synthesis in the chorionic villus function after homogenization of human term placenta. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **44**, 699—707, 1977.
- Johnsen, S.G.: 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.
- Catt, K.J., Tsuruhara, T. and Dufau, M.L.: Gonadotropin binding sites of rat testis. *Biochem. Biophys. Acta*, **279**, 194—201, 1972.
- Steinberger, E.: Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Physiol. Rev.*, **51**, 1—22, 1971.
- Isawa, Y., Tochigi, B., Higashiyama, T., Yarrow, C., Nakamura, T. and Yamamoto, T.: Multiple forms of aromatase and response of breast cancer aromatase to antiplacental aromatase antibodies. *Cancer Res.*, **42**, 3299s—3306s, 1982.
- Longcope, C., Pratt, J.H., Schneider, S.H. and Fineberg, E.S.: Aromatization of androgens by muscle and adipose tissue in vivo. *J. Clin. Endocr. Metab.*, **46**, 146—152, 1978.
- Berkovitz, G.D., Fujimoto, M., Brown, T.R., Brodie, M.H. and Migeon, C.J.: Aromatase activity in cultured human genital skin fibroblasts. *J. Clin. Endocr. Metab.*, **59**, 665—671, 1984.
- Canick, J.A., Makaris, A., Gunsalus, G.L. and Ryan, K.J.: Testicular aromatization in immature rats: Localization and stimulation after gonadotropin administration in vivo. *Endocrinology*, **104**, 285—288, 1979.
- George, F.W. and Ojeda, S.R.: Change in aromatase activity in the rat brain during embryonic, neonatal, and infantile development. *Endocrinology*, **111**, 522—529, 1982.
- Clark, A.S., MacLusky, N.J. and Goldman-Rakic, P.S.: Androgen binding and metabolism in the cerebral cortex of the developing rhesus monkey. *Endocrinology*, **123**, 932—940, 1988.
- Roselli, C.E. and Resmo, J.A.: Effect of gonadectomy and androgen treatment on aromatase activity in the fetal monkey brain. *Biology Reproduction*, **35**, 106—112, 196.
- 竹沢 豊, 深堀能立, 本間誠次郎: 中枢における estrogen 生成の証明とその酵素の性状. *日内分泌会誌*, **67**, 96—110, 1991.
- Payne, A.H., Kelch, R.P., Musich, S.S. and Halpern, M.E.: Intratesticular site of aromatization in the human. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **42**, 1081—1087, 1976.
- Gore-Langton, R., McKeracher, H. and Dorington, J.: An alternative method for the study of follicle-stimulating hormone effects on aromatase activity in sertoli cell cultures. *Endocrinology*, **107**, 464—471, 1980.
- Nitta, H., Bunick, D., Hess, R.A., Janulis, L., Newton, S.C., Millette, C.F., Osawa, Y., Shizuta, Y., Toda, K. and Bahr, J.M.: Germ cells of the mouse testis express P450 aromatase. *Endo-*

- crinology, **132**, 1396—1401, 1993.
- 22) 柳 重行, 山口邦雄, 伊藤晴夫, 丸山直記: 加齢に伴う精巢の組織学的変化. 日不妊会誌, **34**, 169—174, 1989.
 - 23) Urry, R.L., Dougherty, K.A. and Cockett, A.T. K.: Correlation between follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, testosterone and 5-hydroxyindole acetic acid with sperm cell concentration. J. Urol., **116**, 322—323, 1976.
 - 24) 谷風三郎: 男性不妊に関する内分泌学的研究. 泌尿紀要, **19**, 947—954, 1980.
 - 25) Rosen, S.W. and Weintraub, B.D.: Monotropic increase of serum FSH correlated with low sperm count in young men with idiopathic oligospermia and aspermia. J. Clin. Endocrinol. Metab., **32**, 410—416, 1971.
 - 26) Leonard, J.M., Leach, R.B., Couture, M. and Paulsen, C.A.: Plasma and urinary follicle-stimulating hormone levels in oligospermia. J. Clin. Endocrinol. Metab., **34**, 209—214, 1972.
 - 27) Jones, T.M., Fang, V.S., Landau, R.L. and Rosenfield, R.: Direct inhibition of leydig cell function by estradiol. J. Clin. Endocrinol. Metab., **47**, 1368—1373, 1978.
 - 28) Kalla, N.R., Nisula, B.C., Menard, R. and Loriaux, D.L.: The effect of estradiol on testicular testosterone biosynthesis. Endocrinology, **106**, 35—39, 1980.
 - 29) Chen, C.C.: Inhibin and activin as paracrine/autocrine factors. Endocrinology, **132**, 4—5, 1993.
 - 30) Bustos-Obregon, E.: Description of the boundary tissue of human seminiferous tubules under normal and pathological conditions. Verh. Anat. Ges., **68**, 197—201, 1974.

(1994年6月13日受付, 11月7日受理)