

## 総説

### 精巣上体の発生・分化：遺伝子改変マウスを用いたアプローチ

奥野知世\*, 石坂駿行\*, 川畑遊星\*, 竹田直樹\*\*, 吉信公美子\*\*\*, 荒木喜美\*\*, 吉永一也\*\*\*\*

#### Development and differentiation of the epididymis: an approach by using transgenic mice

Tomoyo Okuno\*, Toshiyuki Ishizaka\*, Yusei Kawabata\*, Naoki Takeda\*\*, Kumiko Yoshinobu\*\*\*,  
Kimi Araki\*\*, Kazuya Yoshinaga\*\*\*\*

**Key words:** epididymis, wolffian duct, morphogenesis, differentiation, transgenic mice

受付日 2019 年 10 月 25 日 採択日 2019 年 11 月 18 日

\*熊本大学大学院保健学教育部 検査技術科学コース \*\*熊本大学生命資源研究・支援センター 疾患モデル分野

\*\*\*熊本大学生命資源研究・支援センター ゲノム機能分野 \*\*\*\*熊本大学大学院生命科学研究部 構造機能解析学講座

投稿責任者：吉永一也 kyoshina@kumamoto-u.ac.jp

## I. はじめに

男性不妊症の患者数は我が国においても年々増加傾向にあり、その発症機序の解明や検査・治療法の開発が急務となっている。その主な原因として、精巣に起因する造精機能（精子形成）障害をはじめ精路通過障害や精巣上体機能異常など多岐にわたるが、特定できるのはむしろ少なく、複数の原因（要因）が複雑に絡み合って男性不妊をもたらすことも分かってきた。しかし、その基盤となる精路系器官とりわけ精巣上体の発生・分化を制御する分子機構はまだよくわかっていない。

精巣上体は、雌雄の形態と機能の違いが顕著に見られるユニークな男性特有の器官であり、内部には著しく迂曲した 1 本の精巣上体管がぎっしりとパッキングされている（図 1, 図 2A）。精巣で産生される未熟な精子は、この管を輸送される過程で運動能を獲得し、卵子との受精に必要な能力を備えていく<sup>1,2,3</sup>。このような精子の成熟や保護、濃縮、貯蔵など妊孕性に関わる機能は、胎生期から生後の発生・

分化の過程で起る一連の形態学的変化と遺伝子発現を経て可能となる。しかし、精巣上体は特定の疾患の原因臓器ではなく、また個体の生命維持に直接関与する臓器でもないこともあり、その発生（形態形成）および分化のメカニズムを解明するための基礎研究は少ない。

近年、精巣上体の形態や機能の異常を引き起こす遺伝子改変マウスが次々と報告されている<sup>4,5</sup>。本稿では、精巣上体の発生・分化を制御する分子機構を理解するためだけでなく、男性不妊症モデル動物としても有用可能な遺伝子改変マウスについて、筆者らが得た最近の知見を含めて概説する。

## II. ウォルフ管／精巣上体管の発生と分化

精巣上体管は、胎生早期すなわちヒトの発生第 4 週、マウスの胎齢 9 日に出現する中腎管（ウォルフ管 Wolffian duct, 以下 WD）に由来する<sup>6</sup>。WD はその後（ヒト発生第 8 週、マウス胎齢 13-14 日）、精巣より産生されるテストステロンの影響により、近位

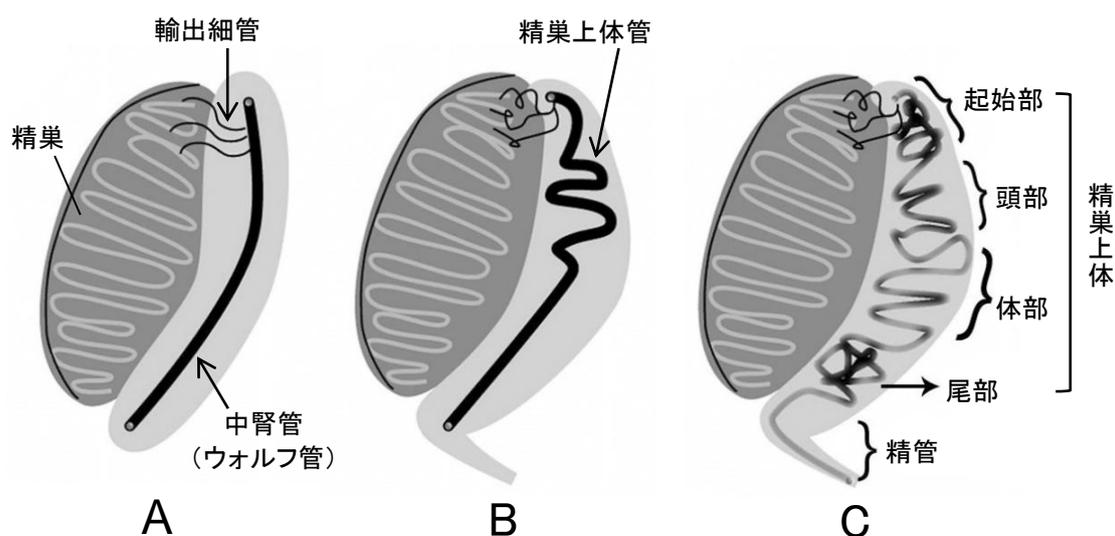


図 1 雄性生殖管（輸出細管、精巣上体管、精管）の発生を示す模式図：(A) マウス胎齢 14 日。ウオルフ管 (WD) の近位部から複数の中腎細管が伸びて精巣と連絡し、輸出細管となる。(B) マウス胎齢 16~18 日。WD の近位部は伸長・屈曲して波状の精巣上体管を形成し、WD の遠位部からは直線状の精管が形成される。(C) マウス胎齢 19 日~生後の幼若期。精巣上体管は全長に亘って伸長・迂曲を繰り返す、圧縮される。精巣上体は最終的に、起始部、頭部、体部、尾部の 4 領域が区分される。(Joseph et al.<sup>4)</sup>より一部改変)

部は伸長かつ迂曲して波状の精巣上体管を形成し、遠位部は直線的な精管を形成する (図 1)。また、WD の近位部からは複数の細管 (中腎細管) が伸びて精巣と連絡し、輸出細管となる。なお、女性では WD は退化消失し、中腎傍管 (ミュラー管) が発達して卵管や子宮を形成する。

成熟した精巣上体管の全長は、ヒトで 6m、ラットで 3m、マウスで 1m にも達する。マウスでは、胎齢 14 日の WD が 1mm 程度なので、成熟期の精巣上体には 1,000 倍以上に伸長した精巣上体管が収まることになる。このため、精巣上体管は著しく迂曲するので、切片標本ではさまざまな断面が多数観察される (図 2A)。こうした精巣上体は、幼若期の分化過程で 4 つの領域 (起始部・頭部・体部・尾部) が区画化され (図 1C)、各領域は特異な形態と機能をもつようになる。

精巣上体の発生 (形態形成) と分化のプロセスは便宜上、以下の 3 つの段階に分けられる。第一段階は、(1) 胎生早期、WD の原基を構成する未分化間

葉細胞から 1 本の真っ直ぐな上皮性の WD が形成される過程 (図 1A)。次に、(2) 胎生中期~幼若期、WD/精巣上体管が広範な形態形成を受けて、伸長かつ迂曲する過程 (図 1B)。最終段階は、(3) 出生後 (幼若期~思春期) における精巣上体の分化すなわち、精巣上体管の区画化および管上皮の主細胞・明細胞・基底細胞への分化が起る過程である (図 1C)。表 1 に示すように、各段階で WD/精巣上体管の形態異常を呈する遺伝子改変マウスが報告されているが<sup>4,5)</sup>、詳細はそれぞれの文献を参照されたい。

### 1. ウオルフ管の形成メカニズム

神経系の発生に重要な *Pax2*、*Pax2/Pax8* および *Gata3* の各遺伝子欠損マウスでは、WD の形成開始期に異常が引き起こされて形成不全となった。この結果から、各遺伝子産物は WD の初期形成誘導因子であることが明らかとなった<sup>7,8,9)</sup>。また、*Lim1* および *Emx2* は WD の伸長に必須であることがそれぞれの遺伝子欠損マウスの解析から示された<sup>10,11,12)</sup>。こ

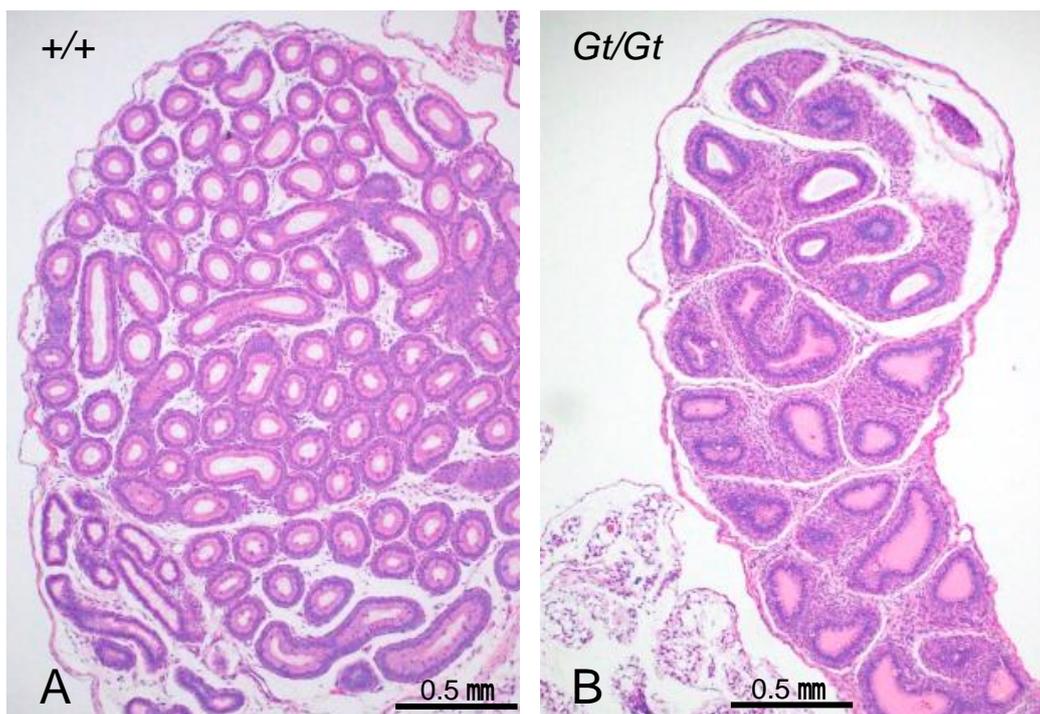


図 2 3 週齢マウス精巣上体（頭部）断面の光学顕微鏡像：(A) 野生型マウス ( $Lgr4^{+/+}$ ) の精巣上体管は幼若期に著しく伸長・迂曲した結果、管のさまざまな断面が多数観察される。(B)  $Lgr4$  変異マウス ( $Lgr4^{Gt/Gt}$ ) の精巣上体は矮小化し、精巣上体管は幼若期の伸長・迂曲が阻害された結果、その断面数が少ない。(ヘマトキシリン・エオジン染色)

これらの転写因子は、WD 原基を構成する間葉細胞が上皮細胞へ分化する際に重要な役割を果たすと考えられるが、上皮-間葉相互作用を制御する分子機構は明らかにされていない。線維芽細胞増殖因子 FGF (Fibroblast growth factors) 遺伝子群の  $Fgf8$  と FGF の受容体  $Fgfr2$  はそれぞれ WD 原基の間葉と上皮で発現しているが、それぞれの欠損マウスの解析から、 $Fgf8$  は WD 近位部の形成に関与し、 $Fgfr2$  は WD 遠位部の維持に関与することが明らかとなった<sup>13, 14</sup>。WD の形成は腎臓の発生にも影響を及ぼすので、WD の初期形成過程に異常を示す変異マウスの多くは泌尿器系の発生異常も伴っている。

## 2. ウォルフ管／精巣上体管の伸長と迂曲のメカニズム

WD の伸長と迂曲は、生後の精巣上体管においても継続する。こうした管の形態形成は、この時期の精巣で産生されるアンドロゲンに依存することが古

くから知られている<sup>15-19</sup>。村嶋らは、アンドロゲンの作用が WD 上皮周囲の間葉細胞で発現するアンドロゲン受容体を介することを組織特異的  $Ar$  (Androgen receptor) 遺伝子欠損マウスの解析から明らかにした<sup>10</sup>。この作用には FGF や上皮成長因子の関与も示唆されているが<sup>21-23</sup>、生体内における分子機構はわかっていない。Tomaszewski らは、WD 近位部の屈曲を制御する局所因子としてインヒビンとアクチビンのサブユニットが必須であることを遺伝子欠損マウスの解析から明らかにした<sup>24</sup>。多発性嚢胞腎の原因遺伝子  $PKD1$  (Polycystic kidney disease 1) の欠損マウスでは、WD の迂曲が起こらず、上皮細胞の増殖も減少していた<sup>25</sup>。最近、さまざまな遺伝子改変マウスを用いた薬剤等による阻害実験の結果から、 $Wnt/\beta$  カテニンシグナルが WD 上皮の細胞増殖を制御し、WD および精巣上体管の屈曲に重要であることが報告された<sup>26, 27</sup>。また、 $Wnt$  シグナル伝達を抑制する  $Sfrp1/Sfrp2$  遺伝子のダブル欠損マウス、

表1 ウォルフ管/精巣上体管の発生・分化の形態異常を示す遺伝子改変マウス

遺伝子	変異マウスの表現型	文献
ウォルフ管(WD)形成の異常		
<i>Pax2</i>	WDの形成不全	7
<i>Pax2/Pax8</i>	WDの形成不全	8
<i>Lim1</i>	WDの形成不全	11
<i>Gata3</i>	WDの形成不全	9
<i>Emx2</i>	WDの退行	12
<i>Fgf8</i>	WD近位部の退行	13
<i>Fgfr1/2</i>	WDの形成不全	13
<i>Fgfr2</i>	WD遠位部の退行	14
ウォルフ管(WD)/精巣上体管の伸長または屈曲の異常		
<i>Ar</i>	WDの退行	16,17
<i>Inhba</i>	精巣上体管の屈曲の低形成	24
<i>Sfrp1/2</i>	WD遠位部および精管の短縮	28
<i>Vagl2</i>	WD遠位部および精管の短縮	28
<i>Wnt5a</i>	WD遠位部および精管の短縮	28
<i>Pkd1</i>	精巣上体管の屈曲の低形成、輸出細管の拡張	25
出生後における精巣上体分化の異常		
<i>PTEN</i>	起始部の分化異常	35
<i>Ros1</i>	起始部の分化異常	34
<i>Dusp6</i>	頭部および体部の拡大	37
<i>Frs2</i>	精巣上体の異常な形状	38
<i>Ar</i>	上皮細胞の分化異常	20
	起始部の欠如、上皮細胞の分化異常	40
	起始部の欠如、上皮細胞の分化異常	41
	小さな精巣上体	39
<i>Dicer</i>	上皮細胞の分化異常	42
<i>miR-29a</i>	低形成性精巣上体	44
<i>Lgr4</i>	輸出細管の閉塞	45
	短く拡張した単調な精巣上体管	46
<i>SHP-1</i>	精巣上体の区画化異常	36

(Murashima et al.<sup>5)</sup>より一部改変)

*Wnt5a*遺伝子欠損マウスおよび*Vagl2*変異マウスは、いずれもWD遠位部および生後における精管の短縮を示した<sup>28)</sup>。

一方、平島らは数理モデル解析から、精巣上体管の形態形成(迂曲または座曲)は管上皮の細胞増殖と管周囲組織の機械的抵抗に依存することを示して

いる<sup>29)</sup>。しかし、この細胞の力学的応答を支える分子の実体はわかっていない。

### 3. 生後における精巣上体の分化(区画化と管上皮細胞の分化)のメカニズム

マウスの精巣上体では4つの領域が区画化される

が、各領域は特定の mRNA やタンパク質の発現および細胞化学的特性を有する<sup>30,31)</sup>。輸出細管の結紮実験から、精巣上体の区画化障害や管上皮の分化障害は、雄性不妊を招くことが知られている<sup>32,33)</sup>。受容体型チロシンキナーゼ *Ros1* や Cowden 症候群の原因遺伝子 *PTEN* (*Phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10*) の欠損マウスおよびチロシンホスファターゼ *SHP-1* (*Src homology region 2 domain-containing phosphatase-1*) 変異マウスでは、精巣上体の起始部の分化障害が起るため、精巣上体における精子成熟が障害されて不妊となる<sup>34-36)</sup>。また、MAPK (Mitogen-activated protein kinase) シグナル伝達調節因子 *Dusp6* や線維芽細胞成長因子受容体 *FRS2* (*Fibroblast growth factor receptor substrate 2*) の各遺伝子欠損マウスの解析から、両遺伝子が精巣上体の頭部および体部における上皮細胞の増殖と生存に必要であることが明らかにされた<sup>37,38)</sup>。アンドロゲン受容体 *Ar* 遺伝子の欠損マウスでは、精巣上体の区画化および管上皮の分化が障害されるため、不妊となる<sup>20,39-41)</sup>。こうした区画化や上皮分化の調節は、microRNA のプロセッシングに必要な *Dicer1* 遺伝子がアンドロゲンの作用を介して関与することが示唆されている<sup>42-44)</sup>。

Wnt シグナル制御関連分泌タンパク質 R-spondin の受容体 LGR4 (Leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 4) の欠損マウス (*Lgr4<sup>-/-</sup>*) および遺伝子トラップ法を用いて *Lgr4* の発現を著しく低下させた変異マウス (*Lgr4<sup>Gt/Gt</sup>*) は、それぞれ輸出細管の閉塞や精巣上体管の低形成 (図 2) を伴った雄性不妊を示した<sup>45,46)</sup>。これらの結果から、*Lgr4* は精巣上体管の形態形成や上皮の区画化に重要な役割を果たしている可能性が示された<sup>46)</sup>。しかし、その分子機構はわかっていない。筆者らは最近、胎生期～幼若期の *Lgr4<sup>Gt/Gt</sup>* マウスにおいて、WD/精巣上体管上皮および周囲間葉細胞の増殖障害が引き起こされていることを確認している (未発表)。

嚢胞性線維症の原因遺伝子 *CFTR* (*Cystic fibrosis*

*transmembrane conductance regulator*) は精巣上体管上皮に発現しており、その欠損マウスは不妊の症状を示すが、精路の形態異常は認められていない<sup>47,48)</sup>。一方、この遺伝子変異はヒトで精巣上体の形態異常や先天性両側精管欠損を起こす結果、男性不妊となる<sup>49-51)</sup>。

### III. おわりに

以上、本稿で紹介した主に遺伝子改変マウスを用いた精力的な基礎研究により、精巣上体の発生・分化を制御する分子機構の一端が次第に明らかになってきた。この全体像を理解するためには、今後も上皮-間葉相互作用の視点から、精巣上体をはじめ精路系器官で発現する遺伝子/分子の生体内における機能解析を進める必要がある。

マウスの遺伝子異常が、ヒトの生殖能力に影響を及ぼすかどうかは不明である。しかし、遺伝子改変マウスを用いた精路系の発生・分化の研究は、リソースとして蓄積された樹立済みの系統を有効利用しつつ、さらに最新のゲノム編集技術を駆使して男性不妊症モデル動物のさらなる開発に繋がることが期待される。

精巣上体は管腔構造を有する臓器の代表例である。こうした器官形成の制御機構に関する基礎研究は、ヒトの先天異常やさまざまな臓器の上皮の形態形成異常を伴う疾患の原因解明にも繋がる。今後、生体内分子の活性動態を明らかにするための高速ライブイメージング顕微鏡を利用した実験系の開発などにより、器官形成に関与する機能分子の新たな制御機構への関与と機能解明が進展することが期待される。

### 謝 辞

本稿で紹介した研究の一部は JSPS 科研費 JP17K08493 の助成を受けたものです。

## 参考文献

- 1) Bedford, J.M.: Maturation, transport and fate of spermatozoa in the epididymis. In *Handbook of physiology*. Greep, R.O., Astwood, E.B. (eds) Vol. 5, pp. 303-317, American Physiological Society, Washington D.C., 1975.
- 2) Cooper, T.J.: Role of the epididymis in mediating changes in the male gamete during maturation. *Adv Exp Med Biol*, 377: 87-101, 1995.
- 3) 吉永一也：受精能賦与と受精. In：永遠の不死, 精子形成細胞の生物学 (小路武彦 編著) pp. 83-96, サイエンス社, 東京, 2009.
- 4) Joseph, A., et al: Development and morphogenesis of the Wolffian/Epididymal Duct, More Twists and Turns. *Dev Biol*, 325: 6-14, 2009.
- 5) Murashima, A., et al: Understanding normal and abnormal development of the Wolffian/epididymal duct by using transgenic mice. *Asian J Androl*, 17: 749-755, 2015.
- 6) Rodriguez, C.M., et al: The development of the epididymis. In: *The Epididymis. From Molecules to Clinical Practice*. Robaire B., Hinton B.T. (eds) pp. 251-267, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2002.
- 7) Torres, M., et al: Pax-2 controls multiple steps of urogenital development. *Development*, 121: 4057-4065, 1995.
- 8) Bouchard, M., et al: Nephric lineage specification by Pax2 and Pax8. *Genes Dev*, 16: 2958-2970, 2002.
- 9) Grote, D., et al: Pax2/8-regulated Gata 3 expression is necessary for morphogenesis and guidance of the nephric duct in the developing kidney. *Development*, 133: 53-61, 2006.
- 10) Pedersen, A., et al: Lim 1 is required for nephric duct extension and ureteric bud morphogenesis. *Dev Biol*, 288: 571-581, 2005.
- 11) Kobayashi, A., et al: Requirement of Lim1 for female reproductive tract development. *Development*, 131: 539-549, 2004.
- 12) Miyamoto, N., et al: Defects of urogenital development in mice lacking Emx2. *Development*, 124: 1653-1664, 1997.
- 13) Kitagaki, J., et al: FGF8 is essential for formation of the ductal system in the male reproductive tract. *Development*, 138: 5369-5378, 2011.
- 14) Okazawa, M., et al: Region-specific regulation of cell proliferation by FGF receptor signaling during the Wolffian duct development. *Dev Biol*, 400: 139-147, 2015.
- 15) Jost, A.: Recherches sur la differenciation sexuelle de l'embryon de Lapin. *Arch Anat Microsc Morphol Exp*, 36: 151-315, 1947.
- 16) Lyon, M.F., et al: X-linked gene for testicular feminization in the mouse. *Nature*, 227: 1217-1219, 1970.
- 17) Matsumoto, T., et al: Androgen receptor functions from reverse genetic models. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 85: 95-99, 2003.
- 18) Welsh, M., et al: New insights into the role of androgens in Wolffian duct stabilization in male and female rodents. *Endocrinology*, 150: 2472-2480, 2009.
- 19) Jost, A.: Problems of fetal endocrinology: the gonadal and hypophyseal hormones. *Recent Prog Horm Res*, 8: 379-418, 1953.
- 20) Murashima, A., et al: Essential roles of androgen signaling in Wolffian duct stabilization and epididymal cell differentiation. *Endocrinology*, 152: 1640-1651, 2011.
- 21) Donjacour, A.A., et al: FGF-10 plays an essential role in the growth of the fetal prostate. *Dev Biol*, 261: 39-54, 2003.
- 22) Gupta, C.: The role of epidermal growth factor receptor (EGFR) in male reproductive tract differentiation: stimulation of EGFR expression and inhibition of Wolffian duct differentiation with anti-EGFR antibody. *Endocrinology*, 137: 905-910, 1996.
- 23) Gupta, C., et al: The role of EGF in testosterone-induced reproductive tract

- differentiation. *Dev Biol*, 146: 106-116, 1991.
- 24) Tomaszewski, J., et al: Essential roles of inhibin beta A in mouse epididymal coiling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 11322-11327, 2007.
  - 25) Nie, X., et al: Pkd1 is required for male reproductive tract development. *Mech Dev*, 130: 567-576, 2013.
  - 26) Kumar, M., et al: Epithelial Wnt/ $\beta$ catenin signalling is essential for epididymal coiling. *Dev Biol*, 412: 234-249, 2016.
  - 27) Kumar, M., et al: Canonical Wnt/ $\beta$ -catenin signaling regulates postnatal mouse epididymal development but does not affect epithelial cell differentiation. *Endocrinology*, 158: 4286-4299, 2017.
  - 28) Warr, N., et al: Sfrp1 and Sfrp2 are required for normal male sexual development in mice. *Dev Biol*, 326: 273-284, 2009.
  - 29) Hirashima, T.: Pattern formation of an epithelial tubule by mechanical instability during epididymal development. *Cell Rep*, 9: 866-873, 2014.
  - 30) Johnston, D.S., et al: The mouse epididymal transcriptome: transcriptional profiling of segmental gene expression in the epididymis. *Biol Reprod*, 73: 404-413, 2005.
  - 31) Abou-Haila, A., et al: Regional differences of the proximal part of mouse epididymis: morphological and histochemical characterization. *Anat Rec*, 209: 197-208, 1984.
  - 32) Turner, T.T., et al: p53 independent, region-specific epithelial apoptosis is induced in the rat epididymis by deprivation of luminal factors. *Mol Reprod Dev*, 53: 188-197, 1999.
  - 33) Xu, B., et al: Testicular lumicrine factors regulate ERK, STAT, and NF $\kappa$ B pathways in the initial segment of the rat epididymis to prevent apoptosis. *Biol Reprod*, 84: 1282-1291, 2011.
  - 34) Sonnenberg-Riethmacher, E., et al: The c-ros tyrosine kinase receptor controls regionalization and differentiation of epithelial cells in the epididymis. *Genes Dev*. 10: 1184-1193, 1996.
  - 35) Xu, B., et al: PTEN signaling through RAF1 proto-oncogene serine/threonine kinase (RAF1)/ERK in the epididymis is essential for male fertility. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111: 18643-18648, 2014.
  - 36) Keilhack, H., et al: Negative regulation of Ros receptor tyrosine kinase signaling. An epithelial function of the SH2 domain protein tyrosine phosphatase SHP-1. *J Cell Biol*, 152: 325-334, 2001.
  - 37) Xu, B., et al: p-MAPK1/3 and DUSP6 regulate epididymal cell proliferation and survival in a region-specific manner in mice. *Biol Reprod*, 83: 807-817, 2010.
  - 38) Xu, B., et al: The role of fibroblast growth factor receptor substrate 2 (FRS2) in the regulation of two activity levels of the components of the extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway in the mouse epididymis. *Biol Reprod*, 89: 1-13, 2013.
  - 39) Simanainen, U., et al: Severe subfertility in mice with androgen receptor inactivation in sex accessory organs but not in testis. *Endocrinology*, 149: 3330-3338, 2008.
  - 40) Krutskikh, A., et al: Targeted inactivation of the androgen receptor gene in murine proximal epididymis causes epithelial hypotrophy and obstructive azoospermia. *Endocrinology*, 152: 689-696, 2011.
  - 41) O'Hara, L., et al: Androgen receptor expression in the caput epididymal epithelium is essential for development of the initial segment and epididymal spermatozoa transit. *Endocrinology*, 152: 718-729, 2011.
  - 42) Bjorkgren, I., et al: Dicer1 ablation in the mouse epididymis causes dedifferentiation of the epithelium and imbalance in sex steroid signaling. *PLoS One*, 7: e38457, 2012.
  - 43) Ma, W., et al: MicroRNA-29a inhibited epididymal epithelial cell proliferation by targeting nuclear autoantigenic sperm protein (NASP). *J Biol Chem*,

- 287: 10189-10199, 2012.
- 44) Ma, W., et al: An androgen receptor-microrna-29a regulatory circuitry in mouse epididymis. *J Biol Chem*, 288: 29369-29381, 2013.
- 45) Mendive, F., et al: Defective postnatal development of the male reproductive tract in LGR4 knockout mice. *Dev Biol*, 290: 421-434, 2006.
- 46) Hoshii, T., et al: LGR4 regulates the postnatal development and integrity of male reproductive tracts in mice. *Biol Reprod*, 76: 303-313, 2007.
- 47) Reynaert, I, et al: Morphological changes in the vas deferens and expression of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) in control, deltaF508 and knock-out CFTR mice during postnatal life. *Mol Reprod Dev*, 55: 125-135, 2000.
- 48) Xu, W.M., et al: Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is vital to sperm fertilizing capacity and male fertility. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 9816-9821, 2007.
- 49) Claustres, M.: Molecular pathology of the CFTR locus in male infertility. *Reprod Biomed Online*, 10: 14-41, 2005.
- 50) Radpour, R., et al: Genetic investigations of CFTR mutations in congenital absence of vas deferens, uterus, and vagina as a cause of infertility. *J Androl*, 29: 506-513, 2008.
- 51) Ruan, Y.C., et al: CFTR interacts with ZO-1 to regulate tight junction assembly and epithelial differentiation through the ZONAB pathway. *J Cell Sci*, 127: 4396-4408, 2014.