

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09679

研究課題名（和文）精巣の微小循環障害に対する漢方治療の挑戦

研究課題名（英文）The trial of protection of testicular microcirculation by the use of traditional Japanese medicine

研究代表者

小川 夕輝（Ogawa, Yuki）

東京医科大学・医学部・助手

研究者番号：20529250

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：男性不妊症の約70%は精子形成障害であり、その大きな要因に精巣の微小循環障害が関与している。治療にはホルモン剤やビタミン剤などを用いられているが、効果は一定でなく、難治性である。そこで、この病態に対する治療において、微小循環改善作用のあるといわれる漢方製剤の役割が期待される。カドミウム投与による多発性精巣微小梗塞モデルマウスを用いて、桂枝茯苓丸と当帰四逆加呉茱萸生姜湯を検証したところ、カドミウム単独投与では激しい精子形成障害、精細管の破綻、異形成の強い間質細胞の出現が認められるが、桂枝茯苓丸または当帰四逆加呉茱萸生姜湯含有餌の食餌により、それら障害レベルが軽度になっていることが観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

過去数十年の間に、日本を含む先進諸国において男性（雄性）の精子数減少が進行し、男性不妊症患者数が増加している。男性不妊症は、女性の不妊症と比較し有効な治療法が確立されていないため、漢方製剤を用いた治療方法の確立が期待されている。男性不妊症の約70%を占める特発性（=原因不明）の精子形成障害は、この微小循環障害（=末梢血管障害）が大きな要因として関与していることが分かっているが、漢方製剤を用いた精子形成障害の治療において、動物実験レベルで研究している報告は非常に少なく、今回の我々の研究成果により、精巣の微小循環障害に対する漢方治療効果の可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Clinically, 70% of male infertility cases are categorized as idiopathic spermatogenic disturbance that is a refractory disease. It has been considered that microcirculatory disturbance in testes may be involved in this idiopathic disease. Meanwhile the hormonal agents or vitamin supplements have been used to treat it, those effects are not enough. In the present study, we tried to examine the effect of two traditional Japanese medicines, “Keishibukuryogan” and “Tokishigyakukagoshuyushokyo”, that are considered as microcirculation improving agents. The effects of those agents were evaluated on multiple testicular infarctions induced by CdCl<sub>2</sub> administration. The results showed that CdCl<sub>2</sub>-treated mice showed the severe breakdown of the seminiferous tubules and dysplasia of the interstitial cells. In contrast, the treatments with “Keishibukuryogan” and “Tokishigyakukagoshuyushokyo” reduced the CdCl<sub>2</sub>-toxicity on the testis in some degree.

研究分野：雄性生殖免疫学

キーワード：精巣 微小循環障害 漢方

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

世界保健機関 (WHO) の調査によると、先進諸国において約 1 割のカップルは不妊症 ( 健常に性行為があるにも関わらず、2 年間妊娠をしない状況 ) を患っており、その半数は男性側に原因があることが明らかになっている。男性不妊症の約 70% は特発性 (= 原因不明) 精子形成障害であり、その大きな要因に精巣の微小循環障害 (= 末梢血管障害) が関与していることが分かっている。精巣の微小循環障害の起こる原因は、高血圧、糖尿病、高脂血症、喫煙などが挙げられ、これらは男性不妊症のリスク因子として知られている。精巣は絶え間ない精子形成のために豊富な血流を必要とする臓器であり、微小循環障害によって精子形成障害が引き起こされやすい。また、精細胞は高い自己抗原性を有しているため、精巣の微小循環障害が引き起こされると、局所的な虚血による精細管の変性が生じ、精細胞の管外への漏出 精細胞抗原に対する自己免疫応答 自己免疫性炎症によるさらなる精上皮破壊 ・・・を慢性的に繰り返し、“悪循環” が起こる。このように、精巣の微小循環障害が生じると、徐々に精子形成障害が進行するメカニズムが想定される。

本研究では、精巣の微小循環障害モデル動物を用いて、前述した悪循環を断ち切ることを目的に、現在の漢方処方薬である八味地黄丸、補中益気湯に加えて、微小循環改善を期待できる漢方製剤 ( 桂枝茯苓丸および当帰四逆加呉茱萸生姜湯 ) を用いる漢方治療に挑戦しようと考えた。

### 2. 研究の目的

本研究では、精巣の微小循環障害モデルマウスを作製して精子形成障害を引き起こし、微小循環改善を期待できる漢方製剤 ( 桂枝茯苓丸および当帰四逆加呉茱萸生姜湯 ) の効能を明らかにする。

精子形成障害は、既存の治療法では大きな改善が期待できないため、漢方製剤を用いた治療を積極的に推し進める意義が非常に大きい。また、漢方製剤を用いた精子形成障害の治療において、動物実験レベルで研究している報告は非常に少なく、特に精巣の微小循環障害の治療に関する報告は未だない。循環系は生体にとって重要なシステムの 1 つであり、動脈系・微小循環系・静脈系に分けられる。そのうちの動脈系は西洋医学が得意とするところで、薬剤では抗凝固薬・血小板凝集抑制薬が有効であり、動脈が血栓で詰まればカテーテルを使って血流を再開・改善させるインターベンションが本領を発揮する。しかし、微小循環系になると西洋医学は途端に調子が悪くなり、微小循環障害を効果的に治療する手段をもたない。生体において、毛細血管は全血管の 90% を占め、微小循環系が果たす役割は非常に大きい。微小循環系が円滑に流れないことは生体にとって種々の疾患のバックグラウンドになっており、多くの愁訴の原因になっていると考えられる。漢方医学は古来よりこの微小循環系に着目し、微小循環障害を「瘀血」と表現し、瘀血は気血水理論の一翼を担ってきた。英文の論文では、瘀血は stagnant blood syndrome と表現され、「血」と呼ばれるものが停滞した状態である。本研究では精巣の微小循環障害に対する漢方治療に必要な学術的基盤を作り、得られたデータを臨床に還元することで、精巣の微小循環障害に対する漢方治療の道筋を作ることに関与したいと考えた。

### 3. 研究の方法

#### < 動物・方法 >

8 週齢の ICR 雄マウスに対して、 $CdCl_2$  (2.0mg/kg/body weight) を腹腔内投与したものを精巣微小循環障害モデルマウスとした。コントロールには、生理食塩水のみ 0.2ml を注射したものをを用いた。

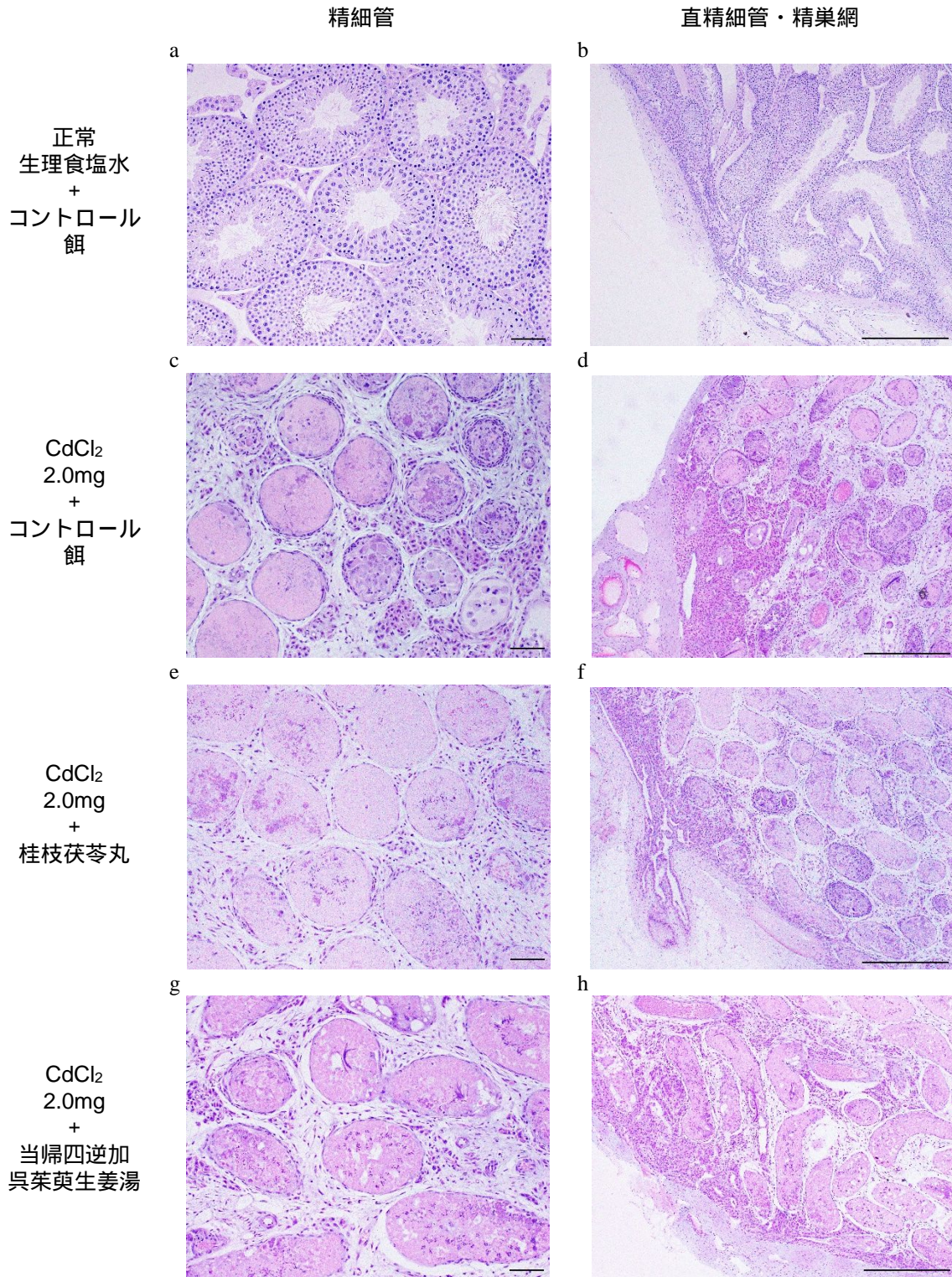
コントロール餌、漢方製剤を含有させた餌 ( 漢方製剤 : 桂枝茯苓丸および当帰四逆加呉茱萸生姜湯について、体重換算でそれぞれヒト投薬量の 3 倍量を餌に含有 ) を 15 日間自由摂食させた後、上記方法によって精巣の微小循環障害を惹起した。その後同様の餌をさらに 15 日間自由摂食させた後に屠殺し、精巣の摘出が行われた。

#### < 精子形成像の観察 >

摘出した精巣について、ブアン固定液にて 3 日間の浸漬固定後、エタノール脱水、プラスチック包埋を行った。ミクロトーム ( HN340E; Microme 社 ) にて 5  $\mu$ m 圧で切片を薄切し、ヘマトキシリンと 2% エオシンにて染色 ( HE 染色 ) を行った。精細管、直精細管および精巣網における組織像について、光学顕微鏡による評価が行われた。

#### 4. 研究成果

以下に各モデルマウスにおける精巣組織像 ( a, c, e, g は精細管、 b, d, f, h は直精細管および精巣網の領域 ) を示す ( Bar = 500  $\mu$ m )



- a, b: 正常のマウス精細管、直精細管・精巣網像。
- c, d: 精細管の激しい凝固壊死、精細管径の狭小化と精細管壁の破綻と、異型性の強い間質細胞の増殖が認められた。
- e, f: 精上皮の凝固壊死はあるが、精細管壁は比較的保たれている。間質は fibroblast 様細胞が多く認められる。異型性の強い間質細胞の増殖は認められない。
- g, h: 精細管の萎縮は強いが、精細管壁は保たれており、伸長精子細胞が認められる精細管も多い。間質は疎であり、fibroblast 様細胞が多く認められた。

<まとめ>

本研究は CdCl<sub>2</sub> による多発性精巣微小梗塞（すなわち精巣微小循環障害）について、桂枝茯苓丸および当帰四逆加呉茱萸生姜湯投与の効果を検証した。CdCl<sub>2</sub> 単独投与では激しい精子形成障害、精細管の破綻、異形成の強い間質細胞の出現が認められた。一方、桂枝茯苓丸または当帰四逆加呉茱萸生姜湯含有餌の食餌により、精子形成障害の程度が明らかに抑制されること、その他の障害についても軽症化を確認することができた。

今後は、これら漢方製剤が精巣機能をどの程度保護・改善するか、精子の性状および妊孕性をどの程度保護・改善するか、さらに、漢方製剤が精巣機能、精子の性状および妊孕性の改善・保護に寄与するための作用機序について、詳細な解析を行うことを予定している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Qu N, Kuramasu M, Nagahori K, Ogawa Y, Suyama K, Hayashi S, Itoh M
2. 発表標題 Co-administration of the traditional medicines Hachimi-jio-gan and Hochu-ekki-to can reverse busulfan-induced aspermatogenesis
3. 学会等名 The 1st Asian Congress for Reproductive Immunology (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高橋達彦, 永堀健太, 倉升三幸, 表原拓也, 李 忠連, 小川夕輝, 伊藤正裕
2. 発表標題 異性間骨髄移植による男性生殖器への影響に関する組織学的解析
3. 学会等名 第37回日本生殖免疫学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 曲 寧, 伊藤正裕, 倉升三幸, 永堀健太, 小川夕輝, 坂部 貢
2. 発表標題 Co-administration of traditional medicines Hachimi-jio-gan and Hochu-ekki-to can reverse busulfan-induced aspermatogenesis
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第39回学術大会・第30回日本性機能学会中部総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 曲 寧, 伊藤正裕, 倉升三幸, 永堀健太, 小川夕輝, 隅山香織, 林 省吾, 坂部 貢
2. 発表標題 ブスルファン処置後の精子形成障害における漢方薬の単独または併用投与における治療効果の差違
3. 学会等名 第35回日本生殖免疫学会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 曲 寧, 倉升三幸, 永堀健太, 小川夕輝, 寺山隼人, 伊藤正裕
2. 発表標題 The different effect of administration of traditional Japanese medicines alone or in combination on busulfan-induced aspermatogenesis.
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第38回学術大会および第28回精子形成・精巣毒性研究会 共同開催学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	伊藤 正裕 (Itoh Masahiro)  (00232471)	東京医科大学・医学部・主任教授  (32645)	
研究分担者	宮宗 秀伸 (Miyaso Hidenobu)  (80422252)	東京医科大学・医学部・講師  (32645)	
研究分担者	呉 曦 (Wu Xi)  (00850447)	東京医科大学・医学部・助手  (32645)	
研究分担者	永堀 健太 (Nagahori Kenta)  (50759561)	東京医科大学・医学部・助教  (32645)	
研究分担者	倉升 三幸 (北岡三幸) (Kuramasu Miyuki)  (70468643)	東京医科大学・医学部・助手  (32645)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------