

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16473

研究課題名（和文）三次元解析による精子形成障害メカニズムの解明

研究課題名（英文）Three-dimensional analysis of spermatogenesis disorder

研究代表者

仲田 浩規（Nakata, Hiroki）

金沢大学・医学系・講師

研究者番号：80638304

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：正常な精子形成と精子形成障害が混在するモデル動物の精巣を三次元再構築し、解析することで、障害が精巣内のどの場所から、どのような変化として始まり、どのように進展していくかを明らかにした。抗癌剤投与の場合、精子形成障害が起こりやすい決まった三次元部位は存在しなかった。一方、加齢性障害の場合、精巣網近位と精巣の中心に精子形成障害が起こりやすい場所が偏っていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬剤または加齢という全く異なる要因において、正常または精子形成障害が起こりやすい三次元部位がそれぞれ明らかになった。本研究で得られた成果は、精子形成障害を研究する上で基礎的なデータとなり、男性の妊孕性・不妊症の研究の発展に寄与できる。

研究成果の概要（英文）：We prepared mice with different degrees of spermatogenesis disorder by changing the doses of busulfan injection and different aged mice. Then, the 3D-reconstructed seminiferous tubules were analyzed to examine if the impaired or normal spermatogenesis was distributed preferentially in particular sites in seminiferous tubules or in the testis. There were 3D positions with the specific proportions common to different testes not in busulfan-induced mice but in aged mice.

研究分野：生殖生物学

キーワード：精巣 精細管 三次元 三次元再構築 3D 精子形成 ブスルファン 加齢

1. 研究開始当初の背景

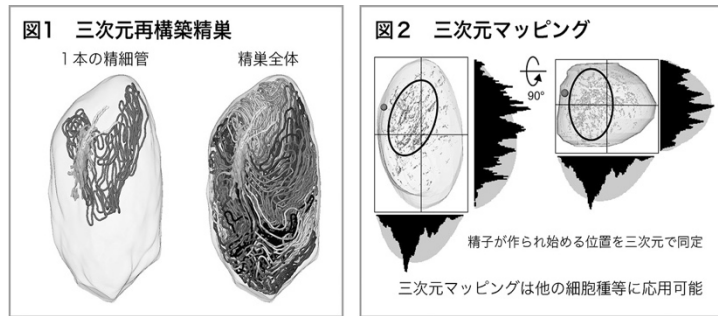
日本を含む先進国の約 15%のカップルが不妊と推計され、その原因の半数は男性側にある。男性側の主な原因は精子が作られる過程（精子形成）の障害であるが、その多くは原因不明の特発性造精機能障害と診断されている。今もなお原因が明確になっていないのは、精子形成障害が生じる要因が多様であることと、発症メカニズムが十分に解明されていないためである。男性不妊症の根本的な治療を可能にし、自然妊娠につなげるためには、精子形成障害の発生過程の全容を解明する必要があり、従来とは異なる研究アプローチが必須である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「精子形成障害のある精巣において、その障害は精巣内のどの場所から、どのような変化として始まり、どのように進展していくか」を明らかにし、新たな診断・治療戦略につなげることである。

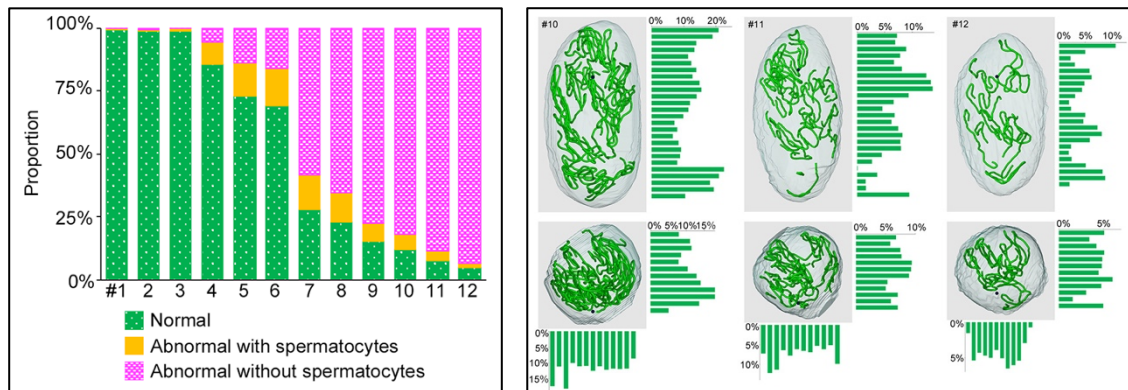
3. 研究の方法

申請者が考案した”三次元再構築精巣”（図1）と”三次元マッピング”（図2）という研究ツールと、正常な精子形成と精子形成障害が混在するモデル動物を用いることで、障害が精巣内のどの場所から、どのような変化として始まり、どのように進展していくかを明らかにしようとした。正常な精子形成と精子形成障害が1つの精巣内に混在するモデル動物として、精子形成障害を引き起こす抗癌剤（ブスルファン）投与モデルと老化モデルを作製した。さらに、障害の程度が異なるモデルとして、ブスルファンは体重あたり0、10、20、30 mgを投与し、老化モデルとして12、18、24、30か月齢を各3例作製した。ブアン固定パラフィンブロックの連続切片を作製し、PAS染色を行なった。すべての切片をバーチャルスライドスキャナでデジタル化し、ImageJとPhotoshopを用いて画像処理を行い、Amiraを用いて精細管の三次元再構築を行った。再構築した精細管の中心線も同じソフトを用いて作製した。中心線を障害の程度により分類した。

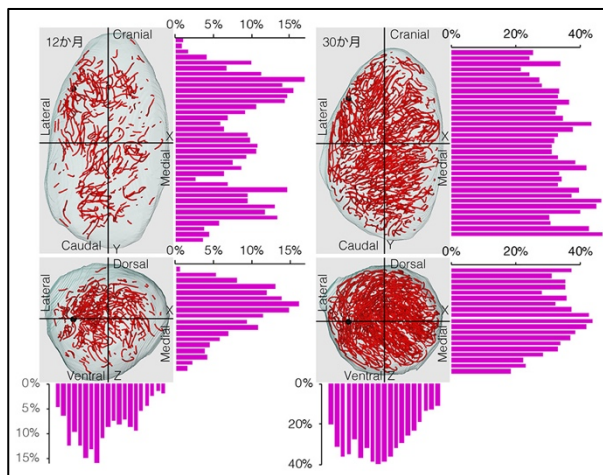
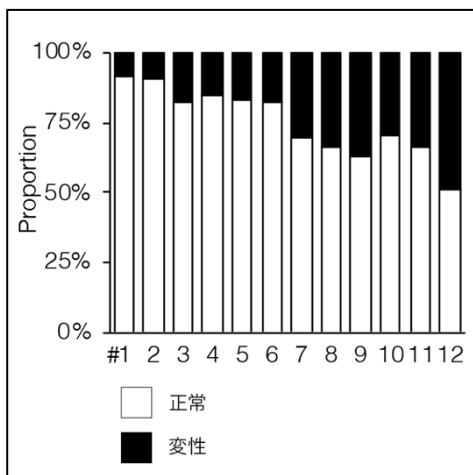


4. 研究成果

抗癌剤投与モデルに関し、ブスルファン投与量を増やすと、精巣体積と精細管の長さは有意に減少し、精子形成障害のある領域が増加した（下左図）。精子形成障害の程度は管の順番、管の長さ、精巣網から近い場所とは関連がなく、分岐点から近い場所に障害が多い傾向があった。精巣の3次元部位により障害が最初におこりやすい部位、最後まで正常が残りやすい部位があるが、それは個体により一定しないことがわかった（下右図）。精子形成が障害されやすい決まった三次元部位は存在せず、管の外にある何らかの因子によりその部位が島状にかたまっていることが示唆された。



老化モデルに関し、精細管の数、終点、分岐点、全長など、精細管の基本構造は加齢とともに変化しなかった。セルトリ細胞の液胞を加齢性変化の目印とし変性部位を三次元で解析したところ（下左図）、精巣網近位と精巣の中心に偏って存在した。また、1本ずつの精細管の走行を見ると、白膜直下に正常部位が残存しやすい傾向があった（下右図）。原因として、精巣網に近い移行領域が免疫細胞が豊富であること、精巣中心部の方が表面より持続的な熱にさらされているためと考えられる。また、12か月齢と30か月齢のマウスを比較すると wave は加齢に従い、数は増加していったが、長さは短くなっていった。これは加齢に伴い、絶え間ない精子形成サイクルが途切れ、正常な精子形成に支障をきたした結果だと思われる。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nakata Hiroki, Omotehara Takuya, Itoh Masahiro, Iseki Shoichi, Mizokami Atsushi	4. 巻 9
2. 論文標題 Three dimensional structure of testis cords in mice and rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Andrology	6. 最初と最後の頁 1911 ~ 1922
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/andr.13069	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakata Hiroki, Iseki Shoichi, Mizokami Atsushi	4. 巻 20
2. 論文標題 Three dimensional reconstruction of testis cords/seminiferous tubules	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 402 ~ 409
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rmb2.12413	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nakano Taito, Nakata Hiroki, Kadomoto Suguru, Iwamoto Hiroaki, Yaegashi Hiroshi, Iijima Masashi, Kawaguchi Shohei, Nohara Takahiro, Shigehara Kazuyoshi, Izumi Kouji, Kadono Yoshifumi, Mizokami Atsushi	4. 巻 11
2. 論文標題 Three-dimensional morphological analysis of spermatogenesis in aged mouse testes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-02443-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Omotehara Takuya, Nakata Hiroki, Nagahori Kenta, Itoh Masahiro	4. 巻 157
2. 論文標題 Comparative anatomy on the development of sperm transporting pathway between the testis and mesonephros	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Histochemistry and Cell Biology	6. 最初と最後の頁 321 ~ 332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00418-021-02057-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Omotehara Takuya, Nakata Hiroki, Itoh Masahiro	4. 巻 251
2. 論文標題 Three dimensional analysis of mesonephric tubules remodeling into efferent tubules in the male mouse embryo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Developmental Dynamics	6. 最初と最後の頁 513 ~ 524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/dvdy.410	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakata Hiroki, Yoshiike Miki, Nozawa Shiari, Sato Yoko, Iseki Shoichi, Iwamoto Teruaki, Mizokami Atsushi	4. 巻 238
2. 論文標題 Three dimensional structure of seminiferous tubules in the Syrian hamster	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Anatomy	6. 最初と最後の頁 86 ~ 95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/joa.13287	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakata Hiroki, Nakano Taito, Iseki Shoichi, Mizokami Atsushi	4. 巻 8
2. 論文標題 Three-Dimensional Analysis of Busulfan-Induced Spermatogenesis Disorder in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 609278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2020.609278	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 仲田浩規
2. 発表標題 精巢と精子形成障害の三次元解析
3. 学会等名 第31回精子形成・精巢毒性研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 仲田浩規, 表原拓也, 伊藤正裕, 溝上敦
2. 発表標題 マウス・ラット精巢索の3次元構造
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第40回学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 仲田浩規, 表原拓也, 伊藤正裕, 井関尚一, 溝上敦
2. 発表標題 マウス・ラット精巢索の3次元構造
3. 学会等名 第81回日本解剖学会中部支部学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 仲田浩規, 溝上敦
2. 発表標題 精子形成障害モデルマウスの三次元解析
3. 学会等名 第109回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 仲田浩規, 表原拓也, 伊藤正裕, 井関尚一, 溝上敦
2. 発表標題 マウス・ラット精巢索の3次元構造
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 仲田浩規
2. 発表標題 マウス精巢外精路の三次元構造
3. 学会等名 第80回日本解剖学会中部支部学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 仲田浩規、吉池美紀、野澤資亜利、佐藤陽子、井関尚一、岩本晃明、溝上敦
2. 発表標題 マウス精巢輸出管・上体管の三次元構造
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第39回学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 仲田浩規、溝上敦
2. 発表標題 ハムスター精細管の三次元構造
3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 仲田浩規
2. 発表標題 マウス精巢外精路の三次元構造
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第38回学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 仲田浩規
2. 発表標題 Three-dimensional structure of mouse seminiferous tubules
3. 学会等名 69th Annual Meeting of Korean Association of Anatomist (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 仲田浩規
2. 発表標題 ハムスター精細管の三次元構造
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020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

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