

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18584

研究課題名（和文）精索静脈瘤の男性不妊に及ぼす機序の解明と新規治療薬としてのシリコンナノ粒子の応用

研究課題名（英文）Clarification of the mechanism of varicocele on male infertility and investigation of the effectiveness of Si-based agent as a novel therapeutic agent

研究代表者

稲垣 裕介（Inagaki, Yusuke）

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80804400

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）：精索静脈瘤による造精機能障害の原因の一つが酸化ストレスとされており、酸化ストレスを改善させる物質として水素に着目した。大阪大学産業科学研究所との共同研究で水と反応し大量かつ持続的に水素を発生させることができるシリコンナノ粒子を開発し、精索静脈瘤による男性不妊に対するシリコンナノ粒子内服の治療効果を精索静脈瘤ラットモデルで検討した。その結果シリコンナノ粒子の内服により精巣上体精子運動率が改善し、精子酸化ストレス、体外受精の受精率が改善することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

男性不妊症の約8割を占める造精機能障害の原因で、原因不明に次いで多いのが精索静脈瘤である。精索静脈瘤による男性不妊では手術により精液所見や自然妊娠率が改善することから積極的に手術が行われているが、手術以外の有効な治療法は存在しない。本研究で用いたシリコンナノ粒子は、精索静脈瘤ラットモデルに経口摂取させることで精巣上体精子運動率が改善し、精子酸化ストレス、体外受精の受精率が改善した。シリコンナノ粒子の経口摂取は、外科的治療法しかなかった精索静脈瘤による男性不妊に対する新規内服治療法になりうると思われる。

研究成果の概要（英文）：One of the causes of spermatogenesis dysfunction caused by varicocele is considered to be oxidative stress, and we have focused on hydrogen as a substance that can improve oxidative stress. In collaboration with the Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University, we developed a Si-based agent that reacts with water to generate hydrogen in large quantities and continuously, and examined the therapeutic effects of oral administration of the Si-based agent on male infertility caused by varicocele in a varicocele rat model. The results showed that oral administration of the Si-based agent improved epididymal sperm motility, sperm oxidative stress, and the fertilization rate of in vitro fertilization. Oral intake of Si-based agent is expected to be a new oral treatment for male infertility caused by varicocele.

研究分野：男性不妊

キーワード：男性不妊 精索静脈瘤

1. 研究開始当初の背景

(1) 男性不妊の現状

わが国や欧米諸国では、全夫婦の割以上が不妊に悩まされており、その半分は男性側に原因がある男性不妊である。しかし、男性不妊については遺伝的素因や環境ホルモンなどの関与が示唆されているが大部分が原因不明である。少子高齢化が進む我が国において不妊症は出生率低下の要因であり、少子化社会対策基本法〔2003年〕にもその治療支援が盛り込まれ、不妊症への社会的関心が一層高まっている。2016年1月からは特定不妊治療助成の一環として男性不妊治療への助成金新設が開始され、2019年度から男性不妊治療への助成金が女性と同水準に引き上げられるなど、男性不妊治療の重要性が認識され、社会の期待も高まってきている。

(2) 精索静脈瘤と治療の現状

男性不妊症の約8割を占める造精機能障害の原因で、原因不明に次いで多いのが精索静脈瘤である。精索静脈瘤は一般男性では15%程度の頻度であるが、男性不妊症患者では30%以上に認め、二次不妊症患者では80%もの高率に認める。男性不妊には原因が不明で治療法が無いものも多量中、精索静脈瘤は治療により精液所見の改善および妊孕性の改善が見込めることが分かっている疾患である。そのため不妊症を伴う精索静脈瘤患者には積極的に手術が行われている。ただ、現在有効な治療法は手術療法のみであり、身体的侵襲の少ない治療法へのニーズは高まっている。頻度が高いにもかかわらず、精索静脈瘤が不妊症を引き起こす原因は未だわからない部分が多いなかで、活性酸素による酸化ストレスの増加が原因の一つとして報告されてきた。我々は酸化ストレスを改善させる抗酸化物質として近年有効性が報告されている水素に着目した。

(3) 新規水素摂取法であるシリコンナノ粒子の開発

水素の摂取法には水素ガスの吸入や水素水の経口摂取などがあるが、取り扱いが難しい点や含有量が少ない点が問題であった。大阪大学産業科学研究所で開発されたシリコンナノ粒子は簡便かつ持続的に水素を摂取できる新たな水素摂取法である。本製剤はアルカリ性環境下で水と反応し水素を発生するためヒトの場合ではアルカリ性の腸内で水素が発生すると考えられる。飽和水素水1Lには18mLの水素しか含まない一方でシリコンナノ粒子100mgからは腸内で400mLの水素が持続的に発生すると見込まれ、シリコンナノ粒子の経口摂取により効率的かつ持続的に水素を摂取できると考えた。

2. 研究の目的

(1) 精索静脈瘤による造精能低下のメカニズムの解明

(2) 精索静脈瘤による男性不妊症に対する、シリコンナノ粒子摂取の新規治療法としての有用性の検討

3. 研究の方法

精索静脈瘤ラットモデルは、8週齢のSDラットを用いて左腎静脈の部分結紮、左外精静脈結紮、左内精静脈への流入枝の結紮を行い作成した。シリコン含有餌は普通餌にシリコンナノ粒子1%を含む餌を使用した。8週齢のSDラットにそれぞれsham手術、精索静脈瘤作成術を行いsham群・精索静脈瘤群とし、手術直後から普通餌及び1%シリコン含有餌を摂取させ12週齢で評価を

行った。評価項目は、精巣・精巣上体精子、精子酸化ストレス、精子受精能とした。精巣は精巣重量、精巣病理組織 Johnsen ' s score で評価し、精巣上体精子は精子濃度及び精子運動率で評価した。精子酸化ストレスは酸化ストレスマーカーである 8-OHdG (8-hydroxy-2-deoxyguanosine)を免疫組織化学染色で評価し 8-OHdG 陽性率を算出、精子 DNA 断片化は sperm chromatin dispersion test (SCD test)で評価し DNA 断片化率を算出した。精子受精能は精巣上体精子と 3 週齢雌性ラットの卵子を用いて体外受精を行い 2 細胞期に達したものを受精と判断し、受精率を算出した。

4. 研究成果

(1) 精索静脈瘤による精巣上体精子運動率の低下とシリコンナノ粒子の効果

精巣および精巣上体精子の評価では、sham 群においてはシリコンナノ粒子の摂取による変化は認めなかった。このことから、シリコンナノ粒子の摂取が精巣や精巣上体精子へ悪影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。精索静脈瘤普通餌群では、精巣重量、精巣病理組織、精巣上体精子濃度は変化を認めなかった。その一方で、精巣上体精子運動率は精索静脈瘤普通餌群で sham 群に比べ有意に低下しており、シリコン含有餌群では普通餌群と比べ有意に上昇していた(図 1)。シリコンナノ粒子の摂取が、精索静脈瘤により悪化した精巣上体精子運動率を改善させたと考えられる結果であった。

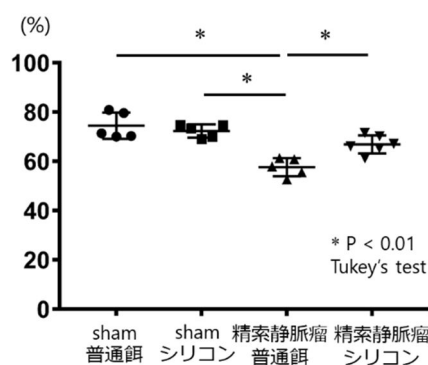


図 1 左精巣上体精子運動率

(2) 精索静脈瘤による精巣上体精子の酸化ストレスの増加とシリコンナノ粒子の効果

精巣上体精子の 8-OHdG 陽性率は、精索静脈瘤普通餌群で sham 群と比べ有意に上昇しており、精巣上体精子の酸化ストレスの増加を認めた。そして、シリコン含有餌の摂取により精索静脈

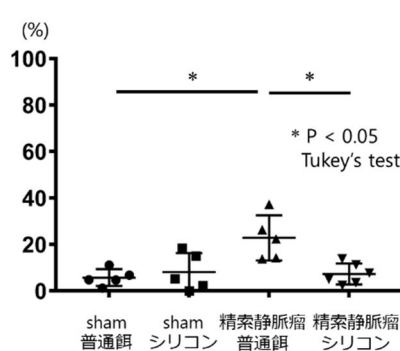


図 2 8-OHdG陽性率

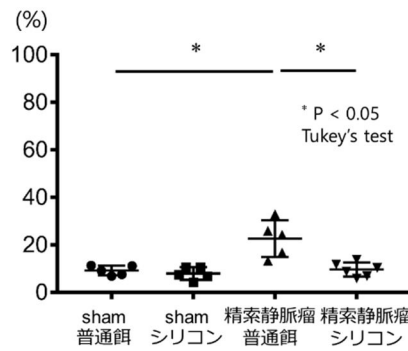


図 3 DNA断片化率

瘤普通餌群と比べ 8-OHdG 陽性率は有意に低下した。また、精巣上体精子 DNA の断片化率も、精索静脈瘤普通餌群で sham 群と比べ有意に上昇しており、シリコン含有餌の摂取により有意に低下した。このことから、精索静脈瘤ラットでは精巣上体精子の酸化ストレスが有意に増加しており、シリコンナノ粒子の摂取が精子の酸化ストレスを減少させたと考えた。

(3) 精索静脈瘤による IVF 受精率の低下とシリコンナノ粒子の効果

体外受精の受精率は、精索静脈瘤普通餌群で sham 群に比べ有意に低下していたが、シリコン含有餌の摂取により普通餌群より有意に上昇していた。

以上の結果をまとめると、シリコンナノ粒子の経口摂取による精巣や精巣上体精子への悪影響は低いと考えられる。そして、シリコンナノ粒子の経口摂取は精索静脈瘤により悪化した精巣上体精子運動率を改善させた。さらに、精巣上体精子酸化ストレス、精巣上体精子 DNA 断片化を減少させ、体外受精の受精率を改善させた。

このことから、水素の新規摂取法であるシリコンナノ粒子は、これまで外科的治療しか存在しなかった精索静脈瘤による男性不妊に対する、新規内服治療法になりうると考える。本研究ではこれまでの報告と同様に、酸化ストレスが精索静脈瘤による男性不妊症の原因の一つとなっている可能性があることはラットモデルを用いて示すこと出来た。しかし、精索静脈瘤による男性不妊における他の原因や酸化ストレスが増加するメカニズムについては解明に至らなかった。これらの点について、今後の研究で明らかにしていく必要がある。

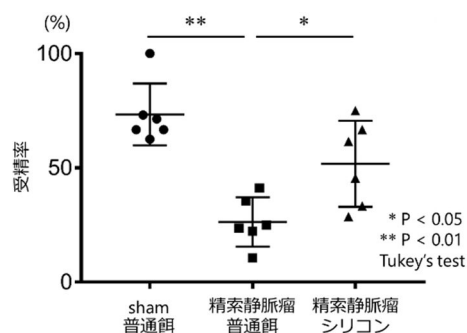


図4 IVF受精率

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Inagaki Yusuke, Fukuhara Shinichiro, Imamura Ryoichi, Kobayashi Yuki, Kuribayashi Sohei, Okada Koichi, Sekii Yosuke, Takezawa Kentaro, Kiuchi Hiroshi, Uemura Motohide, Kobayashi Hikaru, Nonomura Norio	4. 巻 9
2. 論文標題 Novel hydrogen producing Si based agent reduces oxidative stress, and improves sperm motility and in vitro fertilization rate in varicocoele	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Andrology	6. 最初と最後の頁 376 ~ 383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/andr.12890	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 稲垣裕介、岡田統一、関井洋輔、竹澤健太郎、福原慎一郎、木内 寛、藤田和利、植村元秀、今村亮一、小林悠輝、小林 光、野々村祝夫
2. 発表標題 シリコンナノ粒子製剤は精索静脈瘤により悪化したラットの精液所見を改善させる
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 稲垣裕介、栗林宗平、岡田統一、関井洋輔、竹澤健太郎、福原慎一郎、木内 寛
2. 発表標題 シリコン成分剤の摂取は精索静脈瘤ラットにおいて精子運動率を改善させIVFの受精率を改善させる
3. 学会等名 第65回生殖医学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 稲垣裕介、岡田統一、関井洋輔、竹澤健太郎、福原慎一郎、木内 寛、藤田和利、植村元秀、今村亮一、小林悠輝、小林 光、野々村祝夫
2. 発表標題 シリコンナノ粒子は精索静脈瘤の精液所見を改善させる
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 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 薬剤及びその製造方法	発明者 今村亮一、小林光、 小林悠輝、福原慎一 郎、稲垣裕介、野々	権利者 国立大学法人大 阪大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-010412	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 薬剤及びその製造方法	発明者 今村亮一、小林光、 小林悠輝、福原慎一 郎、稲垣裕介、野々	権利者 国立大学法人大 阪大学
産業財産権の種類、番号 特許、W02020/152985	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------