

令和 6 年 5 月 14 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09531

研究課題名（和文）男性不妊症における精巣炎症プロファイリングとそれに基づく新規治療の開発

研究課題名（英文）Development of novel therapeutic strategy for male infertility according to inflammatory profiling

研究代表者

岩月 正一郎（Iwatsuki, Shoichiro）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・講師

研究者番号：70595397

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）：本研究では、精巣間質の浮腫には、テストステロン（アンドロゲン）経路の活性低下が関与することが明らかとなった。また本研究におけるヒト精巣を対象とした研究では、間質における炎症および線維化関連分子の発現亢進がみられた。さらに炎症と加齢やセルトリ細胞機能の低下との関連を見出した。以上のことから、本研究により加齢、炎症、精子形成障害の三者を関連づける結果を得ることができた。今回の私たちの研究成果により、現在ほとんどが原因不明である男性不妊症に対し、病態に応じた治療を開発することに繋がるものと期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により加齢、炎症、精子形成障害の三者を関連づける結果を得ることができた。当初の研究計画のすべてを遂行することはできなかったが、精子形成障害の病態に、炎症、加齢が関与していることを証明できた。現在、男女ともに不妊患者の高齢化が問題となっており、本研究で得られた成果をさらに発展させ、社会に発信することで、医療面から少子化社会に歯止めをかける一歩になることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we elucidated that blockage of androgen signal results on edema of testicular parenchyma using animal model. We also showed that increased expression of molecules which are related to inflammation or fibrosis in testicular parenchyma of men with nonobstructive azoospermia. Furthermore, relationship between inflammation or aging and impaired Sertoli cell function were demonstrated.

Our results may contribute to developing new therapeutic strategy for male infertility from a point of inflammation and aging.

研究分野：男性不妊症

キーワード：男性不妊症 炎症 セルトリ細胞 加齢 精子形成障害

1. 研究開始当初の背景

わが国の 2017 年の合計特殊出生率は 1.430 で、少子高齢化の進行が危惧され、その対策は国家的急務である。

一方、わが国で不妊に悩むカップルは 6 組に 1 組の存在で、その原因の半数が男性側にあるといわれているが、現在、男性不妊長に対する治療は、生殖補助医療 (assisted reproductive technology, ART) を中心とするもののみで、不妊の原因そのものに対する治療ではない。男性不妊症の原因のうち 80%以上が造精機能障害であるが、その病態のほとんどが未解明であることが治療成績の向上を阻む最たる原因となっている。造精機能障害の病態メカニズムを科学的に解明し、個々の病態に応じた治療法を開発することが望まれている。

2. 研究の目的

私たちはこれまで、500 例を超える男性不妊症の最も重症である非閉塞性無精子症 (nonobstructive azoospermia, NOA) 患者の治療をし、精巣生検組織を観察してきた。そのなかで、精巣への炎症細胞の浸潤があることに着目した。しかしその程度は患者ごとに異なっており、私たちは精子形成障害をきたす病態には様々な要因が混在しているものと考えてきた。このような経緯から、本研究では「精巣内の炎症の状態により、NOA の病態を明らかにし、病態に応じた補助治療への応用ができないか」という問いを設定した。

この問いに対する答えを導くために、モデル動物を用いた基礎研究と、患者からの生検検体を用いた臨床研究の両面からアプローチする計画を立てた。当初本研究では、大まかに以下の 3 つの研究を計画した。

- 研究 1: 男性不妊症モデル動物における炎症プロファイリング ()
- 研究 2: プロファイリングに基づくヒト精巣の炎症評価
- 研究 3: モデル動物における抗炎症治療の試み

() 複数のメカニズムによる精子形成障害モデル動物において、炎症の状態をそれぞれ定量評価し、その結果をここでは「炎症プロファイリング」と呼ぶこととした。

3. 研究の方法

本研究で当初計画した通りの研究遂行が困難であった。その都度得られた知見をもとに、計画や方法の変更をすることとなった。ここでは当初の予定とともに実施した研究の方法を簡潔に以下に記載する。

(1) 研究 1: 男性不妊症モデル動物における炎症プロファイリング

本研究では以下の動物モデルを作成することを計画した

- ・内分泌障害マウス: 精子形成に必要なテストステロンの遮断によるモデル
- ・抗がん剤投与マウス: プスルファン (アルキル化抗がん剤) によるモデル
- ・外科的停留精巣マウス: 精巣を高温環境に置くことで障害をきたすモデル
- ・自己免疫精巣炎マウス: 自己免疫精巣炎により造精障害をきたすモデル

以上の動物の精巣組織を採取し、組織所見や炎症関連物質を定量化することを計画した。

まずは内分泌障害マウスと抗がん剤投与マウスの 2 種類を作成することとした。成果に記載するが、それぞれ遺伝子発現の網羅的解析を行うほどの精子形成障害が生じなかったため、いくつかの炎症に関連する遺伝子の発現を検討した。

(2) 研究 2: プロファイリングに基づくヒト精巣の炎症評価

私たちは無精子症の診療において、精巣内精子採取術の際に全例に精巣生検を行なっている。その組織を用いて、いくつかの炎症に関連する因子を免疫組織化学により、発現を調べた。

さらに臨床的な炎症関連因子を調べるため、末梢血に血液検査による炎症の指標と精子形成障害の関連を調べた。さらに検討を重ねるにつれて、患者の加齢と、精子形成障害や炎症との関連を示唆する結果を得たため、加齢による臨床的变化についても検討することとした (結果は研究成果に記載する)。

(3) 研究 3: モデル動物における抗炎症治療の試み

本研究計画では当初、研究 1 で作製したモデル動物に、抗炎症作用のある薬剤の投与や、*in vivo* 遺伝子導入技術の応用による遺伝子治療を計画していた。しかし、研究 1 でモデルの確立に難渋したことから、新たな治療法の開発へとつなげる研究まで至ることができなかった。

4. 研究成果

(1) 研究 1: 男性不妊症モデル動物における炎症プロファイリング

まずは内分泌障害マウス（リュープロレリン投与）と抗がん剤投与（ブスルファン投与）マウスの 2 種類を作成することとした。

作成したモデルの組織像を示すが、内分泌障害モデルでは、精細管周囲（精巣間質）の浮腫が目立ち、コントロール（図 1A）に比較して間質の占める面積が有意に大きかった（図 1B）。このことから、テストステロン（アンドロゲン）経路の遮断は、間質浮腫をきたすことが明らかとなった。

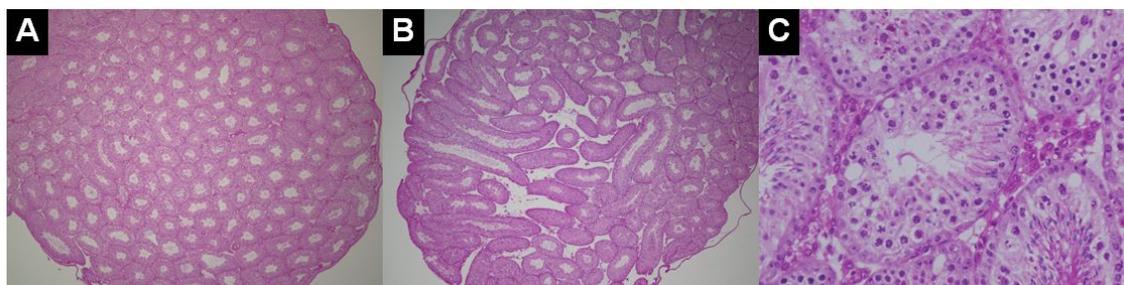


図 1 作製したモデルの精巣組織像 (A) コントロール。(B) リュープリン投与。(C) ブスルファン投与。

次に、間質浮腫が血管透過性亢進と関連があると考え、血管透過性や炎症に関連する遺伝子である、インターロイキン(IL)-1a、IL-1b、IL-6、IL-12、TNF- α 、TGF- β 1 などの発現変化を検討した。その結果、IL-6 発現が、テストステロン経路の遮断により亢進していることが明らかとなった（図 2）。

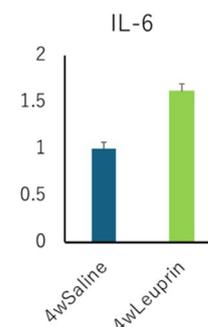


図 2 リュープリン投与によるインターロイキン(IL)-6 発現の変化 (定量 RT-PCR)

ブスルファン投与による精子形成障害モデルでは、間質の変化は明らかではなかったものの、精細胞の分化障害による精子形成障害がみられた（図 2）。しかし、炎症に関連する遺伝子の発現変化を同定することはできなかった。

当初計画では、更に 2 つのモデルを作成し、遺伝子の網羅的解析を行なう予定だったが、網羅的解析を行なうほどの精子形成障害ができなかったことから、上記に記載したように、炎症や血管透過性に関連する遺伝子発現の検索をする結果に至った。

(2) 研究 2: プロファイリングに基づくヒト精巣の炎症評価

当初の研究では、研究 1 で同定した炎症に関連する因子がヒト精巣でどのように発現しているのかを検索する予定であったが、前述のとおり、網羅的解析が実現しなかったため、いくつかの炎症関連因子を検索した。

その結果、炎症に関連する CD4 や CD8 陽性の細胞が間質内にみられ、繊維に関連する IL-10 や TGF- β といったタンパクが発現していることが明らかとなった（図 3A~D）。

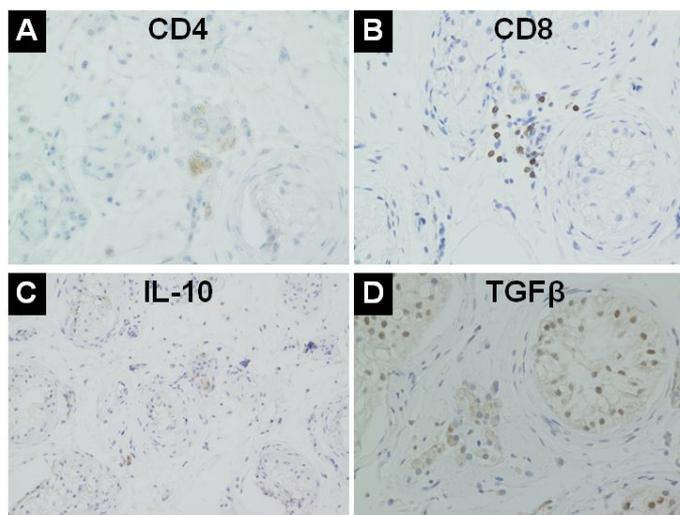


図 3 非閉塞性無精子症患者の精巣における炎症および線維化関連因子の発現 (免疫組織化学)

次に、臨床における検査数値と炎症との関連を検索することを目的として、末梢血血算の結果より、好中球-リンパ球比(NLR)と様々な臨床検査項目との関連を検討した。その結果、NLR とセルトリ細胞機能を反映する、血清卵胞刺激ホルモン(FSH)、インヒビン B(InhB)、抗ミュラー管ホルモン(AMH)の値と有意な関連があることが明らかとなった。このことから、炎症とセルトリ細胞機能の障害を介した精子形成障害のメカニズムが明らかとなった(図4)。

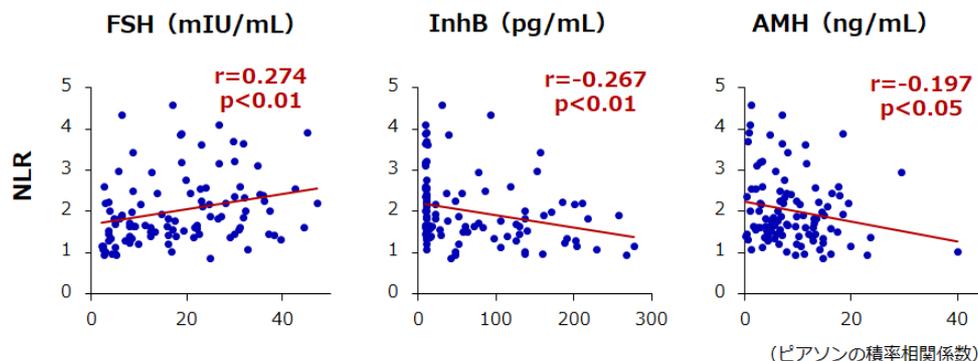


図4 非閉塞性無精子症患者における好中球/リンパ球比(NLR)とセルトリ細胞機能の関連

また私たちは別の検討により、男性の加齢によりセルトリ細胞機能が低下し、その結果精子形成障害えとつながることも見出している。

*

本研究は、当初の計画通りの遂行が困難であった。しかし、精巣間質の浮腫には、テストステロン(アンドロゲン)経路の活性低下が関与することが明らかとなった。実際、ヒトでテストステロンが低下するもっとも多い原因は加齢である。

また本研究におけるヒト精巣を対象とした研究では、間質における炎症および線維化関連分子の発現亢進がみられた他、臨床的に炎症とセルトリ細胞機能の低下との関連を見出した。さらに、加齢とセルトリ細胞機能の低下を関連付ける結果も得ている。

以上のことから、本研究により加齢、炎症、精子形成障害の三者を関連づける結果を得ることができた。現在、引き続き精巣組織の解析を継続しているところである。今回の私たちの研究成果により、現在ほとんどが原因不明である男性不妊症に対し、病態に応じた治療を開発することに繋がるものと期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kato Taiki, Mizuno Kentaro, Matsumoto Daisuke, Nishio Hidenori, Nakane Akihiro, Kurokawa Satoshi, Kamisawa Hideyuki, Maruyama Tetsuji, Iwatsuki Shoichiro, Umemoto Yukihiro, Yasui Takahiro, Hayashi Yutaro	4. 巻 207
2. 論文標題 Low Serum Inhibin B/Follicle-Stimulating Hormones and Anti-Mullerian Hormone/Follicle-Stimulating Hormones Ratios as Markers of Decreased Germ Cells in Infants with Bilateral Cryptorchidism	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Urology	6. 最初と最後の頁 701-709
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/JU.0000000000002344	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 該当する
1. 著者名 Takeda Tomoki, Iwatsuki Shoichiro, Nozaki Satoshi, Okada Atsushi, Mizuno Kentaro, Umemoto Yukihiro, Yasui Takahiro	4. 巻 ePub
2. 論文標題 Identification of active spermatogenesis using a multiphoton microscope	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Andrology	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） 10.1111/andr.13379	査読の有無 無
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 Nozaki Satoshi, Naiki Taku, Naiki-Ito Aya, Iwatsuki Shoichiro, Takeda Tomoki, Etani Toshiki, Nagai Takashi, Iida Keitaro, Kato Hiroyuki, Suzuki Takayoshi, Takahashi Satoru, Ymemoto Yukihiro, Yasui Takahiro	4. 巻 8
2. 論文標題 Selective lysine-specific demethylase 1 inhibitor, NCL1, could cause testicular toxicity via the regulation of apoptosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Andrology	6. 最初と最後の頁 1895-1906
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/andr.12846	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 該当する
1. 著者名 岩月 正一郎、武田 知樹、野崎 哲史、梅本 幸裕	4. 巻 12
2. 論文標題 特集（男性不妊症を知る）不妊症精巣の病理組織	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 泌尿器科	6. 最初と最後の頁 526-533
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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13件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 岩月 正一郎、梅本 幸裕、鬼頭 拓未、武田 知樹、野崎 哲史、水野 健太郎、林 祐太郎、安井 孝周
2. 発表標題 特発性非閉塞性無精子症(NOA)患者の採精率および精巢組織所見と年齢との関連
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第41回学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩月 正一郎、梅本 幸裕、武田 知樹、野崎 哲史、吉原 紘行、伴野 千尋、松本 洋介、澤田 祐季、佐藤 剛、杉浦 真弓、安井 孝周
2. 発表標題 非閉塞性無精子症患者における年齢と精子採取成績の関連
3. 学会等名 第43回中部生殖医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩月 正一郎、梅本 幸裕、西尾 英紀、水野 健太郎、安井 孝周、林 祐太郎
2. 発表標題 当院での精索静脈瘤の治療～思春期前の患者に対するプレコンセプションケア～
3. 学会等名 第31回日本小児泌尿器科学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩月 正一郎、梅本 幸裕、鬼頭 拓未、武田 知樹、野崎 哲史、窪田 裕樹、神谷 浩行、安井 孝周
2. 発表標題 無精子症の診断と治療
3. 学会等名 第72回日本泌尿器科学会中部総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Iwatsuki Shoichiro, Umemoto Yukihiro, Takeda Tomoki, Nozaki Satoshi, Kubota Yasue, Kubota Hiroki, Kamiya Hiroyuki, Yasui Takahiro
2. 発表標題 AGE-RELATED CHANGES IN REPRODUCTIVE FUNCTION OF MEN WITH AZOOSPERMIA SUGGEST NONOBSTRUCTIVE AZOOSPERMIA IS A PROGRESSIVE DISEASE
3. 学会等名 American Urological Association Annual Meeting 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩月 正一郎、梅本 幸裕、武田 知樹、野崎 哲史、岩城 豊、吉原 紘行、伴野 千尋、松本 洋介、澤田 祐季、佐藤 剛、杉浦 真弓、安井 孝周
2. 発表標題 加齢が無精子症患者の精巣機能に及ぼす影響
3. 学会等名 第42回中部生殖医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩月 正一郎、梅本 幸裕、西尾 英紀、水野 健太郎、安井 孝周、林 祐太郎
2. 発表標題 小児期の精索静脈瘤の手術は妊孕性を改善するか？～キャッチ・アップ・グロースの縦断敵解析～
3. 学会等名 第30回日本小児泌尿器科学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩月正一郎、梅本 幸裕、武田知樹、野崎 哲史、窪田 泰江、窪田 裕樹、安井 孝周
2. 発表標題 無精子症患者の妻年齢からみた無精子症の早期診断の重要性
3. 学会等名 第66回日本生殖医学会学術講演会・総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩月 正一郎、梅本 幸裕、武田 知樹、野崎 哲史、窪田 泰江、窪田 裕樹、安井 孝周
2. 発表標題 非閉塞性無精子症(NOA)患者における血清抗ミュラー管ホルモン(AMH)値の検討
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 Iwatsuki Shoichiro, Takeda Tomoki, Nozaki Satoshi, Kubota Yasue, Kubota Hiroki, Kamiya Hiroyuki, Uemoto Yukihiro, Yasui Takahiro
2. 発表標題 Annual trends of marriage age and duration of postponing parenthood in Japanese azoospermic couples
3. 学会等名 American Urological Association Annual Meeting 2020(web開催) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩月 正一郎、梅本 幸裕、武田 知樹、野崎 哲史、窪田 泰江、窪田 裕樹、佐藤 剛、杉浦 真弓、安井 孝周
2. 発表標題 無精子症患者における血清抗ミュラー管ホルモン(AMH)値測定の意義
3. 学会等名 第65回日本生殖医学会学術講演会・総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩月 正一郎、野田 祐介、武田 知樹、野崎 哲史、神谷 浩行、窪田 裕樹、窪田 泰江、梅本 幸裕、佐々木 昌一、安井 孝周
2. 発表標題 無精子症カップルの年齢にみるわが国の晩婚化の影響
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 加齢が無精子症患者の精巣機能に及ぼす影響
2. 発表標題 岩月 正一郎、梅本 幸裕、武田 知樹、野崎 哲史、加藤 大貴、西尾 英紀、水野 健太郎、林 祐太郎、佐々木 昌一、安井 孝周
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

〔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	窪田 裕樹 (Kubota Hiroki) (10347403)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員 (23903)	
研究分担者	武田 知樹 (Takeda Tomoki) (30814256)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・助教 (23903)	
研究分担者	安井 孝周 (Yasui Takahiro) (40326153)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	
研究分担者	野崎 哲史 (Nozaki Satoshi) (50813432)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員 (23903)	
研究分担者	水野 健太郎 (Mizuno Kentaro) (70448710)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・准教授 (23903)	

6. 研究組織（つづき）

	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	梅本 幸裕 (Umemoto Yukihiro) (80381812)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	

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