

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791234

研究課題名(和文)炭酸リチウムの性成熟期前投与における精巣の発達への影響

研究課題名(英文)Effect of administration of lithium carbonate in the testis of before sexual maturity

研究代表者

寺山 隼人(TERAYAMA, Hayato)

東海大学・医学部・講師

研究者番号：00384983

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,600,000円、(間接経費) 480,000円

研究成果の概要(和文)：炭酸リチウムは、精神科領域で気分安定剤として特に躁うつ病、うつ病に汎用されている。リチウムは生体内で甲状腺や内分泌の機能調節に極めて重要な働きをしており、過剰状態では筋肉攣縮、成長障害、腎障害などを生じることが知られている。最近、性成熟期後の実験動物に炭酸リチウムを長期投与すると精巣機能に異常が起きることが報告された。しかし、性成熟期前の炭酸リチウム投与が精巣の発達や機能に与える影響を調査した報告はない。そこで今回、性成熟期前の雄マウスに炭酸リチウムを投与し、精巣の発達や機能に与える影響を調査する。

研究成果の概要(英文)：Lithium carbonate is used widely bipolar depression and depression as a mood stabilizer in the psychiatric area. Lithium has a very important role in functional regulation of the endocrine and thyroid in vivo. However, the over state of the lithium is spasm of muscle, caused kidney damage and failure to thrive. Recently, it was reported that long-term administration of lithium carbonate was has induced lesion of testicular function in experimental animals after sexual maturity. However, it have never been reported that the administration of lithium carbonate before sexual maturity was affected the development and function of the testes. In this study, it investigate the effect on the development and function of the testes by administrated of lithium carbonate before sexual maturity.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：精巣 炭酸リチウム 精巣内環境

1. 研究開始当初の背景

WHO(世界保健機構)は、「2010年まで世界的に子供の精神疾患は50%増加する」と予想している(1)。中でも、躁うつ病は遺伝要因の関与が高いといわれており、患者の約25%は15歳(思春期)以下で発症する(2、3)。躁うつ病は慢性化することが多く、たとえ回復しても再発率が高い。したがって、躁うつ病の予防・治療薬である炭酸リチウム(Lithium Carbonate: Li_2CO_3)を長期にわたり内服することは珍しくない。 Li_2CO_3 の適応は躁うつ病以外にも統合失調症やうつ病などの精神科領域に汎用されている。さらに、アルツハイマー、狭心症、群発頭痛などにも使用されている(4、5)。今まで、炭酸リチウムの副作用は、精神活動の抑制、脳波異常、甲状腺機能低下、催奇形性(エプスタイン奇形)腎障害(6、7)、性欲減衰、勃起障害(8、9)などが知られているが、精巣の発達や機能に関する詳細な報告はほとんどない。

一方、生体内において、微量で極めて重要な働きをしている元素を「微量元素」と呼び、亜鉛(Zn)、スズ(Sn)、クロム(Cr)、カドミウム(Cd)などが知られている。これら微量元素が生体内に過剰状態になると、精巣障害が生じることが過去に多数報告されている(10-16)。同様に微量元素の一つであるリチウム(Li)は、甲状腺、腎臓、骨や筋肉に分布し、甲状腺や内分泌腺の機能調節を行っており、過剰状態になると筋肉攣縮、成長障害、腎障害などを生じることが分かっている。しかしながら、リチウムが精巣の機能に与える影響を調べた報告は非常に少なく、2報しかない(17、18)。

最近、性成熟期後の動物に、炭酸リチウムを長期投与すると血清テストステロンの低下や奇形精子率が上昇し(17)、精巣内のセルトリ細胞が空胞化することが報告された(18)。精子は性成熟期(思春期)に減数分裂により出現するため、精巣内環境は性成熟期前と後では大きく異なる。しかし、現在までに「性成熟期前に炭酸リチウムを投与し、精巣の発達や機能に与える影響」を詳しく調査した報告はない。

・参考文献

1. 齊藤卓弥など: 児童思春期うつ病の治療-過去10年間の対照試験の結果の検討-, 精神科治療学, 20, 2005, 421-433.
2. 治徳大介, 吉川武雄: 双極性障害の全ゲノム関連研究の動向, 分子精神医学, 10, 2010, 40-45.
3. 棟居俊夫: 小児・思春期の双極性障害に対する薬物療法の実際, Progress in medicine, 29, 2009, 59-63.
4. 朝田隆: アルツハイマー病の行動症状への対応と治療, Modern Physician, 21, 2001, 463-465.
5. 久保野勝男: リチウムイオン, 化学と生物, 29, 1991, 252-257.

6. 江原收: 長期リチウム投与の腎臓に及ぼす影響—臨床および動物研究—, 岡山医学会雑誌, 99, 1987, 221-238.

7. 内山利満, 古川勝雄: 有害な副作用, 各種薬剤と性機能障害, Modern Physician, 24, 2004, 297-303.

8. Blay SL, Ferraz MP et al: Lithium-induced male sexual impairment: two case reports, J Clin Psychiatry, 43, 1982, 497-498.

9. Aizenberg D, Sigler M et al: Lithium and male sexual function in affective patients, Clin Neuropharmacol, 19, 1996, 515-519.

10. 江馬眞: 有機スズ化合物の生殖発生毒性, 国立医薬品食品衛生研究所報告, 125, 2007, 35-50.

11. Turgut G et al: Effect of overdose zinc on mouse testis and its relation with sperm count and motility, Biol Trace Elem Res, 96, 2003, 271-279.

12. Lafuente A et al: Cadmium effects on hypothalamic-pituitary-testicular axis in male rats, Exp Biol Med, 226, 2001, 605-611.

13. Foote RH: Cadmium affects testes and semen of rabbits exposed before and after puberty, Reprod Toxicol, 13, 1999, 269-277.

14. 小川夕輝, 寺山隼人など: カドミウム微量投与による精巣の免疫学的組織環境の変化, 日本生殖免疫学会誌, 22, 2007, 49-55

15. 丸山泰男: 3価及び6価クロムの長期間経口投与による健康影響, 岐阜医大紀要, 31, 1982, 25-46.

16. Ogawa Y, Itoh M, **Terayama H** et al: Cadmium exposure increases susceptibility to testicular autoimmunity in mice, J Appl Toxicol, 33, 2013, 652-660.

17. Allagui MS et al: Changes in growth rate and thyroid- and sex-hormones blood levels in rats under sub-chronic lithium treatment, Hum Exp Toxicol, 25, 2006, 243-250.

18. Zarnescu O et al: Effects of lithium carbonate on rat seminiferous tubules, Int J Androl, 2006, 29, 576-582.

2. 研究の目的

炭酸リチウム(Li_2CO_3)は、精神科領域で気分安定剤として特に躁うつ病、うつ病に汎用されている。リチウムは生体内で甲状腺や内分泌の機能調節に極めて重要な働きをしており、過剰状態では筋肉攣縮、成長障害、腎障害などを生じることが知られている。最近、性成熟期後の実験動物に炭酸リチウムを長期投与すると精巣機能に異常が起きることが報告された。しかし、性成熟期前の Li_2CO_3 投与が精巣の発達や機能に与える影響を調査した報告はない。そこで今回、性成

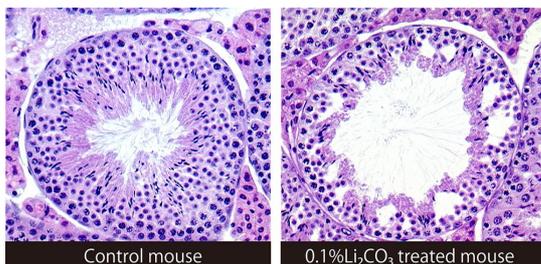
熟期前の雄マウスに Li_2CO_3 を投与し、精巣の発達や機能に与える影響を調査する。

3. 研究の方法

本研究は炭酸リチウム (Li_2CO_3) を投与することによって、精巣の発達や機能に影響が及ぶかどうかを明らかにすることが目的である。動物にはマウスを用い、 Li_2CO_3 の投与量、投与期間を変え、精巣障害の程度を形態学的、生化学的および分子生物学的に評価した。

4. 研究成果

炭酸リチウム (Li_2CO_3) は、予防・治療薬として特に躁うつ病、うつ病に汎用されている。躁うつ病は遺伝要因の関与が高いといわれており、患者の約 25% は 15 歳 (思春期) 以下で発症し、慢性化することが多く、再発率が高い。したがって、炭酸リチウム (Li_2CO_3) を長期にわたり内服することは珍しくない。リチウムは生体内で甲状腺や内分泌の機能調節に極めて重要な働きをしている。しかし、 Li_2CO_3 の治療域と中毒域の濃度は接近しており、過剰状態では筋肉攣縮、成長障害、腎障害などを生じることが知られている。最近、性成熟期後の実験動物に Li_2CO_3 を長期投与すると精巣機能に異常が起きることが報告された。しかし、性成熟期前の Li_2CO_3 投与が精巣の発達や機能に与える影響を調査した報告はない。24 年度は Li_2CO_3 の投与濃度を決定するため、8 週齢 ICR マウスの雄に 1 (70mg/day)、0.1 (7mg/day)、0.05 (3.5mg/day)、0.01 (700ug/day) % Li_2CO_3 含水道水およびコントロールとして水道水を 3 ヶ月与えた (自由摂取: 5ml/day)。1% 炭酸リチウム群は 4 週間以内に腎障害のためすべて死亡した。残りの 0.1、0.05、0.01% Li_2CO_3 群およびコントロール群の 3 か月後の精巣をテクノビット包埋し、ヘマトキシリンエオジン (HE) 染色で精子形成障害程度を光学顕微鏡下で観察した。0.1、0.05、0.01% Li_2CO_3 群は精細管内の精細胞の脱落 (特に精子細胞や精母細胞) を認めたと、コントロールに比べて有意な差はなかった。また、精細胞の脱落像は Li_2CO_3 濃度依存的に増悪する傾向にあるものの、低濃度ほどマウスによって毒性の感受性に違いがあり、個体差が影響している事が明らかになった。25 年度は性成熟期前の雄マウスに Li_2CO_3 を投与し、精巣の発達や機能に与える影響を検討した。24 年度に決定された Li_2CO_3 濃度をふまえ、3 週齢



ICR マウスの雄に 0.05 (3.5mg/day)、0.01

(700ug/day) % 炭酸リチウム含水道水およびコントロールとして水道水を 3 ヶ月与えた (自由摂取: 5ml/day)、0.05、0.01% Li_2CO_3 群およびコントロール群の 3 ヶ月後の精巣をテクノビット包埋し、HE 染色で精子形成障害程度を光学顕微鏡下で観察した。また、mRNA を抽出し、サイトカインおよびタイトジャンクション因子の発現をリアルタイム PCR で検討した。結果は 0.05 および 0.01% 炭酸リチウム群は精細管内の精細胞の脱落 (特に精子細胞や精母細胞) を認めたと、コントロールに比べて有意な差はなかった。また、タイトジャンクション因子にも有意な差はなかった。しかし、精巣内のサイトカインの mRNA 発現は炎症性サイトカイン (IFN-gamma、TNF-alpha) の有意な低下を認めた。さらに、マクロファージ数が有意に減少していた。したがって、性成熟期前の雄マウスの Li_2CO_3 の摂取は低濃度でも精巣内免疫環境に影響を与える事がわかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

1. Terayama H, Yoshimoto T, Hirai S, Naito M, Qu N, Hatayama N, Hayashi S, Mitobe K, Furusawa J, Mizoguchi I, Kezuka T, Goto H, Suyama K, Moriyama H, Sakabe K, Itoh M. Contribution of IL-12/IL-35 Common Subunit p35 to Maintaining the Testicular Immune Privilege. PLoS One. 2014;9(4):e96120. doi:10.1371/journal.pone.0096120. 査読有

2. Terayama H, Yi SQ, Hirai S, Qu N, Naito M, Hatayama N, Kawata S, Itoh M. Gross anatomical study of bilateral megaureters associated with renal pelvis dilatation and a giant urinary bladder: an adult cadaver with a brief review of the literature. Anat Sci Int. 2013;88(3):171-4. doi:10.1007/s12565-013-0172-3. 査読有

3. Kitaoka M, Hirai S, Terayama H, Naito M, Qu N, Hatayama N, Miyaso H, Matsuno Y, Komiyama M, Itoh M, Mori C. Effects on the local immunity in the testis by exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in mice. J Reprod Dev. 2013;59(5):485-90. https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/59/5/59_2012-180/_pdf. 査読有

4. Hirai S, Naito M, Terayama H, Hatayama N, Qu N, Musha M, Itoh M. Serum autoantibodies in mice immunized with syngeneic testicular germ cells alone. Am J Reprod Immunol. 2013;70(6):509-17. doi:10.1111/aji.12145. 査読有

5. Aota Y, **Terayama H**, Saito T, Itoh M. Pinelectomy in a broiler chicken model impairs endochondral ossification and induces rapid cancellous bone loss. Spine J. 2013;13(11):1607-16. doi:10.1016/j.spinee.2013.05.017. 査読有

6. Hayashi S, Naito M, Hirai S, **Terayama H**, Miyaki T, Itoh M, Fukuzawa Y, Nakano T. Proposal for a new classification of variations in the iliac venous system based on internal iliac veins: a case series and a review of double and left inferior vena cava. Anat Sci Int. 2013;88(4):183-8. doi:10.1007/s12565-013-0182-1. 査読有

7. Kuniya H, Aota Y, Saito T, Kamiya Y, Funakoshi K, **Terayama H**, Itoh M. Anatomical study of superior cluneal nerve entrapment. J Neurosurg Spine. 2013;19(1):76-80. doi:10.3171/2013.4.SPINE12683. 査読有

8. **寺山隼人**, 平井宗一、曲寧、内藤宗和、畑山直之、林省吾、善本隆之、坂部貢、伊藤正裕 . Epstein Barr virus Induced gene 3(EBI3)knockout マウスにおける精巢内免疫微小環境の変化. Reprod Immunol Biol. 2013;28(1/2):19-25. <http://jglobal.jst.go.jp/public/20090422/201302200071508718>. 査読有

〔学会発表〕(計9件)

1. **寺山隼人**, 山崎一、田中理、隅山香織、澤田真如、瓜本言哉、益田律子、関口雅樹、鈴木利保、坂部貢 . 肩こりに対する経穴同時注射の臨床的効果と薬液効果部位について . 第119回日本解剖学会総会・全国学術集会、2014年3月27日~29日、自治医大 .

2. **Terayama H**, Hirai S, Naito M, Yoshimoto T, Hirai S, Qu N, Hatayama N, Suyama K, Skabe K, Itoh M. Interleukin-35 plays a pivotal role in maintaining the testicular immune privilege . 第28回日本生殖免疫学会総会・学術集会、2013年11月30日~12月1日、武庫川 .

3. **寺山隼人**, 倉升三幸、平井宗一、内藤宗和、曲寧、隅山香織、伊藤正裕、坂部貢 . フタル酸エステル微量投与による精巢微小環境の変化 . 第20回日本免疫毒性学会学術大会、2013年9月12日~13日、代々木 .

4. **寺山隼人**, 伊藤正裕、平井宗一、内藤宗和、曲寧、倉升三幸、小川夕輝、隅山香織、坂部貢、環境毒性物質の低用量曝露による精巢微小環境の変化 . 第22回日本臨床環境医学会学術集会、2013年6月8日~9日、白金 .

5. Aota Y, **Terayama H**, Saito T, Itoh M. Pathomechanism underlying the onset of scoliosis in a PNx broiler chicken model, 10th International Conference on Conservative Management of Spinal Deformities - SOSORT 2013 Annual Meeting, 2013年5月8日~11日、Chicago .

6. **Terayama H**, Hirai S, Yoshimoto T, Naito M, Qu N, Hatayama N, Skabe K, Itoh M. Testicular immune-microenvironment in the Epstein Barr virus Induced gene 3(EBI3) knock out mice. The 12th Congress of the International Society for Reproductive Immunology (ISIR), 2013年5月29日~6月2日、Boston .

7. **寺山隼人**, 内藤宗和、曲寧、平井宗一、畑山直之、伊藤正裕 . 精巢とサイトカイン . 第118回日本解剖学会総会・全国学術集会(招待講演) . 2013年3月28日~30日、高松 .

8. **Terayama H**, Hirai S, Qu N, Hatayama N, Hirayanagi Y, Naito M, Yoshimoto T, Itoh M. Testicular immune-microenvironment in the Epstein Barr virus Induced gene 3(EBI3) knock out mice. 第27回日本生殖免疫学会総会・学術集会、2012年12月8日~9日、高槻 .

9. **Terayama H**, Hirai S, Qu N, Hirayanagi Y, Musha M, Naito M, Yoshimoto T, Itoh M. Role of intratesticular Epstein-Barr Virus-Induced Gene-3 (EBI3) in the mouse. 第31回日本アンドロロジー学会学術大会、2012年6月29日~30日、神戸 .

6 . 研究組織

(1)研究代表者

寺山 隼人 (Terayama Hayato)

東海大学医学部・講師

研究者番号 : 00384983