

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19791118

研究課題名（和文） 停留精巣の造精機能獲得に向けた遺伝子治療と精子再生医療の研究

研究課題名（英文） Gene therapy and regenerative medicine for cryptorchidism to improve spermatogenesis

研究代表者

岡田 真介 (OKADA SHINSUKE)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：40381818

研究成果の概要：

停留精巣モデル動物を作成し、造精機能障害に対して、精巣への増殖因子（EGF）の投与は、セルトリ細胞を刺激することにより造精機能改善し、今後停留精巣に対する男子不妊症を予防するための治療法になりうる可能性が示唆された。遺伝子導入については今後さらなる検討が必要と考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	0	2,200,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	330,000	3,630,000

研究分野：医薬歯学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：停留精巣、遺伝子導入、増殖因子、セルトリ細胞、男子不妊症

## 1. 研究開始当初の背景

今日わが国では少子高齢化が大きな問題となっている。特に少子化傾向には歯止めがかからず、2005年の合計特殊出生率は1.25と5年連続で過去最低を更新（06年6月1日発表の厚生労働省の人口動態統計【概数】）、2005年の出生数は106万7,000人で、2004年の111万721人より4万4,000人減と推計している。少子化問題を抱えたわが国においては、不妊症はいまや社会的問題と言っても過言ではない。

不妊症主訴に来院した患者の中に、ときとして未治療の停留精巣を合併している患者や、小児期に停留精巣に対して精巣固定術を受

けたことがある患者に遭遇する。停留精巣は治療を受けた症例でもその妊孕性は片側例で60-70%、両側例で20-30%とされ、不妊症は停留精巣の重大な合併症のひとつである。近年補助生殖技術、特に卵細胞質内精子注入法（ICSI）の臨床応用により革命的变化がもたらされた。しかしICSIに対する種々の問題点も十分には議論されていないのも事実である。また、一般的には、正常な性行為による自然妊娠が望ましいと考えられる。さらに私達の検討では、両側精巣固定術を受けた停留精巣患者のうち、15歳の時点で約40%の患者が精巣内精子を有しないと予測され、これらの患者は父性獲得が全く望めないこと

が考えられる。つまり、精巣固定術には限界があり、今後精巣固定術に加えた新しい治療法が望まれる。

## 2. 研究の目的

今日、国内外を通じて、精巣固定術以外に、停留精巣の妊孕性獲得を目指した新しい治療法は基礎研究、臨床研究においてはほとんどない。私達は、小児先天性疾患である停留精巣患児が、将来の妊孕性および父性獲得が確保できることを目指し、実験動物を用いて、新しい治療法の可能性を探るべく以下の研究を計画した。

## 3. 研究の方法

### (1) 停留精巣モデルラットの作成

これまで私達が用いてきた停留精巣モデルラットを本研究では用いる。停留精巣モデルラットは非ステロイド性抗アンドロゲン剤である flutamide を、妊娠 Sprague-Dawley ラットに 15 mg/日・腹腔内投与し、生まれてきた仔を停留精巣モデルラットとして用いる。(実際には約 80%の雄ラットが停留精巣モデルとなる。

### (2) 増殖因子精細管内導入による造精機能獲得

10 週齢の停留精巣モデルラットを用いる。停留精巣モデル精巣の陰嚢を切開し精巣を脱転。精巣網より微小ガラス管を挿入し、増殖因子である EGF、を 1 注入。14 週で屠殺し、精巣容量、精巣の光学的顕微鏡による造精機能の観察 (特に Johnsen score) および TUNEL 染色によるアポトーシスの観察、精子運動能、妊孕性の確認によって行う。

### (3) 転写因子 DAX-1 を用いた遺伝子治療の可能性

- ① Dax-1 遺伝子導入アデノウイルスベクターの作製
- ② in vivo gene transfer による遺伝子導入を行う。

## 4. 研究成果

停留精巣モデルラットを本研究では用いた。停留精巣モデルラットは非ステロイド性抗アンドロゲン剤である flutamide を、妊娠 Sprague-Dawley ラットに 15 mg/日・腹腔内投与し、生まれてきた仔を停留精巣モデルラットとして用いた。EGF により造精機能は劇的に改善し、アポトーシスは低下したことを確認したが、そこにセルトリ細胞における乳酸合成が関与することを明らかにした。セルトリ細胞培養株へ EGF を投与したところ、同様に、乳酸合成を活性化させることが明らかになった。停留精巣の主要な合併症のひとつに、男子不妊症があげられ、精巣固定術だけ

では妊孕性を保つ有用な治療法ではないことが明らかになっている。本研究では精巣への増殖因子 (EGF) の投与は、セルトリ細胞を刺激することにより造精機能改善し、今後停留精巣に対する男子不妊症を予防するための治療法になりうる可能性が示唆された。転写因子 DAX-1 を用いた遺伝子治療の可能性を探るため Dax-1 遺伝子導入アデノウイルスベクターの作製し、in vivo gene transfer による遺伝子導入をおこなった。遺伝子導入の機械的刺激により細胞のダメージが大きく、造精機能の劇的な改善は認めなかった。しかしながら培養細胞への Dax-1 遺伝子導入を行ったところ、セルトリ細胞における Stem cell factor の発現が上昇することがわかった。遺伝子導入法の改善などが今後の課題と思われた。

## 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 11 件)

- ① Okada Shinsuke, Kojima Yoshiyuki, Hamamoto Shuzo, Mizuno Kentaro, Sasaki Shoichi, Kohri Kenjiro: Dietary soy isoflavone replacement improves detrusor overactivity of ovariectomized rats with altered connexin-43 expression in the urinary bladder. BJU International, 103(10):1429-1435, 2009 査読あり
- ② 小島 祥敬、早瀬 麻沙、井村 誠、岡田 真介、窪田 泰江、佐々木 昌一、林 祐太郎、郡 健二郎:  $\alpha_1$  受容体サブタイプからみた前立腺肥大症 - 臨床から基礎へ -。泌尿紀要、54:457-462, 2008 査読なし
- ③ 橋本 良博、成山 泰道、安藤 亮介、岡田 真介、戸澤 啓一、郡 健二郎: 前立腺癌の分子標的治療 I。泌尿紀要、54:57-61, 2008 査読なし
- ④ 津ヶ谷 正行、伊藤 尊一郎、遠藤 純央、濱川 隆、岡田 真介、伊藤 恭典: 夜尿症患者における生活指導(夕方から就寝までの飲み物と食事制限)による治療成績。夜尿症研究、13:7-12, 2008 査読なし
- ⑤ 津ヶ谷 正行、伊藤 尊一郎、遠藤 純央、濱川 隆、岡田 真介、伊藤 恭典: 夜尿症が治癒するための要因についての検討。日本泌尿器科学会雑誌、16:192-195, 2008 査読なし
- ⑥ Nagata Daisuke, Hashimoto Yoshihiro, Nakanishi Makoto, Naruyama Hiromichi, Okada Shinsuke, Ando Ryosuke, Tozawa Keiichi, Kohri Kenjiro: Peroxisome

proliferator-activated receptor- $\gamma$  and growth inhibition by its ligands in prostate cancer. *Cancer Detection and Prevention*, 32:259-266, 2008 査読あり

- ⑦ Okada Shinsuke, Watanabe Hideki, Kojima Yoshiyuki, Yanai Yoshimasa, Sasaki Shoichi, Kohri Kenjiro: Loxoprofen sodium treatment for elderly men with refractory nocturia: effect on night-time urine production. *Int J Urol*, 15(5):462-4, 2008 査読あり
- ⑧ 津ヶ谷 正行、伊藤 尊一郎、遠藤 純央、岡田 真介、伊藤 恭典: 夜尿症治癒症例の検討。夜尿症研究、12:23-28、2007 査読なし
- ⑨ 小島 祥敬、岡田 真介、窪田 泰江、佐々木 昌一、林 祐太郎、郡 健二郎: 薬理ゲノミクスの前立腺肥大症薬物療法への応用。Urology View、15:105-111、2007 査読なし
- ⑩ Kojima Yoshiyuki, Sasaki Shoichi, Shibata Yasuhiro, Hayase Masa, Okada Shinsuke, Yanai Yoshimasa, Kubota Yasue, Hayashi Yutaro, Kohri Kenjiro: Correlation between the expression level of  $\alpha$ 1-adrenoceptor subtype mRNA and patient age or prostate volume in benign prostatic hyperplasia patients. *Neurourology and Urodynamics*, 16(5):683-684, 2007 査読なし
- ⑪ Kato Toshiki, Hashimoto Yoshihiro, Okada Shinsuke, Tozawa Keiichi, Takahashi, Satoru, Kohri Kenjiro: Carbohydrate antigen 19-9-positive ductal adenocarcinoma effectively treated with cisplatin and gemcitabine. *International Journal of Urology*, 14:1103-1106, 2007 査読あり

[学会発表] (計 28 件)

- ① 岡田 真介、小島 祥敬、濱川 隆、伊藤 尊一郎、柴田 泰宏、井村 誠、早瀬 麻沙、濱本 周造、水野 健太郎、窪田 泰江、佐々木 昌一、津ヶ谷 正行、郡 健二郎: 卵巣摘除ラットの排尿状態における isoflavone 投与の影響。第 58 回日本泌尿器科学会中部総会、2008. 11. 14-16、大津市
- ② 濱川 隆、岡田 真介、伊藤 尊一郎、津ヶ谷 正行: 軟性膀胱鏡検査における合併症の検討。第 58 回日本泌尿器科学会中部総会、2008. 11. 14-16、大津市

- ③ 新美 和寛、岡田 真介、橋本 良博、戸澤 啓一、郡 健二郎: Gemcitabine、Docetaxel による化学療法が奏功している前立腺導管癌の一例。第 46 回日本癌治療学会総会、2008. 10. 30-11. 1、名古屋市
- ④ 岩月 正一郎、柴田 泰宏、安藤 亮介、岡田 淳志、岡田 真介、窪田 泰江、安井 孝周、伊藤 恭典、戸澤 啓一、林 祐太郎、郡 健二郎: 診断に苦慮した巨大陰嚢脂肪肉腫の 1 例。第 241 回日本泌尿器科学会東海地方会、2008. 9. 13、名古屋市
- ⑤ 岡田 真介、小島 祥敬、濱川 隆、柴田 泰宏、井村 誠、早瀬 麻沙、水野 健太郎、窪田 泰江、伊藤 尊一郎、佐々木 昌一、津ヶ谷 正行、郡 健二郎: 卵巣摘除ラット膀胱における isoflavone 投与の影響と connexin-43 発現の変化。第 15 回日本排尿機能学会、2008. 9. 11-13、東京都
- ⑥ 津ヶ谷 正行、伊藤 尊一郎、遠藤 純央、濱川 隆、岡田 真介: 小児包茎に対する治療について。第 17 回日本小児泌尿器科学会総会、2008. 7. 16-18、高松市
- ⑦ 戸澤 啓一、岡田 真介、橋本 良博、安井 孝周、伊藤 恭典、佐々木 昌一、林 祐太郎、郡 健二郎: Mitotane 抵抗性進行性副腎皮質癌に対する weekly TJ 療法の治療経験。第 20 回日本内分泌外科学会、2008. 6. 12-6. 13、仙台市
- ⑧ 安藤 亮介、池上 要介、成山 泰道、岡田 真介、金本 一洋、福田 勝洋、鈴木 貞夫、永谷 照男、橋本 良博、戸澤 啓一、徳留 信寛、郡 健二郎: 肥満およびメタボリックシンドローム構成要素と前立腺特異抗原値 (PSA 値) との関連。第 96 回日本泌尿器科学会総会、2008. 4. 25-27、横浜市
- ⑨ 小島 祥敬、佐々木 昌一、柴田 泰宏、岡田 真介、林 祐太郎、郡 健二郎:  $\alpha$ 1 アドレナリン受容体からみた前立腺肥大症の細胞増殖機構の解明。第 96 回日本泌尿器科学会総会、2008. 4. 25-27、横浜市
- ⑩ 橋本 良博、成山 泰道、安藤 亮介、岡田 真介、戸澤 啓一、郡 健二郎: 前立腺癌における Steroid Receptor Co-activator ファミリーの役割。第 96 回日本泌尿器科学会総会、2008. 4. 25-27、横浜市
- ⑪ 岡田 真介、新美 和寛、内木 拓、成山 泰道、安藤 亮介、神谷 浩行、秋田 英俊、橋本 良博、戸澤 啓一、岡村 武彦、渡辺 秀輝、郡 健二郎:

- 自排尿型新膀胱形成術における術後合併症の検討。第96回日本泌尿器科学会総会、2008.4.25-27、横浜市
- ⑫ 黒川 覚史、橋本 良博、新美 和寛、早瀬 麻沙、小林 隆宏、岡田 真介、岡田 淳志、窪田 泰江、伊藤 恭典、戸澤 啓一、林 祐太郎、郡 健二郎：膀胱壁内の多房性嚢胞状腫瘍として発見された尿管嚢胞の1例。第239回日本泌尿器科学会東海地方会、2008.3.9、名古屋市
- ⑬ 濱川 孝、津ヶ谷 正行、伊藤 尊一郎、岡田 真介、石川 寛：尿管皮膚婁造設術後に左尿管総腸骨動脈婁を発症した1例。第243回日本泌尿器科学会東海地方会、2008.3.8、名古屋市
- ⑭ 窪田 泰江、佐々木 昌一、小島 祥敬、早瀬 麻沙、岡田 真介、柴田 泰宏、井村 誠、郡 健二郎：OAB患者における治療指標としてのOABSSの有用性—塩酸プロピペリンを用いた検討—。第13回東海排尿障害研究会、2008.3.1、名古屋市
- ⑮ 林 直史、井村 誠、黒川 覚史、岡田 真介、岡田 淳志、小島 祥敬、安井 孝周、伊藤 恭典、佐々木 昌一、林 祐太郎、郡 健二郎：機能性上皮小体嚢腫の1例。第238回日本泌尿器科学会東海地方会、2007.12.9、名古屋市
- ⑯ 早瀬 麻沙、小島 祥敬、柴田 泰宏、岡田 真介、矢内 良昌、窪田 泰江、郡 健二郎、橋谷 光、鈴木 光：前立腺針生験標本における $\alpha 1$ -blockerの収縮抑制効果。第57回日本泌尿器科学会中部総会、2007.11.7-9、奈良市
- ⑰ 戸澤 啓一、橋本 良博、岡田 真介、成山 泰道、安藤 亮介、芝本 雄太、郡 健二郎：前立腺癌に対する強度変調放射線療法(IMRT)の治療成績。第57回日本泌尿器科学会中部総会、2007.11.7-9、奈良市
- ⑱ 安藤 亮介、池上 要介、成山 泰道、岡田 真介、鈴木 貞夫、永谷 照男、橋本 良博、戸澤 啓一、徳留 信寛、郡 健二郎：肥満と前立腺特異抗原値(PSA値)との関連。第57回日本泌尿器科学会中部総会、2007.11.7-9、奈良市
- ⑲ 戸澤 啓一、橋本 良博、岡田 真介、馬場 二三八、芝本 雄太、郡 健二郎：前立腺癌に対するIMRTの治療成績。第45回日本癌治療学会総会、2007.10.24-26、京都市
- ⑳ 岡田 真介、成山 泰道、安藤 亮介、池上 要介、橋本 良博、佐々木 昌一、林 祐太郎、郡 健二郎：Mitotane抵抗性進行性副腎皮質癌に対するweekly TJ療法の治療経験。第45回日本癌治療学会総会、2007.10.24-26、京都市
- ㉑ 窪田 泰江、佐々木 昌一、小島 祥敬、早瀬 麻沙、岡田 真介、柴田 泰宏、郡 健二郎：OAB患者の治療指標におけるOABSSの有用性の検討。第14回日本排尿機能学会学術総会、2007.10.4-6、福島県猪苗代町
- ㉒ 岡田 真介、小島 祥敬、柴田 泰宏、成山 泰道、橋本 良博、戸澤 啓一、佐々木 昌一、林 祐太郎、郡 健二郎：膀胱全摘除術症例から省みる拡散強調MRIの有用性。第236回日本泌尿器科学会東海地方会、2007.6.9、名古屋市
- ㉓ 安井 孝周、岡田 真介、伊藤 恭典、戸澤 啓一、郡 健二郎：膀胱 paraganglioma の2例。第19回日本内分科外科学会総会、2007.5.31-6.1、名古屋市
- ㉔ Kubota Yasue, Kojima Yoshiyuki, Hayase Masa, Hirose Masahito, Shinsuke Okada, Sasaki Shoichi, Kohri Kenjiro : Association between bladder overactivity and increased numbers of interstitial cells in the guinea pigs with partial bladder outlet obstruction. AUA 2007 ANNUAL MEETING, 2007.5.19-24, Anaheim
- ㉕ 早瀬 麻沙、小島 祥敬、佐々木 昌一、窪田 泰江、岡田 真介、矢内 良昌、郡 健二郎：問診票でみる下部尿路症状の生活への影響度。第95回日本泌尿器科学会総会、2007.4.14-17、神戸市
- ㉖ 戸澤 啓一、橋本 良博、岡田 真介、福田 勝洋、成山 泰道、郡 健二郎：腎細胞癌の予後予測因子としてのSialyl Lewis X抗原。第95回日本泌尿器科学会総会、2007.4.14-17、神戸市
- ㉗ 岡田 真介、渡辺 秀輝、成山 泰道、安藤 亮介、中根 明宏、橋本 良博、戸澤 啓一、佐々木 昌一、林 祐太郎、郡 健二郎：Padua法による自排尿型新膀胱形成術施行症例の検討。第95回日本泌尿器科学会総会、2007.4.14-17、神戸市
- ㉘ 津ヶ谷 正行、伊藤 尊一郎、遠藤 純央、岡田 真介、伊藤 恭典：小児陰嚢水腫における自然治癒時期の予測方程式。第95回日本泌尿器科学会総会、2007.4.14-17、神戸市

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡田 真介 (OKADA SHINSUKE)  
名古屋市立大学・大学院医学研究科・研  
究員  
研究者番号 : 40381818

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし