

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16754

研究課題名（和文）精索静脈瘤による精巣上体での精子成熟障害の機序解明と新規治療ターゲットの探索

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of impaired sperm maturation in the epididymis caused by varicocele and search for new therapeutic targets

研究代表者

稲垣 裕介（Inagaki, Yusuke）

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：80804400

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：精巣上体頭部組織、尾部組織を用いて遺伝子発現についてマイクロアレイで評価し、各群での遺伝子発現の変化を比較・解析した。コントロール群、精索静脈瘤群、シリコン摂取群において上昇低下パターンを示す遺伝子、低下上昇パターンを示す遺伝子を抽出、さらにその変動幅を基準に絞り込みを行った。その結果、26遺伝子が抽出され酸化ストレスに関連する遺伝子などすでに報告のある7遺伝子の発現変化を認めただけで、精索静脈瘤による変化とは関連性がはっきりしていない19遺伝子も抽出できた。これらの結果から、新たな精子成熟障害の原因となる可能性のある遺伝子の候補がいくつか同定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

精巣上体での精子成熟障害は運動率や受精能の低下を引き起こし得るが、原因は十分には解明されていない。精索静脈瘤ラットモデルを用い、コントロール群、モデル群、抗酸化作用のあるシリコン成分剤を摂取したモデル群を作製し、精巣上体組織を用いて各群の遺伝子発現の変化についてマイクロアレイで評価した。その結果、酸化ストレスに関連する遺伝子などすでに報告のある遺伝子の他に、精索静脈瘤による変化とは関連性がはっきりしていない遺伝子を抽出できた。これらの結果から精子成熟障害の原因となる可能性のある新たな遺伝子の候補がいくつか同定された。今後、精巣上体での精子成熟障害の原因解明につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We evaluated gene expression in epididymal head and tail tissues by microarray, and compared and analyzed the changes in gene expression in each group. Genes that showed a pattern of up-regulation and down-regulation in the control group, varicocele group, and silicon intake group were extracted, and further filtered out based on the range of variation. As a result, 26 genes were extracted, and while 7 genes reported to be related to oxidative stress were found to have altered expression, 19 genes were extracted that were not clearly related to changes caused by varicocele. These results identified several new candidate genes that may be responsible for impaired sperm maturation.

研究分野：男性不妊

キーワード：男性不妊

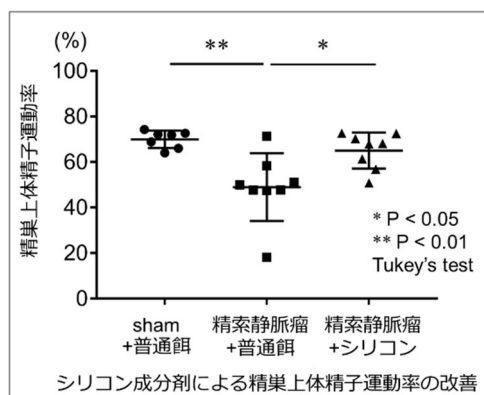
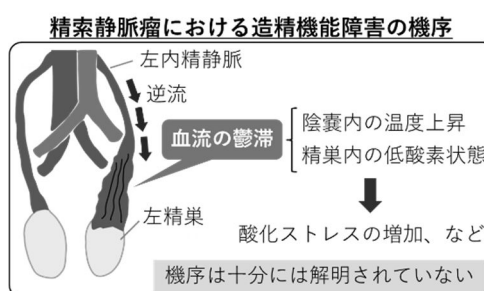
1. 研究開始当初の背景

(1) 男性不妊の現状

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の一つであり、少子化社会対策基本法にもその治療支援が盛り込まれ、男性不妊への社会的関心がますます高まっている。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内分泌攪乱物質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。

(2) 精索静脈瘤による男性不妊症と問題点

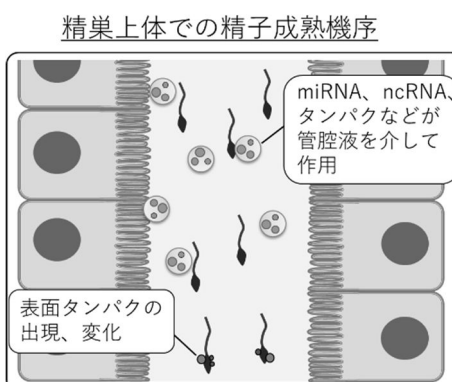
男性不妊症の原因の80%は造精機能障害であり、造精機能障害の原因の約30%を精索静脈瘤が占めている。精索静脈瘤は一般男性では15%程度の頻度で認めるが、男性不妊症患者では30%以上に認め、二次不妊症患者では80%もの高率に認める。男性不妊症には治療法が無いものも多い中、精索静脈瘤は治療により精液所見および妊孕性の改善が期待できるため、不妊を伴う精索静脈瘤患者には積極的に手術が行われている。精索静脈瘤は左内精静脈の逆流による血流のうっ滞から、陰嚢内の温度上昇や精巣内の低酸素状態が起き、精液所見の悪化や受精能の低下が起こるとされているが、詳細な機序はわかっていない部分が多い。われわれは精索静脈瘤ラットモデルを作製し、精索静脈瘤により精巣上体精子の酸化ストレスが増加し、精子の運動能及び受精能が低下していることを確かめた。さらに抗酸化物質である水素を効率的に体内で発生させることができるシリコン成分剤の摂取が酸化ストレスを減少させ、精子運動能及び受精能が改善することを発見し報告した (Inagaki, et al. *Andrology*, 2020, 科研費 19K18584)。



した (Inagaki, et al. *Andrology*, 2020, 科研費 19K18584)。

ラットモデルでは精子の運動能や受精能に変化を認めたことから、精索静脈瘤により精巣上体の精子成熟過程が障害され、シリコン成分剤の摂取により発生した水素が精巣上体環境を改善させ精子運動能、受精能の改善につながったと考えた。精巣で作られた精子は精巣上体を通過する間に運動能、受精能を獲得するが、その機序は十分には解明されていないことが多い一方で、

運動能や受精能の低下は男性不妊の原因として重要な意味を持っており、機序解明と治療法の開発が求められている。精索静脈瘤ラットにおける精子成熟過程の障害がシリコン成分剤の摂取により改善することは先行研究で明らかにしてきた。しかし、酸化ストレスの減少による精子成熟過程の改善の機序については明らかになっていないだけでなく、酸化ストレス以外の要因が精索静脈瘤による精子成熟に影響を及ぼ



している可能性も考えられている。このことから、精索静脈瘤による精巣上体での精子成熟障害の機序を解明することが重要であると考えた。

## 2．研究の目的

精索静脈瘤により精子成熟障害が引き起こされる機序を解明する。

## 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製した。コントロール群、精索静脈瘤群、シリコン成分剤を摂取した精索静脈瘤群に各食餌を摂取させ12週齢で評価した。左精巣上体及び左精巣上体精子をそれぞれ頭部、体部、尾部に分け採取した。評価項目は、精巣上体での遺伝子発現の変化、精巣上体管腔内でのmiRNAやncRNA、タンパクなど生理活性物質の分泌の変化、精巣上体での受精能獲得により精子頭部に出現すると報告されている精子頭部表面タンパクの発現の変化とした。

## 4．研究成果

### (1) 精巣上体での遺伝子発現の変化

精巣上体頭部組織、尾部組織を用いて遺伝子発現についてマイクロアレイで評価し、各群での遺伝子発現の変化を比較・解析した。コントロール群、精索静脈瘤群、シリコン摂取群において上昇低下パターンを示す遺伝子、低下上昇パターンを示す遺伝子を抽出、さらにその変動幅を基準に候補遺伝子の絞り込みを行った。その結果、26個の遺伝子が抽出され酸化ストレスに関連する遺伝子などすでに報告のある遺伝子(*PLA2G2A*, *CYP11B1*など7遺伝子)の発現変化を認めた一方で、精索静脈瘤による変化とは関連性がはっきりしていない遺伝子(*FRZB*, *FILIP1L*など19遺伝子)も抽出することができた。これらの遺伝子について、同様に作製した別コホートの組織でRT-PCRにより各遺伝子の発現量を評価したところ、精索静脈瘤による変化と関連がありそうな遺伝子が想定された変化パターンを示した一方で、関連性がはっきりしていない遺伝子については、期待される変化パターンを示さなかったり、変化幅が小さかったりといった結果であった。これらの結果から、抽出した遺伝子から新たな精子成熟障害の原因となる可能性のある遺伝子の候補がいくつか同定された。

### (2) 精巣上体管腔内での生理活性物質の分泌の変化、精巣上体での精子頭部表面タンパク発現の変化

精巣上体管腔内の生理活性物質の評価、精子頭部表面タンパクの発現評価について、まずは諸家の報告をもとに手技の確立、安定化をはかった。今回の研究期間内には各群での比較・評価には至らなかったが、今後動物種を遺伝子改変も見据えてマウスに置きかえて実験を行う予定にしている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1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
2. 発表標題 Evaluation of the efficacy of silicon-based agent in rats with long-term varicocele
3. 学会等名 第109回日本泌尿器科学会総会
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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------