

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～ 2012

課題番号：22591807

研究課題名（和文） 近赤外分光法を用いた男性不妊症診断法の開発

研究課題名（英文） Development of novel diagnostic tool for male infertility using near-infrared spectroscopy

研究代表者

宮川 康（MIYAGAWA YASUSHI）

大阪大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：70362704

研究成果の概要（和文）：非閉塞性無精子症は射出精液中に精子を認めない重症男性不妊症であるが、約 40%の無精子症患者の精巣内には精子が残存し、これを手術的に採取し顕微授精に供する治療が唯一の治療法である。しかしながら、精巣内精子の有無を術前に予測することはこれまでの方法では困難である。我々は、非閉塞性無精子症の患者の精巣表面から近赤外線を照射し、非侵襲的に精巣内の状態をモニターすることを達成し得た。今後さらなる、研究により、精度の高い検査法を確立するステップとなった。

研究成果の概要（英文）：Non-obstructive azoospermia (NOA) is a vital condition of male infertility which presents no sperm in ejaculate. But 40% of NOA patients still maintain spermatogenesis in their testis and testicular sperm extraction combined with intracytoplasmic sperm injection is only the way to treat NOA patients. However it is actually difficult to predict successful sperm retrieval presurgically by previous diagnostic tools. We found near-infrared spectroscopic examination may predict existence of sperm in non-invasive condition. Further study will help us to predict successful outcome more accurately.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：泌尿器科学

キーワード：男性不妊症、精液検査、精子、精巣

## 1. 研究開始当初の背景

男性不妊症は大部分が原因不明であり、理学的検査、精液検査、ホルモン検査あるいは染色体検査といった従来の臨床検査では治療成績を予測できず、治療選択に必要な

十分なインフォームドコンセントすら困難である。少子高齢化が進むわが国において不妊症は出生率低下の要因の一つとして少子化社会対策基本法〔03 年〕にもその治療支援が盛り込まれており、治療選択に必要な

信頼性の高い非侵襲的で特異度・感度の高い検査法の開発が社会的にも強く望まれている。

## 2. 研究の目的

近赤外分光法については、組織血流やミトコンドリア呼吸状態などのパラメーターと呼応して組織や細胞の代謝状態を生体内で高い精度でモニタリングできることが中枢神経系などで確立されており、最新研究では、ウイルス性疾患などの診断への応用もなされてきている<sup>2)</sup>。また、精巣組織や精子の代謝状態は妊孕性と深く関係していることから、精巣を近赤外分光法で解析することにより妊孕性が非侵襲的に診断できる可能性があり、本研究はこの仮説を明らかにすることを目的とする。すなわち、身体的にも経済的にも負担の少ない男性不妊症の新規診断法を開発し、的確な不妊症治療法の選択に資することを目的とする。

## 3. 研究の方法

近赤外線は検体や生体に影響することなく、透過、反射を短時間で測定可能であり、測定対象の水分・蛋白質・炭水化物など濃度、血行動態・代謝状態さらにさまざまな生体内の変化を高い感度で検出できる超高感度瞬間マルチ測光システム（大塚電子、MCPD7000MS）およびプローブを使用し、ボランティア 10 名程度を対象として、彼らの精巣組織から得られるスペクトラムを測定し、安定した測定結果を得られる条件設定を行う。得られるスペクトラムのうち、まずは精巣組織では既存のデータから波長相対変化が既知となっている酸素化ヘモグロビンおよびチトクローム C オキシダーゼを測定し、サンプル数が 50 以上となれば、主成分分析により疾患特異的波長相対変化の検出をおこない、精度の高い検査を開発する。

## 4. 研究成果

非閉塞性無精子症の患者 30 名の精巣を対象として、近赤外線による精巣内精子の予測について、非破壊検査を実施した。30 名のうち、12 名（40%）で精子が回収可能であった。精子回収可能群と不可能群を比較したが、従来の血清ホルモン値などのパラメーターでは差違は認めなかった。しかし近赤外線分光法によれば酸素化ヘモグロビンの相対変化や cytochrome c oxidase の酸化状態に統計学的な有意差を認めた。これらの新規パラメーターが無精子症患者の精巣内精子の有無の予測に利用できる可能性が示唆された。

## 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 10 件）

1. Miyamoto T, Tsujimura A, Miyagawa Y, Koh E, Namiki M, Sengoku K: Current concepts of the human azoospermia and its causes. *Biol Med Reprod*, 9: 121-127, 2010
2. Okuda H, Tsujimura A, Yamamoto K, Fukuhara S, Nakayama J, Kiuchi H, Takao T, Miyagawa Y, Nonomura N, Okuyama A.: Morphologic and mitochondrial characterization of human spermatogenic cells dispersed in wet preparation for testicular sperm extraction: establishment of a microscopic diagram of developing human spermatogenic cells. *Fertil Steril*. 95:2665-8, 2011
3. Miyamoto T, Tsujimura A, Miyagawa Y, Koh E, Namiki M, Horikawa M, Saijo Y, Sengoku K.: Single nucleotide polymorphism in the UBR2 gene may be a genetic risk factor for Japanese patients with azoospermia by meiotic arrest. *J Assist Reprod Genet*. 28:743-6, 2011
4. Okuda H, Tsujimura A, Irie S, Yamamoto K, Fukuhara S, Matsuoka Y, Takao T, Miyagawa Y, Nonomura N, Wada M, Tanaka H.: A single nucleotide polymorphism within the novel sex-linked testis-specific retrotransposed PGAM4 gene influences human male fertility. *PLoS One*. 7:e35195, 2012
5. Miyamoto T, Tsujimura A, Miyagawa Y, Koh E, Namiki M, Horikawa M, Saijo Y, Sengoku K.: Single-nucleotide polymorphisms in *HORMAD1* may be a risk factor for azoospermia caused by meiotic arrest in Japanese patients. *Asian J Androl*. 14:580-3, 2012
6. Miyamoto T, Tsujimura A, Miyagawa Y, Koh E, Namiki M, Horikawa M, Saijo Y, Sengoku K.: Single nucleotide polymorphisms in the *SEPTIN12* gene may be associated with azoospermia by meiotic arrest in Japanese men. *J Assist Reprod Genet*. 29:47-51, 2012
7. Miyamoto T, Tsujimura A, Miyagawa Y, Koh E, Namiki M, Sengoku K.: Male infertility and its causes in human. *Adv Urol*. 2012:384520, 2012.
8. Miyakawa H, Miyamoto T, Koh E, Tsujimura A, Miyagawa Y, Saijo Y, Namiki M, Sengoku K.: Single-nucleotide

polymorphisms in the SEPTIN12 gene may be a genetic risk factor for Japanese patients with Sertoli cell-only syndrome. J Androl. 33:483-7, 2012.

9. 辻村 晃, 宮川 康, 野々村 祝夫: 乏精子症・無精子症に対する薬物療法. 男性サイドからみる生殖医療の最前線、日本医師会雑誌, 141: 1241-1244, 2012
10. 岡本 吉夫, 吉住 彩香, 一谷 有希子, 土家 真紀, 高尾 徹也, 宮川 康, 高田 晋吾, 松宮 清美, 辻村 晃: 精巣内精子採取術時と顕微授精時における精子の評価. 泌尿器外科, 2: 91-395, 2012

[学会発表] (計 5 件)

1. 男性不妊患者に検出される IZUMO 遺伝子の一塩基多型  
宮川 康、奥田英伸、山本圭介、福原慎一郎、高尾徹也、辻村 晃、野々村祝夫、奥山明彦、入江新司、中村順子、田中宏光  
第 29 回日本アンドロロジー学会 (2010. 7. 30) (神戸市)
2. 大阪大学医学部附属病院・生殖医療センターの開設 3 年間の男性不妊診療実績  
宮川 康、奥田英伸、山本圭介、福原慎一郎、高尾徹也、辻村 晃、野々村祝夫、筒井建紀、木村 正、奥山明彦 第 41 回関西アンドロロジーカンファレンス (2010. 10. 2) (大阪市)
3. Clinical investigation of patients with ejaculatory dysfunction and male infertility  
Yasushi Miyagawa, Tetsuya Takao, Hidenobu Okuda, Keisuke Yamamoto, Yasuhiro Matsuoka, Akira Tsujimura, Shingo Takada, Kiyomi Matsumiya, Yoshio Okamoto, Norio Nonomura  
The 13<sup>th</sup> Biennial Meeting of the Asia Pacific Society for Sexual Medicine Kaohsiung, Taiwan (2011.11.18)
4. 精巣内精子採取術  
宮川 康、奥田英伸、山本圭介、福原慎一郎、吉岡 巖、木内 寛、高尾徹也、辻村 晃、野々村祝夫

第 16 回男性不妊症手術フォーラム (2011. 12. 9) (横浜市)

5. 非モザイク型クラインフェルター症候群に対する Micro-TESE の成績

宮川 康, 竹澤 健太郎, 奥田 英伸, 木内 寛, 高尾 徹也, 辻村 晃,

松岡 庸洋, 高田 晋吾, 松宮 清美,

野々村 祝夫

第 57 回日本生殖医学会総会 (2012. 11. 8) (長崎市)

[図書] (計 1 件)

1. 辻村 晃、宮川 康: E. 男性因子に対する治療、1) 薬物療法 生殖医療ガイドブック 2010、262-263, 日本生殖医学会編、金原出版株式会社、東京、2010

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者 宮川 康  
大阪大学大学院器官制御外科学  
(泌尿器科 )

研究者番号: 70362704

(2) 研究分担者 辻村 晃  
大阪大学大学院器官制御外科学  
(泌尿器科 )

研究者番号: 40294053

(3) 連携研究者 作道 章一  
琉球大学医学部 (臨床化学)

研究者番号 : 10397672