

The Japan  
Society of  
Andrology

Newsletter

# 日本アンドロロジー学会 ニュースレター

No.11(2015.10.1)

(年 2 回発行)

## 巻頭言

[巻頭言](#)

市川 智彦

## 最近のアンドロロジーの話題

- 1) [非閉塞性無精子症に対するサルベージ内分泌療法の実状](#) 白石 晃司
- 2) [造精機能障害の包括的なメカニズム解明に向けて](#) 水野健太郎
- 3) [精子取り扱い技術および受精法の高度化によりできるだけ ICSI を回避する、  
ICSI をせざるを得ないならば精子品質管理を徹底する](#) 兼子 智

## 学術集会報告

[日本アンドロロジー学会 第 34 回学術大会報告](#)

柳瀬 敏彦



理事長  
市川 智彦

## 巻頭言

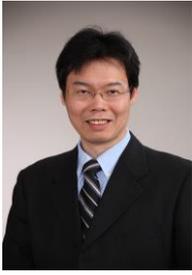
50年に1度といわれるような異常気象が幾度となく報道され、防災意識の高まる毎日でございます。日本アンドロロジー学会会員の皆様におかれましてはいかがお過ごしでしょうか。

昨年6月に並木幹夫前理事長の後任として日本アンドロロジー学会理事長を引き継いでから1年以上が経過しました。理事長として初めて理事会・評議員会・総会の議長を務めました。役員の方をはじめ会員の先生方のご理解やご支援のおかげで無事に活動できております。この場を借りまして、あらためて厚く御礼申し上げます。

本ニュースレターでは、福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科 柳瀬敏彦教授が主催された第34回学術大会（第22回精子形成・精巣毒性研究会と共同開催）開催記が掲載されています。学際的な学会にふさわしい充実した学術企画はもちろんのこと、世界チャンピオンの実績を持つ福岡大学附属若葉高校ダンスチームによる華麗な演舞に元気をもらった先生方も大勢いらっしゃったのではないのでしょうか。

さて、各学術大会では会長校によりプログラム抄録集が発行されています。最近ではウェブサイトからPDFとして閲覧可能としている場合が多いと思いますが、それ以前は冊子体のみとなっており、保管場所の確保も大変であったと思います。他の学会では、紙媒体をPDF化して学会ウェブサイト上で閲覧可能にして会員サービスの向上をはかっていることも多いようです。6月の理事会で承認をうけ、日本アンドロロジー学会でも第1回学術大会から閲覧できるように現在準備を進めております。近日中に新規に作成する会員ページからダウンロードできるようにする予定としております。完成次第、会員の先生方には郵送でログイン名やパスワードを通知させていただきますので、是非ご活用下さいませようお願いいたします。

[↑ 目次に戻る](#)



白石 晃司

山口大学大学院  
医学系研究科  
泌尿器科学分野

## 非閉塞性無精子症に対する

## サルベージ内分泌療法の現状

### はじめに

山口大学泌尿器科では関連施設を含め年間 500~600 名程度の男性不妊新患の診療を行っています。地方都市ではありますが遠方、特に九州地方からの受診が多く、相対的に精索静脈結紮術や精路再建の症例が多いことが特徴です。我々は顕微鏡下精巣内精子採取術 (micro-TESE) にて精子採取が不可能であった非閉塞性無精子症 (NOA) に対し、hCG と recombinant FSH 製剤を用いたサルベージ内分泌療法 (以下、内分泌療法) を行い、2 回目の micro-TESE にて約 20% の症例に精子採取が可能であったことを 2012 年に報告しました<sup>1)</sup>。その後 micro-TESE 無効の NOA 症例の受診が多く、その対応について日々検討しています。

### サルベージ内分泌療法の検証

2013 年から 2014 年にかけて多くの学会や研究会で内分泌療法に関する演題が散見されるようになりました。2 回目の TESE での精子採取率は 6% から 87% に及び、施設により非常にばらつきのある結果です。Micro-TESE の high volume 施設からの報告は内分泌療法の結果は非常に低く、逆に少ない施設からの報告は高い傾向でした。我々のオリジナルの論文<sup>1)</sup> では内分泌療法を行った症例 28 例は micro-TESE の自験例初期 50 例 (精子採取率 30%) であり、精子採取可能であった 6 症例のうち、4 症例は late maturation arrest か hypospermatogenesis の症例でした。つまり初回の micro-TESE で十分な精子採取ができていなかった可能性は否定できません。Micro-TESE に十分な経験のある施設に参加を願ひし、多施設共同にて内分泌療法の検証を行ったところ、9% の症例において 2 回目の micro-TESE にて精子採取が可能でした (論文投稿中)。この検討においても Sertoli cell only や early maturation arrest の症例に対しては内分泌療法は無効でした。逆に減数分裂後での maturation arrest の症例には非常に有効です。初回の micro-TESE 時の病理組織が hypospermatogenesis の症例においては 2 回目の TESE は conventional TESE でも採取できそうなくらいの精子形成を認めた症例もあります。また円形精子細胞や後期精子細胞まで採取可能であったが妊娠に至らなかった患者さんも多く受診されますが、そのような症例に対するサルベ-

ジ内分泌療法の結果は射出精子を認めた症例もあり、micro-TESE も含めれば 63%の症例で精子採取可能でした。内分泌療法により増加したテストステロン依存性のステップである spermiogenesis、つまり減数分裂後の成熟精子への形態変化のステップ、を刺激した可能性があります。また抗がん剤投与後の無精子症 (post-chemotherapy azoospermia: PCA) 症例における効果について検討したところ、6 例中 2 例において精子採取が可能でした。PCA の病理組織学的特長として SCO か late MA/hypospermatogenesis かといったように両極端でした<sup>2)</sup>。Germ cell の存在する症例においてはゴナドトロピン刺激が造精機能の改善につながる可能性は高いと考えています。

#### サルベージ内分泌療法のメカニズム

内分泌療法は hCG5000 単位を週 3 回投与からスタートするため、高ゴナドトロピン状態の NOA においても多かれ少なかれ血清テストステロンの増加を認めます。当然のことながら精巣内テストステロン (ITT) 濃度の上昇が予測されます。我々は micro-TESE 時に採取した精巣内 fluid を用いた検討にて内分泌療法前後の ITT の測定を行ったところ、ITT は 3~4 倍の増加を認めました<sup>3)</sup>。刺激後の ITT と精子採取との関連は見出せませんでした。刺激前つまり初回の micro-TESE 時の ITT が低い症例は内分泌療法により精子採取可能となる傾向が認められました。Micro-TESE 前に低テストステロン (250~300 ng/dl 未満など) を認める症例には hCG やクロミッド、アロマターゼインヒビターなどを用いてテストステロン濃度を上昇させるべきという意見がありますが、末梢血のテストステロン濃度と ITT の間には大きな解離があるため、より簡便な ITT 評価法が必要です。また内分泌療法により精粗細胞における proliferating cell nuclear antigen の増加や Sertoli cell におけるアンドロゲンレセプターの発現増加を来たすことから<sup>4)</sup>、spermiogenesis 以外のステップにおいても精子形成を刺激している可能性が示唆されました。少数例ではありますが実際に maturation arrest の組織が劇的に改善する症例はごく少数ですが存在します。

2 回目の micro-TESE を希望されて受診される患者さんが多いですが、AZF のチェックをされておらず a または b の欠失などが判明するケースも散見されます。Micro-TESE 時の病理所見が SCO や early MA の場合には内分泌療法は行わず、希望があれば直接 2 回目を行うようにしています<sup>5)</sup>。このような症例に対するブレイクスルーが必要と考えています。現在精巣組織を用いた次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析により、各病態別に解析を行い、新規薬物療法に結びつくような因子の探

索を行っております。またこのような研究は NOA のみならず乏精子症における内分泌療法の研究にもつながるため、今後クロミフェンやアロマターゼインヒビターの使用についてより根拠のあるデータを出すことができると考えております。

今後もアンドロロジー学会の先生方と共に模索し、アメリカやヨーロッパに負けず、我が国が無精子症治療について世界をリードしていければと考えています。

#### 文献

- 1) Shiraishi K, Ohmi C, Shimabukuro T, et al. Hum Reprod 2012; 27:331-339.
- 2) Shiraishi K, Matsuyama H. Urology 2014 ;83 :100-106.
- 3) Shinjo E, Shiraishi K, Matsuyama H. Andrology 2013;1:929-935.
- 4) Kato Y, Shiraishi K, Matsuyama H. Andrology 2014;2:734-740.
- 5) Shiraishi K. Reprod Med Biol 2015;14:65-72.

[↑ 目次に戻る](#)



水野健太郎

佐々木昌一

名古屋市立大学  
大学院医学研究科  
腎・泌尿器科学分野

## 造精機能障害の包括的なメカニズム解明にむけて

私たちの教室では、造精機能障害のメカニズム解明をめざし、様々な角度から基礎研究に取り組んでいます。男性不妊症の原因として、臨床的に最も多いのは特発性造精機能障害ですが、その中でも停留精巣に伴う造精機能障害に着目して研究を進めてきました。精巣下降には男性ホルモン、CGRPなどの神経伝達物質、INSL3 遺伝子など、様々な要因が関与しますが、私たちは胎生期に男性ホルモンを遮断する動物モデルを作成し、解析を行っています<sup>1</sup>。このモデルラットでは停留精巣のまま放置すると *elongated spermatids* を中心としたアポトーシスを起こし、その発生には転写因子である NF- $\kappa$ B 活性化が関与することを明らかにしてきました<sup>2</sup>。また最近では、本モデルを用い、幼若期の精子幹細胞分化メカニズムについて検討を行っています。

精子幹細胞は前駆細胞 (gonocytes) が出生後に分化したもので、未分化性を維持しつつ、一部の細胞は分化し、生涯にわたって精子形成の供給源としてはらまします。精子幹細胞は精細管の辺縁に位置し、形態学的に複数のタイプがあり種差も報告されています。精細管内移植によるコロニー形成能から幹細胞機能を解析することができ、ライブイメージングの手法から細胞の分布状態も明らかになってきています。精子幹細胞の特異的マーカーの一つとして、私たちは UTF1 (Undifferentiated embryonic cell transcription factor 1) 遺伝子に注目し、停留精巣モデル動物の精巣組織における UTF1 発現を解析しました。その結果、正常精巣に比べ停留精巣では精子幹細胞活性が低下していることを発見しました<sup>3</sup>。これは、停留精巣における造精機能障害の原因として、精巣が高温環境にさらされること以外に、精子幹細胞の分化異常があることを見出した画期的な発見です。

さらにこの結果をもとに、正常とモデル動物の精巣組織で発現する遺伝子および microRNA をマイクロアレイ解析で比較したところ、ヒストン修飾酵素である Kdm5a (Lysine(K)-specific demethylase 5a) と、miR-135a が有意に発現変化していることを見出しました<sup>4,5</sup>。Kdm5a は精子幹細胞で発現しており、ヒストンタンパク H3K4 を脱メチル化し遺伝子発現を調節しています。miR-135a の標的である転写因子 FoxO1 は精子幹細胞に局在しており、停留精巣で FoxO1 活性化が抑制されていました。現在、Kdm5a や FoxO1 が精子幹細胞の分化にどのようにかわるのか、研究を進めています。

その他、停留精巣モデル動物を用いて、Notch シグナル伝達系の抑制

因子である Numb/Nbl 遺伝子が精母細胞・精子細胞に局在することを見出し、これらの遺伝子を siRNA でノックダウンさせると精子細胞以降の細胞数が有意に減少することも見出しました<sup>6</sup>。このように、幼若期における精子幹細胞のなりたちだけでなく、減数分裂以降の精子形成についても研究を進めており、造精機能障害の包括的なメカニズム解明を行っていきたいと考えています。

#### 【文献】

1. Mizuno, K., Hayashi, Y., Sasaki S. et al.: Influence for testicular development and histological peculiarity in the testes of flutamide-induced cryptorchid rat model. *Int J Urol*, 14: 67-72, 2007
2. Mizuno, K., Hayashi, Y., Kojima, Y. et al.: Activation of NF-kappaB associated with germ cell apoptosis in testes of experimentally induced cryptorchid rat model. *Urology*, 73: 389-393, 2009
3. Kamisawa, H., Kojima, Y., Mizuno, K. et al.: Attenuation of spermatogonial stem cell activity in cryptorchid testes. *J Urol*, 187: 1047-1052, 2012
4. Nishio, H., Hayashi, Y., Moritoki, Y. et al.: Distinctive changes in histone H3K4 modification mediated via Kdm5a expression in spermatogonial stem cells of cryptorchid testes. *J Urol*, 191: 1564-1572, 2014
5. Moritoki, Y., Hayashi, Y., Mizuno, K. et al.: Expression profiling of microRNA in cryptorchid testes: miR-135a contributes to the maintenance of spermatogonial stem cells by regulating FoxO1. *J Urol*, 191: 1174-1180, 2014
6. Iwatsuki S. Umemoto Y, Sasaki S. et al.: Influence of siRNA-expressing vector transfection on adult rat testis in vivo. *Nagoya Medical Journal*, 54:9-21, 2014

[↑ 目次に戻る](#)

兼子 智  
東京歯科大学  
市川総合病院  
産婦人科

## 精子取り扱い技術および受精法の高度化により できるだけ ICSI を回避する、ICSI をせざる得ないならば 精子品質管理を徹底する

ICSI は ART における授精手技の約 70% を占めており、すでに汎用技術と考えられている。本稿は、精子側から見た ICSI の再評価と、精子側の努力と授精法の効率化による ICSI 回避について述べる。これまで ICSI において穿刺手技は詳細に検討されてきたが、穿刺精子は明視野顕微鏡下に運動性とおおまかな頭部形態を指標として選択されているにすぎない。正常な精子形成過程においてもアポトーシスによる異常細胞の排除が高頻度で起きており、さらに精子は第 2 減数分裂以降 DNA 修復能を失い、一部の精子は double strand break (DSB) を蓄積している。男性不妊の約 90% を占める造精機能障害は、産生精子量の減少のみならず多様な質的異常をもたらす。我々は、単一細胞の全 DNA から数本の長鎖 DNA fiber 離脱を検出できる single cell pulsed-field gel electrophoresis (SCPFG) を開発し、分画後の運動精子中にも DNA 切断の初期段階にあるものが含まれており、その頻度は個体差が大きく、運動性は DNA 構造正常性を保証できないことを示した [1, 2]。さらに従来用いられてきた精子 DNA 断片化検査は定量性が低いことを示した [3]。ICSI はあくまで精子の量的不足を補う手技であり、質的異常は補償できない。従って、高度な精子分離技術により高品質な精子を選別できたが、極少数しか得られなかった場合が ICSI の適応となるが、これらが普及していない現状ではむしろ重度造精機能障害には不向きな治療になる。

これまで我々は、ART に供するヒト精子の選別と機能評価およびこれらに対応した媒精技術の高精度化を研究してきた。具体的には、1. ART に供する精子の高精度分画 (沈降平衡法、沈降速度差遠心分離法による DNA 断片化陰性運動精子の無菌、無ウイルス [4, 5, 6] 調製、頭部空胞精子 [7] の可及的除去)、2. 多項目の分子生物学的検査による精子品質管理 (DNA 断片化、頭部空胞、先体局在、Ca チャネル開口能、ミトコンドリア酸化還元能)、3. 密度勾配担体組み込み型凍結保存液を用いる高効率な精子凍結保存法 (排卵と射精の時間的同調が不要となり、凍結蓄積による精子の数的確保と多項目の精密検査を行う時間確保)、4. 凍結精子を用いる推定排卵日周辺への頻回人工授精、5. 人工卵管を用いる高効率媒

精(卵管様微小流路内で swim side による運動精子分離、先体反応誘起、受精を同時に行い、媒精下限値の低下を図る)、6. in vitro 精子薬物療法による先体反応誘起 (Ca チャンネル開口薬剤による先体反応誘起障害の in vitro 治療により、受精に寄与する有効精子数の増加)、7. in vitro における精子、卵、胚 DNA 保護(活性酸素障害、アポトーシスの回避)、である。これらの統合的に運用により、できるだけ ICSI を施行することなく受精胚を得る、一方では精子品質管理の徹底により ICSI の安全性向上を図る。さらに凍結保存精子に最適化された媒精システムの確立は、治療アルゴリズム逆転、すなわち卵が採れたから夫に射精を依頼する現行のモデル(卵が先)から、予め精子数の確保と質の保証ができたから採卵を提案する(精子が先)新しいモデルの運用を可能とした。

予防安全の観点からは、ICSI の安全性に関する疫学調査の結論を待つのではなく、精子取り扱い技術および授精法の高度化によりできるだけ ICSI を回避する、また ICSI をせざるを得ないならば精子品質管理を徹底することが強く求められる。各項目を組み合わせた先行臨床を行った結果、ICSI 反復不成功であった加齢女性の妊娠、出産が可能であった。その一因として、DNA 断片化陰性精子を用いた媒精が、DNA 修復能低下が疑われる加齢卵の負担軽減につながった可能性が考えられた。さらに選別精子の凍結蓄積と人工卵管による媒精下限値の低下は、乏精子症における ICSI 回避の key technology であった。凍結保存精子を用いる頻回人工授精の妊娠率は高く、現行の新鮮精子を用いる単回授精は排卵時期推定がボトルネックとなっている可能性が考えられた。

#### 文献

1. Kaneko S, Yoshida J, Ishikawa H, Takamatsu K (2012) Single-Cell Pulsed-Field Gel Electrophoresis to Detect the Early Stage of DNA Fragmentation in Human Sperm Nuclei. PLoS ONE 7(7): e42257. doi:10.1371/journal.pone.0042257
2. Kaneko S, Yoshida J, Ishikawa H, Takamatsu K (2013) Single-Nuclear DNA Instability Analyses by Means of Single-Cell Pulsed-Field Gel Electrophoresis - Technical Problems of the Comet Assay and Their Solutions for Quantitative Measurements. J Mol Biomark Diagn S5: 005. doi:10.4172/2155-9929.S5-005
3. Satoru Kaneko, Joji Yoshida, Kiyoshi Takamatsu, Direct visualization of ascorbic acid inducing double-stranded breaks in single nuclear DNA using single-cell pulsed-field gel electrophoresis. IJAR, in press

4. Hanabusa, H, Kuji, N, Kato, S, Tagami, H, Kaneko, S, Tanaka H, Yoshimura Y. (2000) An evaluation of semen processing methods for eliminating HIV-1. AIDS, 14 : 1611-1616
5. Kato S, Hanabusa H, Kaneko S, Takakuwa K, Suzuki M, Kuji N, Jinno M, Tanaka R, Kojima K, Iwashita M, Yoshimura Y, Tanaka K (2006) Complete removal of HIV-1 RNA and proviral DNA from semen by the swim-up method: assisted reproduction technique using spermatozoa free from HIV-1. AIDS, 20:967-973
6. Kashima K, Takakuwa K, Suzuki M, Makino M, Kaneko S, Kato S, Hanabusa H, Tanaka K. (2009) Studies of assisted reproduction techniques (ART) for HIV-1-discordant couples using washed sperm and the nested PCR method: a comparison of the pregnancy rates in HIV-1-discordant couples and control couples. Jpn J Infect Dis. 62:173-176
7. Kaneko S, Yoshida J, Takamatsu K (2013) Low Density Regions of DNA in Human Sperm Appear as Vacuoles after Translucent Staining With Reactive Blue 2. J Med Diagn Meth 2: 145. doi: 10.4172/2168-9784.1000145

[↑ 目次に戻る](#)

# 学術集会 報告

柳瀬 敏彦

福岡大学医学部  
内分泌・糖尿病内科



## 日本アンドロロジー学会

### 第34回学術大会報告

平成27年6月26日(金)、27日(土)に第34回日本アンドロロジー学会(第22回精子形成・精巣毒性研究会と共同開催)を福岡にて開催した。本学会のテーマは最近、種々、拡がりを持ちつつあるアンドロロジーを意識して「アンドロロジーの新展開」とした。内科がこの学会を担当するのは、1988年に東京大学の澤田昭先生が開催されて以来、27年ぶり、2回目であった。本会では特別講演2題、教育講演2題、シンポジウム2題、ランチョンセミナー3題を企画した。一般演題も学会賞応募演題22演題を含む69演題多数の応募を得た。賞の選出が困難な程、いずれもハイレベルな内容の発表ばかりであったが、事前、当日審査の結果も踏まえ、学会賞は小林知広先生(獨協医科大学:臨床)と古目谷暢先生(横浜市立大学:基礎)に授与された。

特別講演1は、近年、転写因子 Ad4BP/SF-1 の糖、脂質代謝制御機能の観点から副腎・性腺細胞・臓器の発生に関する根幹的な新知見を発表しておられる九州大学の諸橋憲一郎教授に「Ad4BP (NR5A1) レギュロンによる細胞内代謝連関」と題するご講演をいただいた。Ad4BP は諸橋先生によって副腎、性腺の発生・分化に必須の転写因子として発見された因子であり、その遺伝子破壊マウスでは、副腎、性腺が完全に消失する。諸橋先生のグループは、副腎細胞における Ad4BP の標的遺伝子の探索研究を進める中で、解糖系酵素やコレステロール合成系の調節にも Ad4BP が深く関与していることを発見し、Ad4BP がエネルギー産生系の調節を介して副腎、性腺の臓器形成に関与している可能性を報告した。特別講演2として本学会の新理事長にご就任された市川智彦教授(千葉大学)に「理事長講演:日本アンドロロジー学会と関わった四半世紀」のご講演をいただいた。本学会を通じて、長年、前立腺癌研究や生殖医療と深く関わって来られた経緯やご自身の体験も踏まえた説得力のある講演内容で、聴衆に大きな感銘を与えた。誠実な市川先生のお人柄も含め、新理事長のリーダーシップの下、この学会がさらに発展してゆくことを確信した。また、教育講演1として長崎国際大学薬学部分子生物学分野の田中宏光先生に「精子細胞特異的遺伝子の SNP ディスカバリーと臨床応用」のご講演をいただき、男性不妊症精子細胞特異的遺伝子異常やある種の薬剤が受精上昇効果はあることを示し、臨床応用への可能性を提

示された。教育講演2として東北大学脳科学センターの瀧靖之教授に「大規模脳画像データベースから見る脳の発達、加齢と性差」と題するご講演をいただき、加齢に伴う脳灰白質萎縮の男女差、男性の内臓脂肪型肥満におけるその萎縮の増強、運動により海馬体積の増加など、生活習慣と脳発達が密接に関連していることを示す数々の新知見を紹介された。

シンポジウム1として「テストステロン (T) に関する臨床的諸問題」を企画したが、(1)低T血症は前立腺癌の進行抑制に関与するか？(2)日本人総T値は加齢により減少しない(並木幹夫先生)(3)DPCキットに代わる遊離T測定系に関する緊急提言(特別発言：熊本悦明先生)(4)総T値はメタボリックシンドロームのもっとも優れたアンドロゲン指標(柳瀬敏彦)(5)前立腺癌治療におけるホルモン療法の日本人におけるメタボリックな影響(みちのく前向き研究：三塚浩二先生)(6)LOH症候群におけるT補充適応決定における適切なアンドロゲン指標の検討(遊離Tか総Tか?)並びに心血管系への検討に関するoverview(松田公志先生)といった趣旨の講演をいただいた。Tに関する新しい視点や方向性を与えてくれる意義深いシンポジウムであった。

シンポジウム2として「造精機能障害～その病態について再考する～」を山口大学泌尿器科の白石晃司先生に企画いただいた。それぞれ「精索静脈瘤が精巣に与える影響」(江夏徳寿先生)、「男性不妊症患者における精液中活性酸素測定」(湯村 寧先生)、「閉塞性無精子症における造精機能障害」(白石晃司先生)、「非閉塞性無精子症：その病因病態に迫る」(宮川 康先生)、「低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の遺伝的成因」(慎武先生)など多様な立場から最新の知見をご提示いただき、本学会のメインテーマの一つである男性不妊症の病態と診断に関して最近の進歩を踏まえ、複眼的な診療の重要性を教えてくれる有意義なシンポジウムとなった。

その他、ランチョンセミナーでは、去勢抵抗性前立腺癌治療に対する新規前立腺癌治療薬の話題(上村博司先生、三宅秀明先生)や最近、注目されている生活習慣病と前立腺癌(野見山 崇先生)といった観点からの講演が行われた。懇親会(26日)ではアトラクションとして2014年度に世界チャンピオンに輝いた実績をもつ福岡大学付属若葉高校ダンスチームに華やかな演舞を披露していただき、学会に花を添えていただいた。皆様のお力添えのお陰で、盛会に開催出来たことに心から感謝申し上げます。

[↑目次に戻る](#)