

Elucidation of pathophysiology and drugs of male infertility

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2020-02-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Wakayama, Tomohiko メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00057135

This work is licensed under a Creative Commons
Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0
International License.



【研究紹介】

男性不妊症の病態解明と治療薬の開発

Elucidation of pathophysiology and drugs of male infertility

熊本大学大学院生命科学研究部 生体微細構築学講座

若 山 友 彦

は じ め に

我が国の少子化は深刻で、2016年に出生数が100万人を割り、2018年は過去最低の91万8397人であった。一方、不妊症は5.5組の夫婦に1組の割合で増加し続けている(2015年、国立社会保障・人口問題研究所)。その原因の約半分は男性にあり、1700万人いる25～39歳の男性の中に100万人以上の男性不妊症の患者がいる計算になる。男性不妊症の原因の大半は、精子形成障害であるにも関わらず、精子形成障害の早期発見や治療薬はない。

不妊症の治療法は、十分な精子があれば、女性から採卵をして通常の体外受精を行って受精卵を作製して保存する。次の性周期に作製した受精卵を女性の子宮に戻して着床させ、妊娠できれば子どもを得ることができる。一方、精子数が少ない、あるいは、精液中に奇形精子が多く運動能を持った少数の正常精子しか存在しない場合、顕微授精により受精卵を作製して妊娠できる。しかし、精液中に適切な精子がない場合、精巣より精子(実際には分化の進んだ伸長精子細胞)を探す必要がある。手術をして精巣を切り開き、肉眼(精巣精子採取術 testicular sperm extraction: TESE)あるいは、顕微鏡下(顕微鏡下精巣精子採取術 microdissection testicular sperm extraction: MD-TESE)で男性不妊症の患者の精巣から精子を探す。男性不妊症の患者の精巣では、精子が作られる精細管と作られない精細管が混在することがあるので、精液中に精子が見られなくても、手術をして精子を産生する精細管を探し、顕微鏡下で精細管から精子を採取して顕微授精を行う。ここで大きな問題は、精巣で精子が作られているかどうかを事前に知る方法がないことである。MRI検査や超音波検査で精子形成の有無を探索する取り組みもあるが、それぞれの分解能の限界から得られる画像では精子の検出は難しい。したがって、精液中から適切な精子を採取できなかった場合、精子を求めて精巣を手術して初めて精子形成の有無を知ることになる。当然、手術をしても精子を採取できないことがある。もう一つの大きな問題は、精子形成障害自体を改善する治療方法がないことである。ヒトES細胞やiPS細胞から精子を作り出す研究は倫理上の問題がある。マウス精巣の組織片を培養(器官培養法)して精子を得て、顕微授精で挙児をもうけることに成功しているが、精子産生の効率が悪く(5%未満)、マウス以外では全く成功していない。ヒトでの研究も行なわれているが、未だに精子の産生に成功したという報告はない。仮に成功したとしても、体外で作った精子を用いるためには倫理

上の問題があるので、臨床で用いるには解決しなければならない課題が多い。男性不妊症の患者の精巣では、一部分であっても精子が産生される精細管が残されていることがあるので、患者の精巣の精子形成障害を改善して精子形成能を高め、精子を作る精細管を増加することができれば、精子を採取できるようになる。その結果、体外受精の成功率を上げて不妊症の治療成績も改善することができる。日本産科婦人科学会の報告では、顕微授精を含む体外受精の2015年の実施総数は42万4151件を数えるが、出生数は5万1001人で成功率はわずか12%にとどまる。体外受精の成功率を改善するには、多くの要因が関係するが精子の質を改善することも大いに寄与するはずであり、体外受精の成功率の改善は、我が国の出生数の増加にもつながると考える。

精子形成は、高温・放射線・活性酸素・化学物質・薬剤等に感受性が非常に高く、容易に精子形成障害が引き起こされる。したがって、精巣以外の器官・組織・細胞に障害がなくても、精巣だけが障害を受けることがあり得る。そのため、男性不妊症を発症しても、患者本人は気付かないことが多いと思われる。男性不妊症の患者から精液の情報を得ることは比較的簡単だが、精液の情報だけから精子形成能を評価できない。体外から精子形成能を知る方法があれば、その有用性は計り知れない。男性機能と関係深い血液中のアンドロゲン濃度は、精子形成能と全く相関しないことが知られている。精液よりも採取し易い血液を用いて精子形成能を評価できるバイオマーカーを同定できれば、TESEをする前に精子の存在を推測することができるが、そのようなバイオマーカーは現在存在しない。

精子形成障害の改善薬は存在しないが、その理由は薬剤の候補となる化学物質をスクリーニングするための最適な実験系が個体レベル、すなわちin vivo実験系だけからである。器官培養系が、この問題を解決する実験系として期待されているが、精子の産生効率の低さ(5%未満)とマウス以外では成功しないことが解決できていないため、候補となる薬剤をスクリーニングに用いた場合にその評価が非常に困難である。一方、個体を用いる実験系も、1種類の化学物質の評価に数十匹の動物を用いなければならない、スクリーニングとしては現実的ではない。

精子形成に必須の細胞接着分子Cell adhesion molecule-1 (CADM1)

精子形成は、精祖細胞の有糸分裂、精母細胞の減数分裂、精子細胞の形態変化(精子完成)からなり、造精細

胞とセルトリ細胞の相互作用を必要とする。精子形成の調節因子には、内分泌・局所因子のほかに細胞接着分子がある。筆者らが発見した細胞接着分子Cell adhesion molecule-1 (CADM1)は、細胞外に3つの免疫グロブリン様ドメインをもつ免疫グロブリンスーパーファミリー分子で、分化型精祖細胞から早期の精母細胞と減数分裂後の伸長精子細胞の細胞膜に発現する¹⁾³⁾。特に、伸長精子細胞では、鞭毛が形成される尾側の細胞膜に局限する。CADM1はセルトリ細胞には発現せず、セルトリ細胞に発現する別の細胞接着分子であるポリオウイルスレセプターと結合する。細胞接着分子CADM1は、哺乳類においてアミノ酸レベルで非常に保存された分子で、鳥類や魚類にもCADM1のホモログが存在する。さらに、細胞接着分子CADM1の遺伝子欠損 (KO) マウスでは、精子形成障害のために雄性不妊となる。CADM1 KOマウスの精細管では、造精細胞のアポトーシスが増加し、伸長精子細胞が脱落するため、精巣上体管腔内に正常形態の精子が全く存在せず、多数の脱落した精子細胞と核を持たない細胞質成分が認められる⁴⁾⁵⁾。また、脱落せずに精細管内にとどまった伸長精子細胞には鞭毛側の細胞質に形態異常が認められ、CADM1の欠損は伸長精子細胞に分化異常を引き起こす。これらの結果から、細胞接着分子CADM1の発現が低下すると、精子形成障害が生じる可能性が示唆された。

種々の要因による精子形成障害と細胞接着分子CADM1の発現との関連性

高温・放射線等による物理的刺激や活性酸素・化学物質・薬剤等による化学的刺激により、精子形成障害が生じる。そのため、精子形成障害を示す多くの動物モデルが存在している。高温による精子形成障害モデルである「マウス停留精巣モデル」では、手術により陰嚢内にある精巣を腹腔に引き上げて固定すると、5日目以降に精子細胞からなる巨細胞が出現する。時間経過とともに精子細胞だけでなく精祖細胞や精母細胞の細胞数も減少し、精子形成障害が進行して4週間後には造精細胞が失われた精細管も認められる。このモデルでは、精子形成障害の進行に伴い、細胞接着分子CADM1の発現が減少する。活性酸素による精子形成障害モデルである「ラット虚血・再灌流モデル」では、手術により精巣動脈をクリップして精巣を虚血にして、4時間後にクリップを外して再灌流をすることで発生する活性酸素により精子形成障害を起こす。再灌流後、4時間までの精巣を観察すると、時間経過に従って精細管内腔に脱落する精子細胞が増加する。一方、細胞接着分子CADM1の発現も時間経過に従って減少する。抗がん剤であるブスルファンを投与すると、精祖細胞が失われ、時間経過とともに精母細胞まで存在しない精細管、円形精子細胞まで存在しない精細管となり、最終的に造精細胞が存在しない精細管が出現する。造精細胞が存在しない精細管では細胞接着分子CADM1の発現が失われるのは当然かもしれないが、本来CADM1が発現する造精細胞が残存している精細管においても細胞接着分子CADM1の発現が減少する。これらの結果から、細胞接着分子CADM1の発現と精子形成障害が負の相関

を示すことが分かり、CADM1は精子形成能を評価するための機能分子である可能性が示唆された。

精子形成能のバイオマーカーとしての細胞接着分子CADM1の可能性

細胞接着分子CADM1は、進化上、哺乳類で非常に保存された分子であり、発現する造精細胞も種を越えて保存されている。そのため、機能上も保存された分子である可能性が高い。すなわち、種を越えてCADM1は、精子形成に必須の分子であり、精子形成障害に伴い発現が減少する。したがって、精子形成障害における伸長精子細胞の脱落や伸長精子細胞の分化異常にCADM1の発現低下が関連している可能性がある。一方で、CADM1の発現は、精子形成能を反映しているため、CADM1の発現を指標にした精子形成能の評価系の確立が考えられる。イメージング技術を利用して、CADM1の発現量を検出することで精子形成能を評価する動物モデルを作製している。この動物を用いれば、精子形成障害の改善薬のスクリーニングも現在よりもかなり簡便に行うことができる。現在、精子形成障害の改善薬は存在していないので、世界初の改善薬を熊本から、日本から世に送り出すことを研究室一丸となって行っている。

謝 辞

本研究は、熊本大学大学院生命科学研究部・生体微細構築学講座の野口和浩助教と進めています。恩師である井関尚一金沢大学名誉教授・公立小松大学教授の指導のもとで行った研究成果にもとづいています。また、故 辻彰 金沢大学名誉教授には、いつも暖かく見守っていただきました。これまで共同研究を行ってきた金沢大学医薬保健研究域医学系・組織細胞学の仲田浩規講師、金沢大学医薬保健研究域医学系・消化器・腫瘍・再生外科学の太田哲生教授と田島秀浩講師、金沢大学医薬保健研究域薬学系・薬物動態学の玉井郁巳教授、金沢大学医薬保健研究域薬学系・附属病院薬剤部の崔吉道教授、金沢大学医薬保健研究域薬学系・分子薬物治療学の加藤将夫教授には心より深く感謝いたします。

文 献

- 1) Wakayama T, Ohashi K, Mizuno K, Iseki S. Cloning and characterization of a novel mouse immunoglobulin superfamily gene expressed in early spermatogenic cells. *Mol Reprod Dev* 60: 158-164, 2001
- 2) Wakayama T, Koami H, Ariga H, Kobayashi D, Sai Y, Tsuji A, Yamamoto M, Iseki S. Expression and functional characterization of the adhesion molecule spermatogenic immunoglobulin superfamily in the mouse testis. *Biol Reprod* 68: 1755-1763, 2003
- 3) Wakayama T, Sai Y, Ito A, Kato Y, Kurobo M, Murakami Y, Nakashima E, Tsuji A, Kitamura Y, Iseki S. Heterophilic binding of the adhesion molecules poliovirus receptor and immunoglobulin superfamily 4A in the interaction between mouse spermatogenic and Sertoli cells. *Biol Reprod* 76: 1081-1090, 2007
- 4) Wakayama T, Iseki S. Role of the spermatogenic-Sertoli cell interaction through cell adhesion molecule-1 (CADM1) in spermatogenesis. *Anat Sci Int* 84: 112-121, 2009
- 5) Nakata H, Wakayama T, Takai Y, Iseki S. Quantitative analysis of the cellular composition in seminiferous tubules in normal and genetically modified infertile mice. *J Histochem Cytochem* 63: 99-113, 2015