

生殖医学・医療の現状:男性不妊症を中心に

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-12-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/40238

生殖医学・医療の現状

—男性不妊症を中心に—

並木 幹夫 高 栄 哲 前田 雄司

金沢大学大学院医学系研究科集学的治療学（泌尿器科学）

要旨：少子高齢化社会の到来で不妊症治療への期待が高まっており、不妊症原因の約半数を占める男性不妊症診療も着実に進歩している。本稿では、まず精索静脈瘤に対する手術、閉塞性無精子症に対する精路再建術、非閉塞性無精子症に対する精巣精子採取術の進歩を紹介した。次に最多の男性不妊症原因である特発性精子形成障害の原因解明に向けての最新の基礎研究の一端を概説した。

key words 生殖医学, 男性不妊症, 無精子症

はじめに

少子高齢化社会の到来により、生殖医療に対する社会の期待が高まっており、生殖補助技術（assisted reproductive technology：ART）を代表とする生殖医療の進歩は目覚ましいものがある。このような状況下で、不妊症原因の約半数を占める男性不妊症診療が軽視される風潮もあるが、男性不妊症診療も臨床面・基礎研究面で着実な進歩を遂げている。男性不妊症診療を大きく2つに分けると、1つは、自然妊娠を期待して精子濃度・運動率を増加させる目的の治療で、もう1つはARTを前提とした精子の採取を目的とした治療である。ただし、いずれの場合も精子形成機序の解明および、それによる特発性乏・無精子症の病因を明らかにすることが治療成績向上につながると考えられるため、基礎研究の発展も欠かすことのない重要な課題である。

Current status of reproductive medicine

Mikio Namiki, Eitetsu Koh and Yuji Maeda
Department of Integrative Cancer Therapy and Urology,
Kanazawa University Graduate School of Medical Science

key words : reproductive medicine, male infertility, azoospermia

* 金沢市宝町 13-1 (076-265-2390) 〒 920-8640

本稿では、男性不妊症診療の現状と進歩の一端を紹介するとともに、男性不妊症と関連する生殖基礎医学のトピックスを紹介する。

I 男性不妊症と泌尿器科診療の現状

男性不妊症の治療として泌尿器科的治疗が可能な疾患は少なくない（表1）。しかし、実際に男性不妊症診療に携わっている泌尿器科医は多くないため、せっかく婦人科医から不妊症患者を紹介されても十分な診療が施されないことがあり、不妊症患者や婦人科医から不評をかうことがある。日常診療に多忙な一般泌尿器科医にとって不妊症診療まで手が回らない現状では、不妊症診療の概要をせめて理解していただき、近隣の不妊症診療を行っている泌尿器科専門医へ紹介していただくと有難い。以下に主な疾患の現状を記す。

1. 精索静脈瘤

精索静脈瘤は、男性不妊症の原因の約3分の1を占め、手術により自然妊娠が期待できる疾患であるため、その診断は重要であり、最近では視診・触診のみならず、エコー・カラードプラーなどで診断することが一般的になっている。精索静脈瘤に対する手術法は精巣静脈高位結紮術（パロモ法や腹腔鏡下）が主であったが、最近では顕微鏡下鼠径部精索静脈低位結紮術が普及してきた。精索静

表1 泌尿器科が関わるべき男性不妊症

疾患		治療法
精索静脈瘤		手術
内分泌不全	特発性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症 カルマン症候群 二次性性腺機能低下症 原発性性腺機能低下症	ホルモン療法 ホルモン療法 ホルモン療法 ホルモン療法
停留精巣 (両側)		固定術/摘出術
射精障害	機能的射精障害 射精管閉塞	薬物療法 経尿道的手術
精管閉塞	精管切断後	精管精管吻合
特発性男性不妊症	非閉塞性無精子症 乏精子症	精巣精子採取術 薬物療法

脈瘤の手術成績に関し、2003年にLancetに発表されたMeta-analysisでは精索静脈瘤に対する手術療法は男性不妊症の治療として有効でないという結論がなされたが¹⁾、対象の中に不適切な患者も含まれていたこともあり、結論は出ていない。最近発表された論文では、精索静脈瘤に対する手術の有用性を支持する論文が多い²⁾。また、顕微鏡下鼠径部精索静脈低位結紮術は、従来の高位結紮術に比べ有意に精子数および運動率の改善があったとしている³⁾。

2. 閉塞性無精子症に対する精路再建術

閉塞性無精子症の原因の多くは、避妊のための精管切断(パイプカット)であるが、米国ではパイプカット後の2~6%に再吻合の希望がある。また小児期の鼠径ヘルニア手術後に1~2%閉塞性無精子症が発症するとされる。これらの閉塞性無精子症は顕微鏡下の精管精管吻合によって、射精精液中への精子出現率は80~90%、妊娠率は50~65%と報告されており⁴⁾、積極的に精路再建術を考慮すべきである。

3. Microdissection TESE (MD TESE)

非閉塞性無精子症でも生検精巣組織から精子が採取できる可能性があることが判明してから、精巣精子採取術(testicular sperm extraction: TESE)が普及し、無精子症に対する治療が拓かれた。しかし、精巣内精子の質と精子回収の予測因子(ホルモン値)などが確定できていないことも事実である。そこで、TESEによる精巣への損傷の軽減と精子回収率の改善およびラボでの精子探索時間の短縮のため、術中顕微鏡下で精細管を観察するMD TESE(microdissection TESE)が普及してきた。この方法を用いると、以前は絶対

不妊と考えられていたクラインフェルター症候群患者においてさえ、精子が採取できる場合も少なくなく、MD TESEの有用性が認識されつつある。

II 男性不妊症に関連する基礎研究の現状

男性不妊症治療の目的は、精子濃度・運動率・授精能を改善し、自然妊娠率を上げることと、無精子症患者から精子を採取し、ARTとの併用で拳児を得ることである。この目的を達成するために最も必要なことは、男性不妊症原因の過半数を占める特発性精子形成障害の病因を解明することであり、精子形成や受精に関わる様々な因子を主に分子生物学的に明らかにすることが重要課題である。以下に、それらの研究のトピックスを紹介することにより、将来の臨床応用のヒントとしたい。

1. ゲノム制御

Y染色体上のAZF(Azoospermia factor)は精子形成領域として知られている(図1)。精子形成(障害)の表現型の違いからAZFa, b, cに分類され、その欠失の機序がリピート配列による再組換えであることが明らかとなってきた⁵⁾。また、これらの欠失はY染色体特異マーカーによって検索出来る⁶⁾。

a) AZFaの欠失機序

AZFaの欠失は5,000万年前に、ヒトゲノムに入りこんだと考えられるヒト内因性レトロウイルス(human endogenous retrovirus: HERV)による。

HARV-1の断片はpalagougousな直接リピー

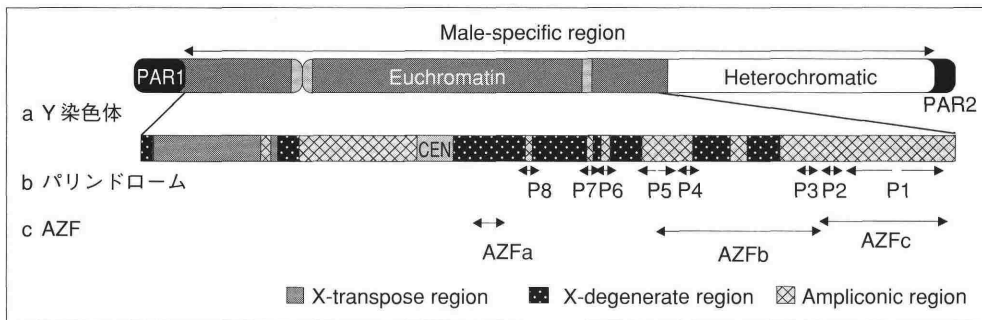


図1 Y染色体の構造

Y染色体のサイズは約50～60Mbであり、X染色体の1/3の大きさに過ぎない。性染色体両端には偽常染色体領域PAR (pseudoautosomal region) が存在する。PARを除いた部分はMSY (Men specific region of Y) とよび、真性クロマチン (euchromatine) 部と異質クロマチン (heterochromatine) 部とに分けられる。真性クロマチン部は、その由来からX-transpose, X-degenerate, ampliconicの3領域に分けられ、モザイク状に配されている (a)。Y染色体長腕部は図に示したように8カ所のパリンドローム構造 (P1～P8) を持つ。パリンドローム構造とは回文構造のことである。Y染色体の8つのパリンドローム構造のサイズは真性クロマチン全体の約半分弱をしめる。とくに、P1はさらに小さなパリンドローム単位、アンプリコンに分割され、小さなアンプリコンの複合体を形成している (b)。Y染色体長腕遠位部の精子形成候補領域AZFが存在し、AZFa, b, cに分類される。表現型としてAZFa欠失者の精巣組織型はSertoli cell only syndrome (SCO), AZFb欠失者はmaturation arrest, AZFc欠失者は様々な組織型を示すことが多い (c)。

ト構造を持ち、この直接リピートどうしが相同再組み換えを生じ、欠失が生じた結果、遺伝子欠失が生じる。これがAZFa欠失が原因の無精子症で、われわれは1,033例の不妊外来受診者のうち4例にこの欠失を見出ししている⁷⁾。

b) AZFb, cの欠失機序

従来、AZFb, cと分類されている領域はパリンドロームP1～P5を含む。また、AZFcにあるパリンドロームはさらに小さなサブパリンドローム複合体を形成している。この複合体のリピート配列どうしが相同組換えによって、ある領域が欠失し、その領域に含まれる転写物の欠失によって精子形成が障害される。

c) AZFc欠失 (b2/b4欠失)

AZFc領域の欠失は、サブアンプリコンb2とb4相同性 (99.9%以上) によって、相同再組換えが生じ、精子形成遺伝子が欠失した。この欠失領域は約1.8Mbにも及ぶが、その表現型は様々である。AZFcの部分欠失であるgr/gr欠失は、約1.5Mbの大きな欠失であるが、臨床的障害を惹起することはないと考えられている。これは、パリンドローム複合体のため、実質的な欠失遺伝子がないためである。本欠失は日本人男性 (縄文系) に多い。

2. エピジェネティック制御

エピジェネティック制御とは、非塩基配列的な

遺伝子活性の制御と定義できる。その主なメカニズムはDNAメチル化, small RNAによる調節, ヒストン修飾などであって、遺伝子の発現に影響を与えるものである。

a) DNAメチル化

現在、最もよく研究されているのが、ほ乳類ゲノムに2,000～3,000万箇所散在するというCpG 2塩基サイトである。この領域のメチル化は発生段階のみならず、遺伝子制御の破綻, X染色体不活性化, ゲノムインプリントやヒストン修飾に関与していると考えられている。これらのメチル化は生殖細胞系において、DNA-methyltransferase (DNMT) によって開始されるので、この酵素遺伝子などの活性あるいは多型性が研究されている。

b) small RNA

ヒトゲノムプロジェクトの成果により、タンパク質をコードする遺伝子が予想より少なかったのみならず、線虫とヒトでその数に変化がなく約2万個であった。しかし、タンパク質をコードしない (ノンコーディング) 領域がヒトゲノムの98%におよび、その半分近くがtransposal element由来である。さらに、生物の複雑さが増すほどノンコーディング領域が増し、この転写物こそが生物の複雑さを生み出している要素であると提唱されるようになった⁸⁾。

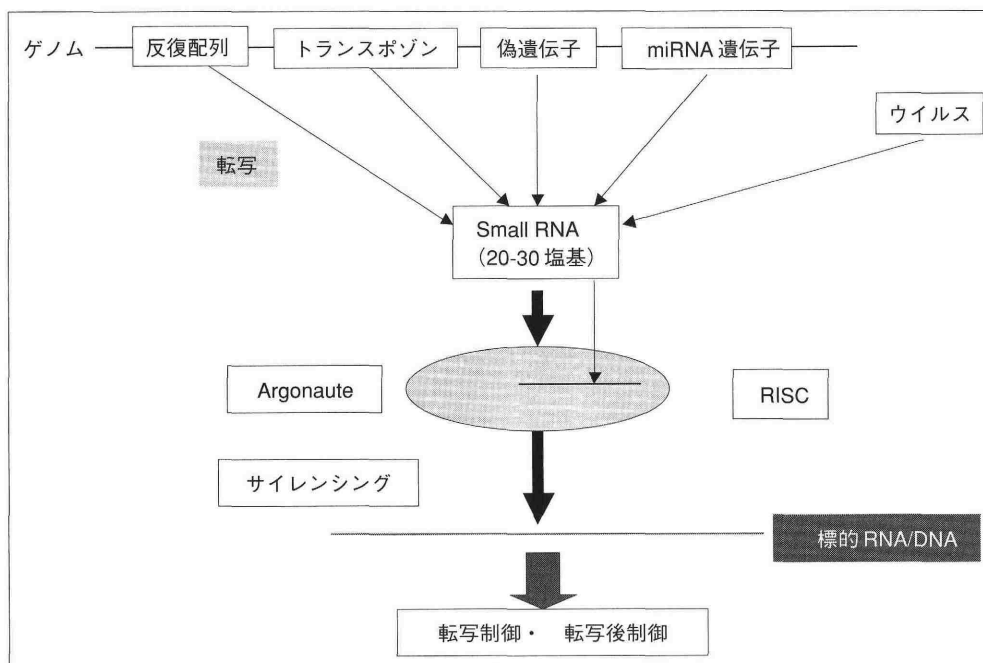


図2 Small RNA の生成と作用機序

Small RNA はゲノム配列の各エレメントから、転写される。これは非特異的な argonaute タンパクと複合体を形成し、これを中核に RISC (RNA induced silencing complex) により、mRNA (遺伝子) に対してターゲティングし、mRNA 分解、翻訳制御、クロマチン形成、また DNA メチル化を配列特異的に誘導することができる。

c) マイクロ RNA

この領域から発現される転写物は、サイズの小さな RNA が多く、ribozyme などのように RNA 自身が触媒作用をもつ。RNAi (RNA interference) は、近年臨床にも応用される可能性もあるが、20-30 塩基からなる単鎖 RNA である。この代表が 20-25 塩基配列のマイクロ RNA (miRNA) である。これは非特異的な argonaute と複合体を形成し、これを中核に RISC (RNA induced silencing complex) により、mRNA (遺伝子) に対してターゲティングする (図 2)。したがって、mRNA 分解、翻訳制御、クロマチン形成、また DNA メチル化を配列特異的に誘導する⁹⁾。miRNA は遺伝子を制御している。

d) 生殖細胞特異的単鎖 RNA (piRNA)

21-23 塩基の Small RNA は mi RNA と si RNA に分類されてきたが、第 3 の 24-31 塩基の small RNA である pi RNA が生殖細胞から単離された。piRNA は PIWI ファミリータンパクに結合するため、pi RNA (piwi-interacting RNA) と呼ばれている¹⁰⁾。PIWI ファミリーは Argonaute ファミリーのひとつで、レトロトランスポゾン由来のことが多い。精細胞系に特異に発現し、精子形成制御機構の中心的な役割を演じる可能性が高い。

3. 精子クロマチンパッケージング

ART により、受精率、妊娠率、出生率は向上しているが、すでに上限に達しているとも考えられる。これは、精子先体 DNA の断片化によるものと考えられている。精子完成段階 (spermiogenesis) において、精子はその形態が変化する。すなわち、85% のヒストンがプロタミンに置換されるとされ、パッケージングされる。近年、このパッケージングにはエピジェネティックな制御が行われていると報告されている¹¹⁾。核マトリックス結合とヒストン/プロタミンとの関係が DNA 断片化に関与している可能性があり、精子核の空胞化との関係とともに研究が進められている。

4. ミトコンドリアと精子

ミトコンドリア (mt) DNA は、細胞質にあり、核外ゲノムである。電子伝達系の 13 のポリペプチドを持ち、さらに 22 の tRNA、2 個の rRNA をコードしている。mtDNA が妊孕性に関与しているかどうかは議論の多いところである。当初、精子運動の ATP は解糖系から供給されていると考えられていたが、mtDNA の変異などの研究で、酸化的リン酸化の過程で得られる ATP によることが証明され、酸化的リン酸化が、精子運動・機能や形態に関与することが分かってきた。精子に

は少ないながらもミトコンドリアが存在して、特別な作用を持つと考えられている。また、spermatogenesis (精子形成) から spermiogenesis (精子成熟) の過程で精子ミトコンドリアの数は1割程度まで減少することから、mtDNAのコピー数が精子完成のよい指標である可能性もある。

5. 抗酸化剤と精子 DNA 損傷

精子 DNA 損傷の要因は異常プロタミン発現と過度の活性酸素 (reactive oxygen species: ROS) 産生と考えられている。高度の活性酸素と精子 DNA 損傷は不妊患者の 25% の精液に見られとされている。ヒト精子の活性酸素の感受性は精子内の不飽和性脂肪酸が豊富に存在しているためと考えられている。精液中の精漿はスカベンジャーとして重要な役割を担っており、非酵素的な保護作用も存在している。特に、頻回の精子洗浄は活性酸素が増加し、精子に損傷を与えている可能性が高い¹²⁾。抗活性酸素剤である、ビタミン C、E も臨床的に用いられているが、その有用性については、未だ確定していない。

6. *In vitro* 精子培養

精子完成段階の円形精子細胞、伸長精子細胞から精子に至る体外培養は、TESE-ICSI の技術が安定している現在、現実的な課題である。精子培養が困難であるのは、精巣内の画分が比較的しっかりしていること、立体的な構造特異性、各ステージに作用するシグナルや遺伝子が複雑に関与していることなどに起因する。体細胞と減数分裂を経る精細胞の複雑な調節を、体外で再現するのは困難である。したがって、精細管内移植法や皮下に精細管を移植し、精子形成を促進する方法であるが、技術的、倫理的に様々な問題を包含する。

7. 精巣から多能性幹細胞の樹立

精巣内精祖細胞を培養すると、ごく少数の ES 細胞様の細胞が出現することが明らかとなっているが、胎児からの採取を前提とする始原生殖細胞は、倫理的に問題がある。一方、患者生検材料からの多能性幹細胞の樹立は再生医療に応用が考えられるが、その超えるべきハードルは高い。

おわりに

男性不妊症診療は着実に進歩しているが、特発性精子形成障害の原因解明は未だなし得ていない。しかし、近年の分子生物学の進歩は著しく、

精子形成機序およびその障害を解明する基礎研究の成果が出始めている。これらの診療、基礎研究に泌尿器科医が積極的に参画していただくことを期待する。

文 献

- 1) Evers JLH and Collins JA : Assessment of efficacy of varicocele repair for male subfertility : a systematic review. *Lancet* **361**: 1849-1852, 2003
- 2) Richardson I, Grotas AB and Nagler HM : Outcomes of varicocelectomy treatment : an updated critical analysis. *Urol Clin North Am* **35**: 191-209, 2008
- 3) Al-Said S, Al-Naimi A, Al-Ansari A, et al : Varicocelectomy for male infertility : a comparative study of open, laparoscopic and microsurgical approaches. *J Urol* **180**: 266-270, 2008
- 4) Belker AM, Thomas AJ Jr, Fuchs EF, et al : Results of 1,469 microsurgical vasectomy reversals by the Vasovasostomy Study Group. *J Urol* **145**: 505-511, 1991
- 5) Choi J, Koh E, Suzuki H, et al : Alu sequence variants of the BPY2 gene in proven fertile and infertile men with Sertoli cell-only phenotype. *Int J Urol* **14**: 431-435, 2007
- 6) Fukushima M, Koh E, Choi J, et al : Reevaluation of azoospermic factor c microdeletions using sequence-tagged site markers with confirmed physical positions from the GenBank database. *Fertility and sterility* **85**: 965-971, 2006
- 7) Choi J, Koh E, Matsui F, et al : Study of azoospermia factor-a deletion caused by homologous recombination between the human endogenous retroviral elements and population-specific alleles in Japanese infertile males. *Fertility and sterility* **89**: 1177-1182, 2008
- 8) Mattick JS : RNA regulation : a new genetics? *Nat Rev Genet* **5**: 316-323, 2004
- 9) Miranda KC, Huynh T, Tay Y, et al : A pattern-based method for the identification of MicroRNA binding sites and their corresponding heteroduplexes. *Cell* **126**: 1203-1217, 2006
- 10) Girard A, Sachidanandam R, Hannon GJ, et al : A germline-specific class of small RNAs binds mammalian Piwi proteins. *Nature* **442**: 199-202, 2006
- 11) Bungum M, Humaidan P, Axmon A, et al : Sperm DNA integrity assessment in prediction of assisted reproduction technology outcome. *Hum Reprod* **22**: 174-179, 2007
- 12) Benchaib M, Lornage J, Mazoyer C, et al : Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as a prognostic indicator of assisted reproductive technology outcome. *Fertil Steril* **87**: 93-100, 2007