

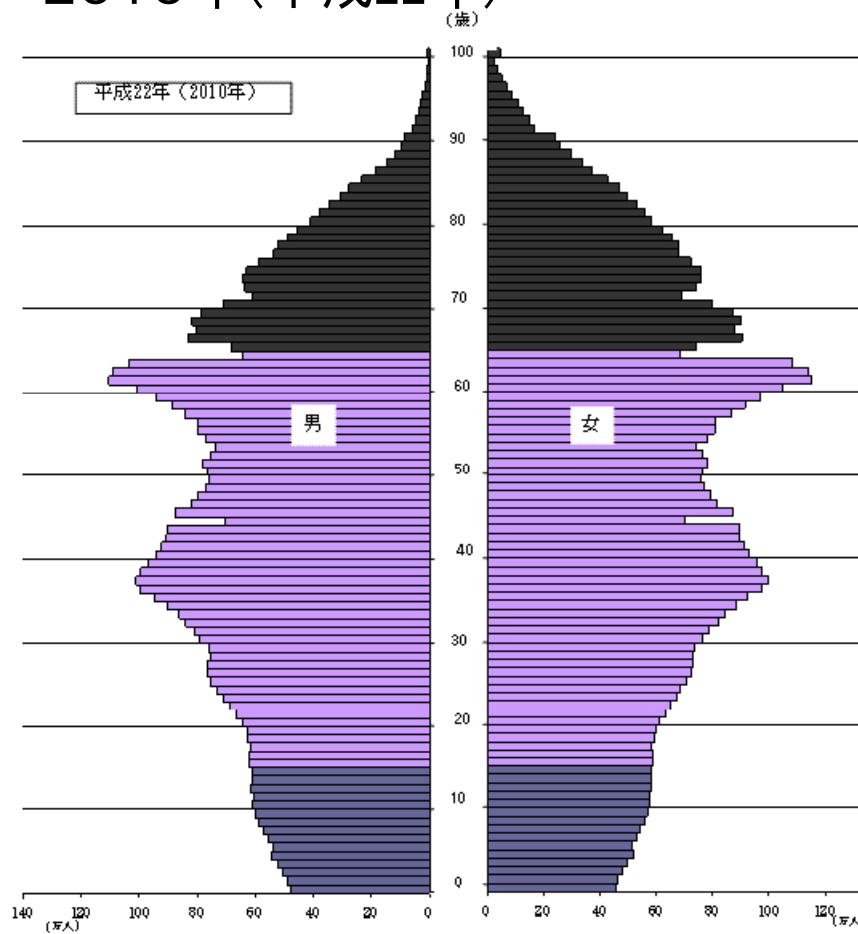
男性不妊とその要因

旭川医科大学産婦人科学講座
宮本敏伸

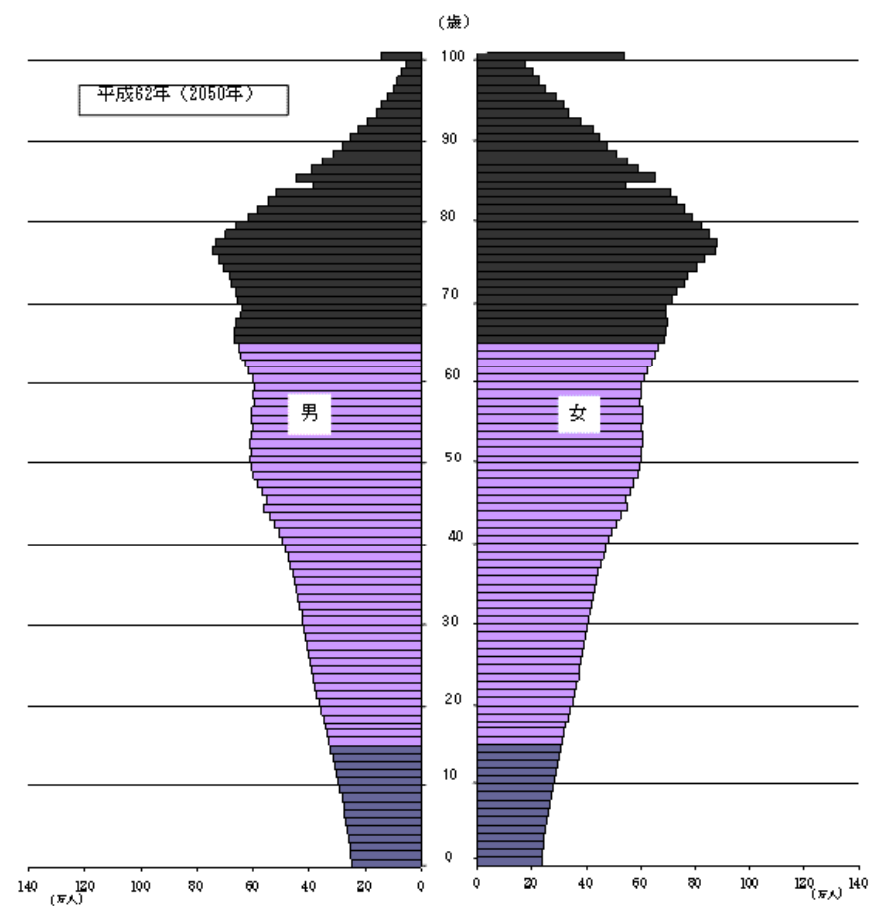
大雪山連邦

人口ピラミッド

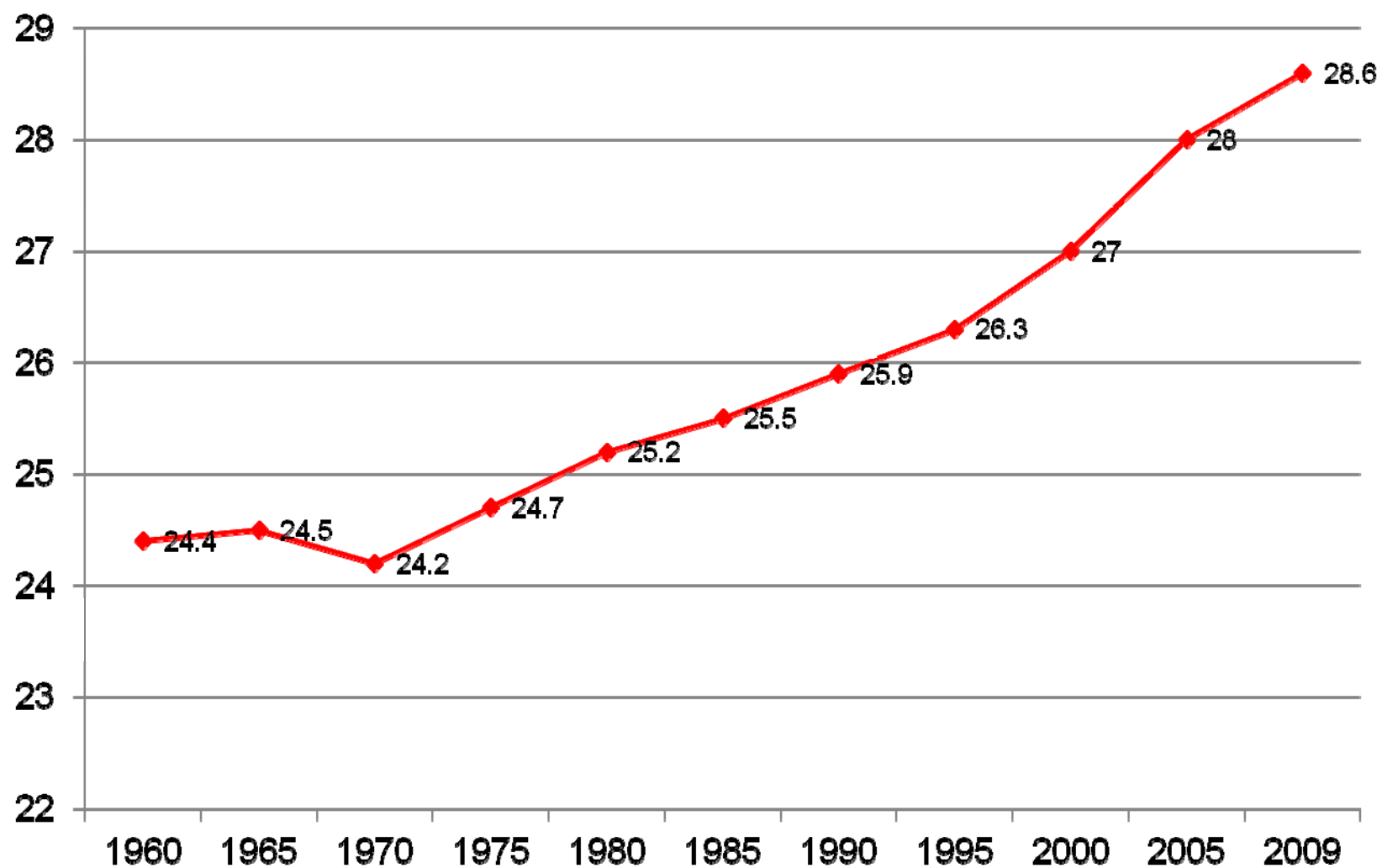
2010年(平成22年)



2050年(平成62年)



妻の初婚年齢の推移



生殖可能な年令にある男女が正常な性生活を営んでいるが避妊期間を除いて2年以上経過しても妊娠しない時を不妊症とよぶ

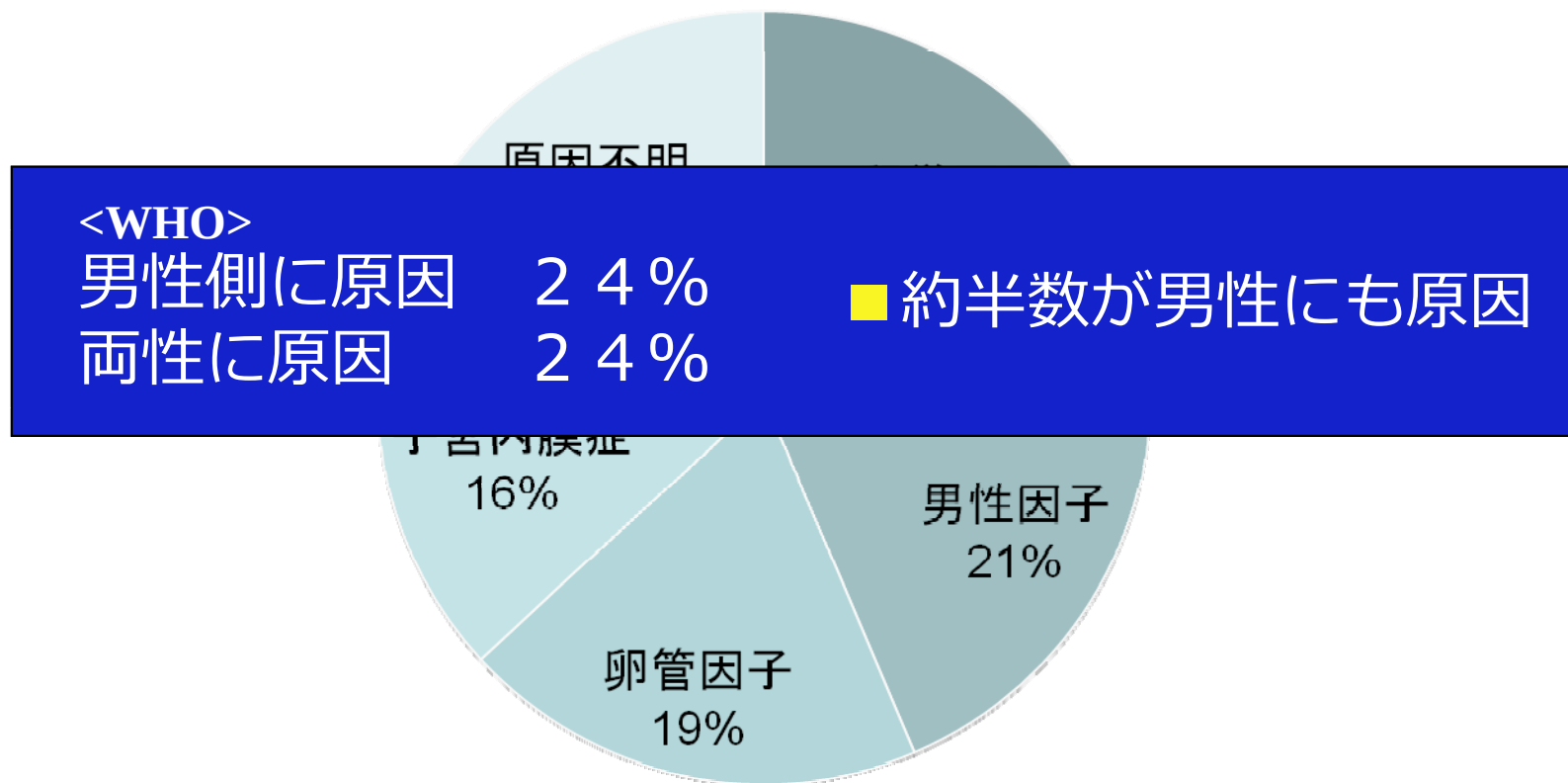
(1年間とする国も多い)

晩婚化に伴い不妊カップルが増加傾向にある

不妊カップルは約10—15%
全国では約120万組

当科における主な不妊原因

不妊因子



旭川医科大学産婦人科(1997-2005年)

男性不妊の原因

造精機能障害 (90%)

精路通過障害

副性器障害

性機能障害

免疫性不妊



原因不明(60%)

精索静脈瘤

染色体異常

停留精巣

精巣炎

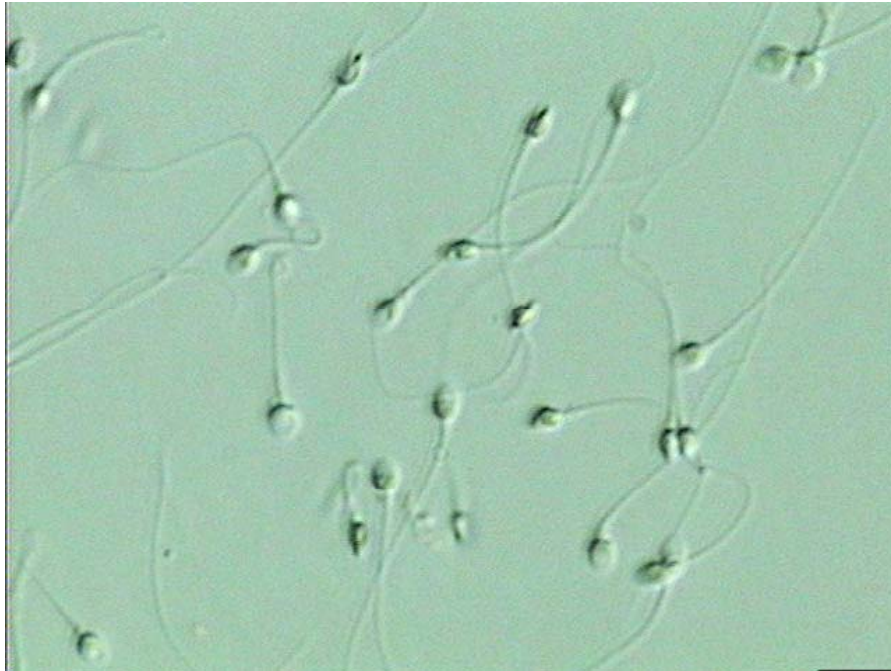
内分泌性

環境性

男性不妊の現状

- ICSI(1992年, Palermo), TESE-ICSI (1993年)などの生殖補助医療技術が急速に普及
- 治療が先行し、男性不妊の原因解明は顧みられない傾向がある
- 未だ男性不妊の原因、診断法に関し不明な点が多い

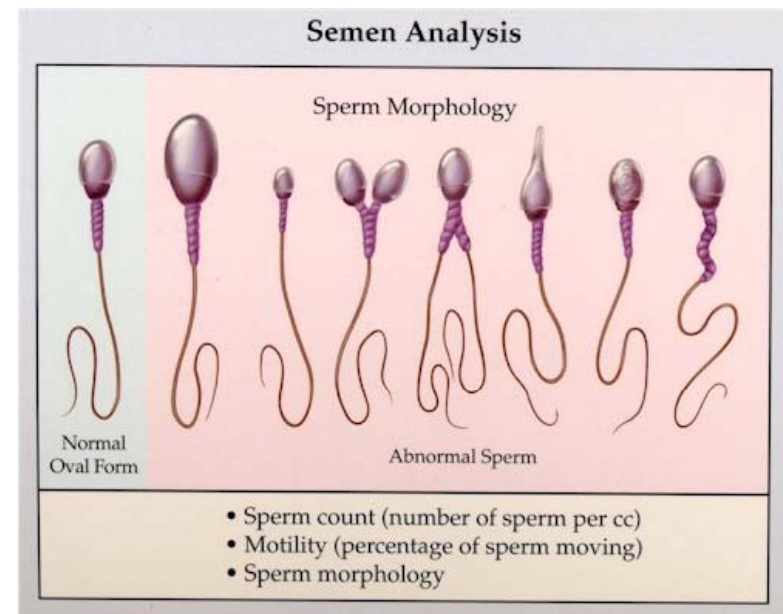
精液檢查



正常精液所見 (WHO 2010、正常下限)

精液量	1.5 ml (1.4-1.7)
精子濃度	$15 \times 10^6/\text{ml}$ (12-16)
運動率	40% (38-42)
正常形態率	4% (3-4)

奇形精子



精液検査の問題点

- 統一した精度管理が行われていない
- 施設間、検査者間で 成績が異なる
- 男性生殖機能の評価、診断、治療成績を他施設と比較することが困難

検査手技を統一化し、施設や検査者を超えて再現性を持つ検査法の確立

精液検査標準化ガイドラインの骨子

(2－7日の禁欲後、1時間以内に検査) (2003年)

- 精液量は重量法により測定
 - 精子濃度と精子運動率は別々に測定
(Makler chamber は推奨されない)
 - 精子濃度の測定には精子を不動化し適切な倍率に希釈し
血球計算版にて行う
 - 精子運動率測定はスライドグラスに載せカバーグラスで
覆い400倍 の顕微鏡下に行う（接眼レンズに格子を入れる）
 - 正常形態率はDiff-Quikで染色した後strict criteriaの形態分類
に準拠する
-

精液検査の問題点

- 精液検査だけでは精子の質の評価が困難

精子の受精能をより詳細に評価する
精子機能評価法

精子機能検査

■ 運動能

精子運動率（目視法）
精子運動率（CASA）
sperm survival test

■ 子宮頸管粘液通過性

性交後試験
Miller-Kurzrok試験
Kremer試験
Penetrak試験

■ 細胞膜の評価

hypoosmotic swelling test

■ 核成熟・DNA damage

アクリジンオレンジ蛍光法
sperm chromatin structure assay
COMET assay
TUNEL(nick labelling)
8-OHグアノシン測定
QPCR of nuclear and mitochondrial DNA

■ 受精能評価

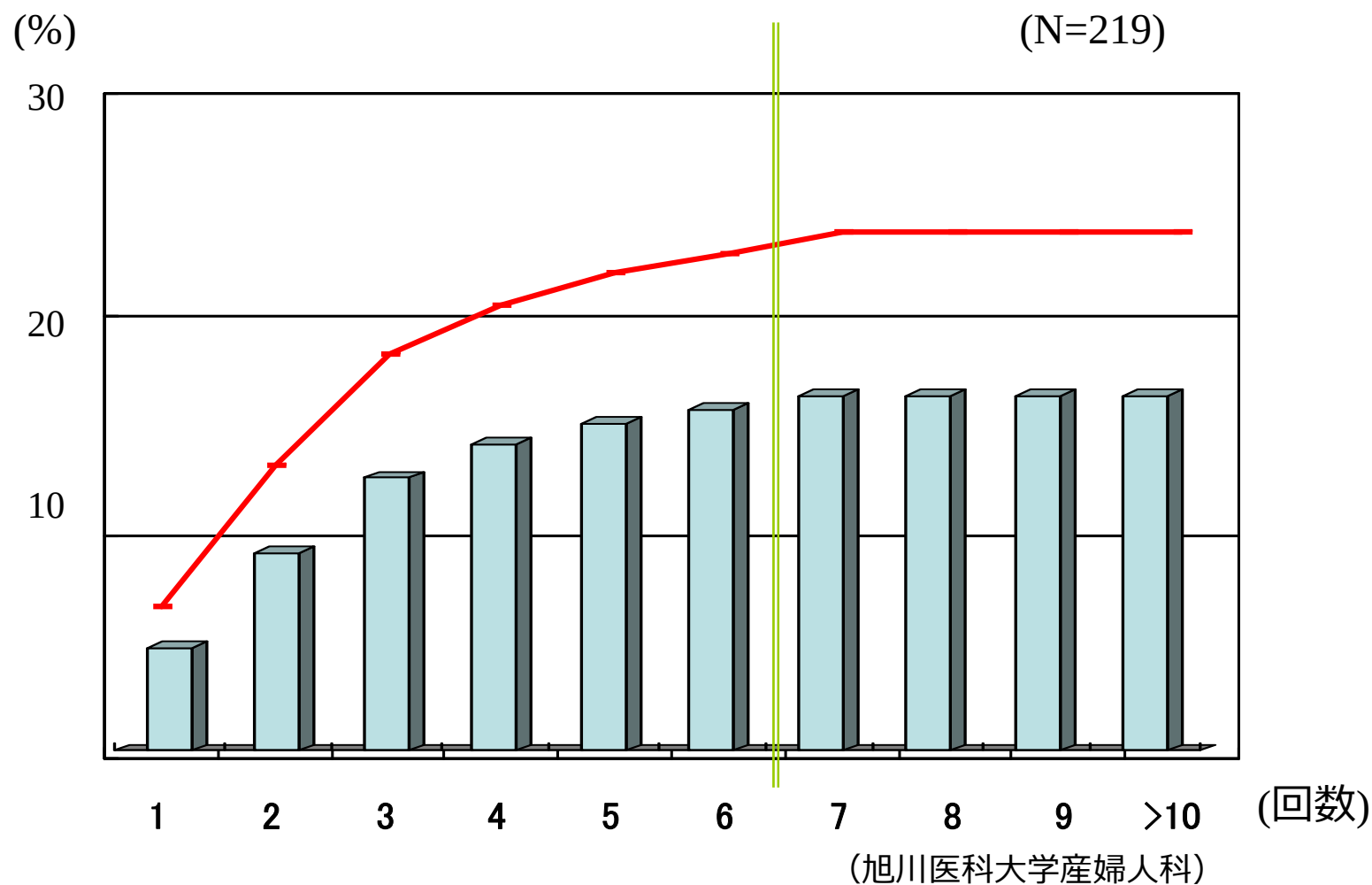
hemizona assay
先体染色法
sperm penetration assay
アクロビーズ試験

実地臨床では煩雑（施行はなかなか困難）

男性不妊の治療： ART

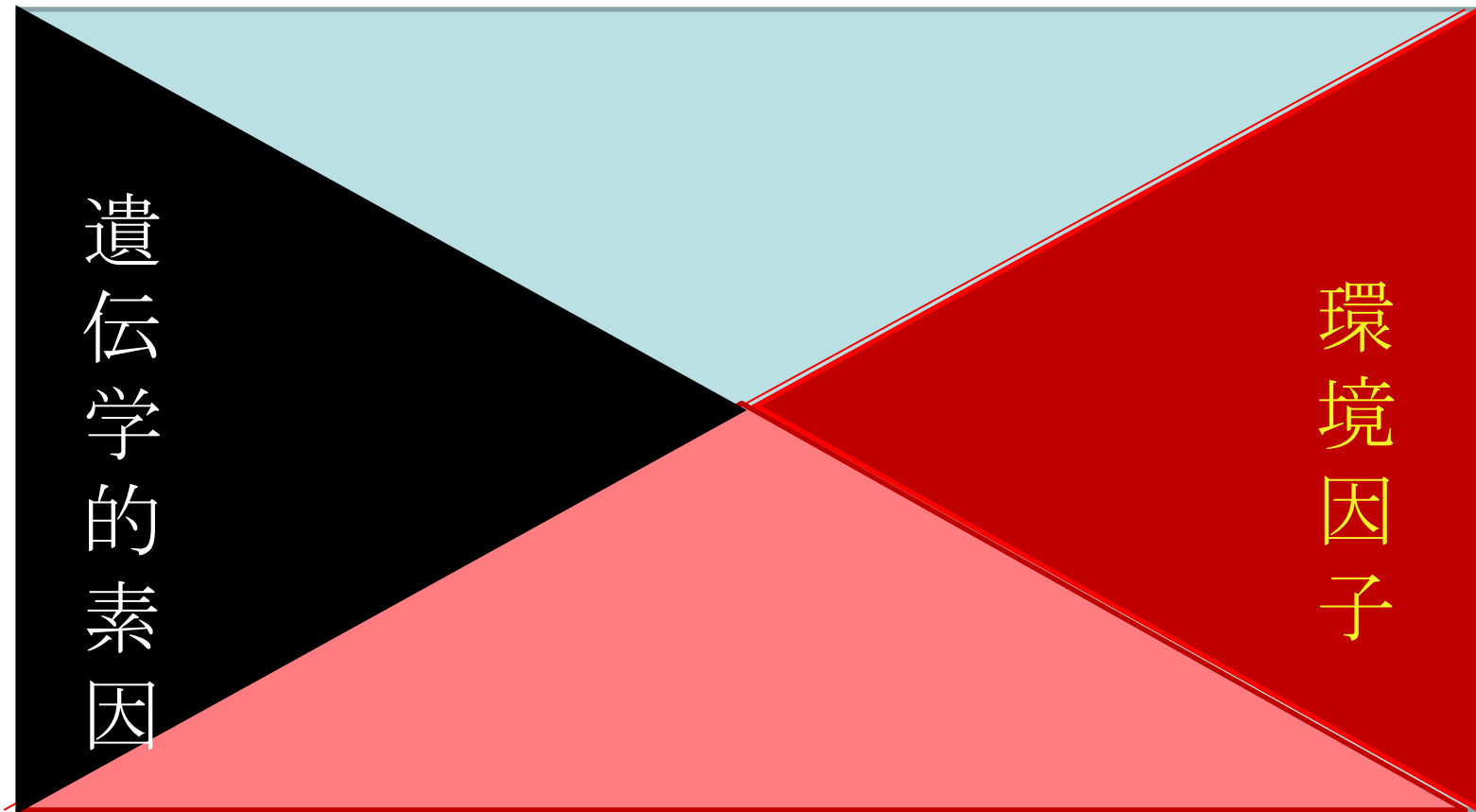
- IUI（人工授精）
- IVF（体外受精）
- ICSI（顕微授精）
- TESE-ICSI（精巣内精子による顕微授精）
 - multiple biopsy
 - microdissection TESE

男性因子に対するIUI (AIH)の累積妊娠率



■ 5回目以降累積妊娠率の上昇は緩徐

男性不妊の環境および遺伝要因



Gene-environment (life style) interaction

- 環境因子の影響を受けやすい（受けにくい）遺伝学的素因
- 環境因子が精子DNAを障害——男児への伝搬

男性不妊と環境要因

- 1977年ある種の殺虫剤(DBCP:dibromochloropropane)がその製造に携わっている男性労働者25人のうち実に14名が無精子症もしくは、乏精子症と診断された

(Whorton et al., Lancet 1977)

- 近年の50年の間(1940-1990年) に精液所見の著明な減少が指摘

(Carlsen et al., Br Med J 1992)

平均精子濃度	113x10 ⁶	66x10 ⁶ (25%減少)
精液量	3.40ml	2.75ml (20%減少)

- ヨーロッパにおける地域別の精液所見の違い (デンマーク、フランス、スコットランド、フィンランド) (健常者 1 0 8 2 名)

(Jorgensen et al., Hum Reprod 2001)

環境因子および職業上の被爆等による精子数の減少

- 屋外労働者の精子数は夏と冬では異なる（健常者131名）

(Levine et al., N Eng J Med 1990)

- 仕事上1日3時間以上車を運転する夫をもつ女性の妊娠率は有意に低い（解析数計 5 2 2 組）

(Thonneau et al., Lancet 1996)

- チェコ人における大気汚染と精液所見（健常者408人）

(Selevan et al., Environ Health Perspect 2000)

- 男性不妊のリスクファクターとしての殺虫剤と溶媒（計225名）

(Oliva et al., Hum Reprod 2001)

- 職業別の男性不妊のリスクファクター：農夫、塗装工、金属取扱者(溶接工など)(不妊患者計 2 0 5 4 名をグループ分け)

(Kenkel et al., Int J Androl 2001)

(Mortensen Scan J Work Health 1988)

環境因子および職業上の被爆等による精子数の減少

- フランス軍人における男性不妊リスクファクター：原子力潜水艦、熱照射（60名の不妊夫婦と165組のコントロール）

(Felipe et al., Hum Reprod 2001)

- 乏精子症のリスクファクター：農薬、溶接、抗生剤、おたふく風邪、フルーツおよび野菜の摂取量（92名の健常者と73名の乏精子症患者）

(Wong et al., Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2003)

- ストレスと乏精子症（患者群37名健常者37名）

(Gennaro et al., Fert Steril 2003)

- Mobile phone、Laptop computer Wi-Fi

(Avendano et al. Fertility sterility 2012)

環境因子および職業上の被爆等による精子数の減少 (否定的な見解)

- フランスにおけるアルミニウム工場の労働者：熱、磁場
(労働者 692 名 > コントロール 588 名)

(Mur et al., Hum Reprod 1998)

- ライフスタイルは男性不妊に影響を及ぼさない：喫煙、
コーヒー、アルコール、熱、下着、運動 (ランダムに 252 名)

(Oldereid et al., Int J Fertil 1992)

- 環境因子と男性不妊に相関は認められない：外傷、熱、騒音、
喫煙、放射線、電磁波、農薬、プラスチック (93 名の不妊患者)

(Effendy et al., 1987 Andrologia)

環境因子と男性不妊研究の問題点

- 環境因子と男性不妊に関する多数の報告があるものの、示唆されているリスクファクターに関して一致した見解が存在しない
 - a) 調査票に頼っているため、被爆の程度を明確に把握できていない（血中濃度測定など）
 - b) 解析されている不妊患者数があまりにも少ない。（100名以下）また精液所見も明確ではないものが多くみられる。
 - c) 正常コントロール群の定義
- 現在の男性不妊患者数の著明な増加から精子形成と環境因子に関する明確な知見が強く望まれており、より大規模な研究、遺伝子多型との関連などが必要であろう。

男性不妊患者の遺伝的背景 および問題点

- 男性不妊患者、特に無精子症では染色体異常を有する率が高い
- 精子所見が悪くなる程染色体異常が増える
染色体異常症例の精子は染色体異常が多い

どの症例に染色体検査をすべきかのガイドライン
は一致したものはない

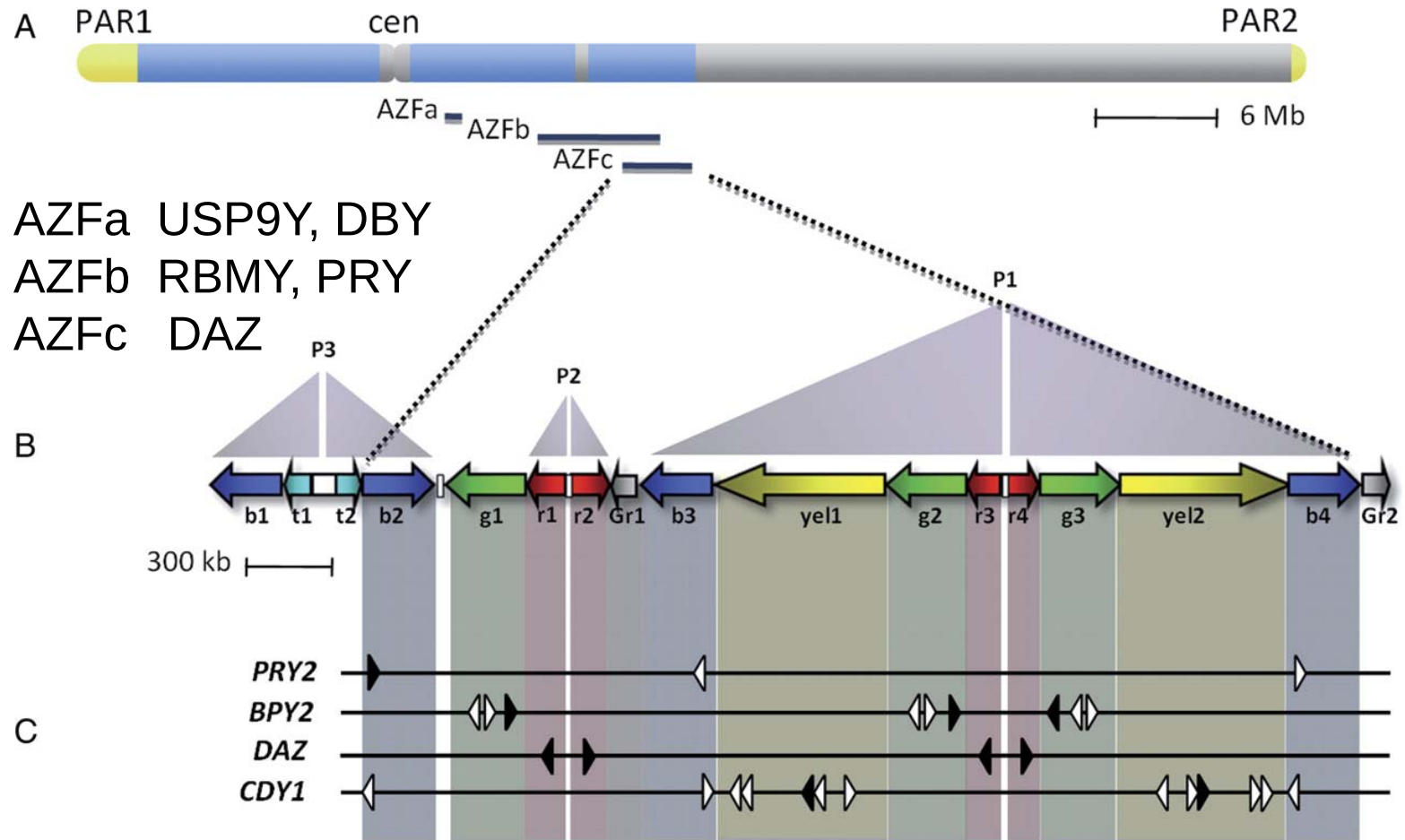
非閉塞性無性症

5-10x10⁶/ml (ASRM)

1x10⁶/ml(Dutch : NVOG)

Y染色体AZF 微少欠失 (Azoospermia Factor)

(1976年Tiepolo & Zuffardiらが提唱)



Y染色体 (AZF領域)

- 1) **DAZ遺伝子**：AZFc領域に存在、精巢特異的発現をしており、上流にRNA binding機能をコードするdomainを有する。mutationによる無精子症が報告されている。(Rejio,1995)
- 2) **RBMY遺伝子**：AZFb領域に存在、精巢生殖細胞特異的発現をしており、RNA binding proteinをコードし、減数分裂での関与が報告されている。(Elliott, 1997)
- 3) **USP9Y遺伝子**：AZFa領域に存在、非閉塞性無精子症患者でmutationが指摘されている。(Sun, 1999)

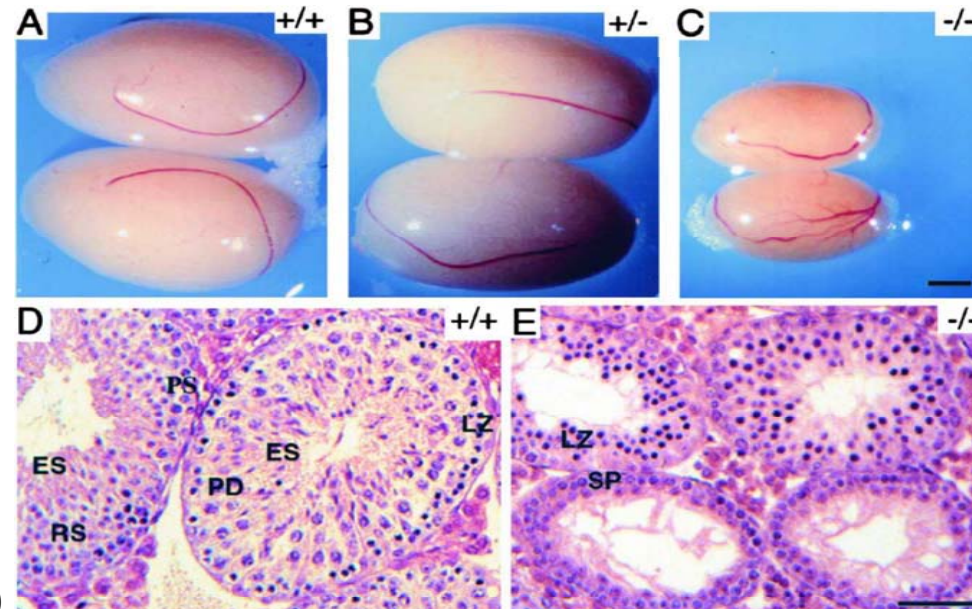
最近の報告ではAZFの欠損は無精子症例の7%しか認められない
常染色体上には精子形成に関与する遺伝子が存在しないのか？

Null mutation in the mouse *SYCP3* gene

- ❑ SYCP3のノックアウトマウスは発達上正常である。
- ❑ SYCP3^{-/-} males と wild-type females 交配させても妊娠および分娩に至らなかった。
- ❑ 解析の結果SYCP3-deficient miceは成熟精子を全く有していなかった。
- ❑ SYCP3^{-/-} females とwild-type males交配するとその数は減少しているものの妊娠および分娩は可能であった。

(Yuan, L et al., Mol. Cell 2000)

Null mutation in the mouse *SYCP3* gene

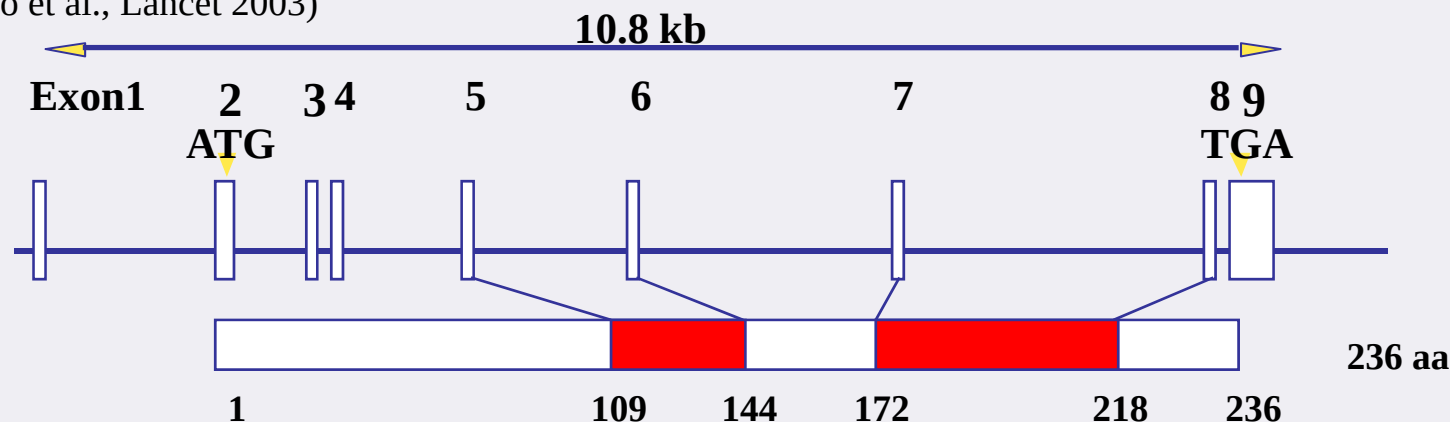


Maturation arrest

(Yuan et al., Mol Cell 2000)

(Miyamoto et al., Lancet 2003)

Chromosome 12



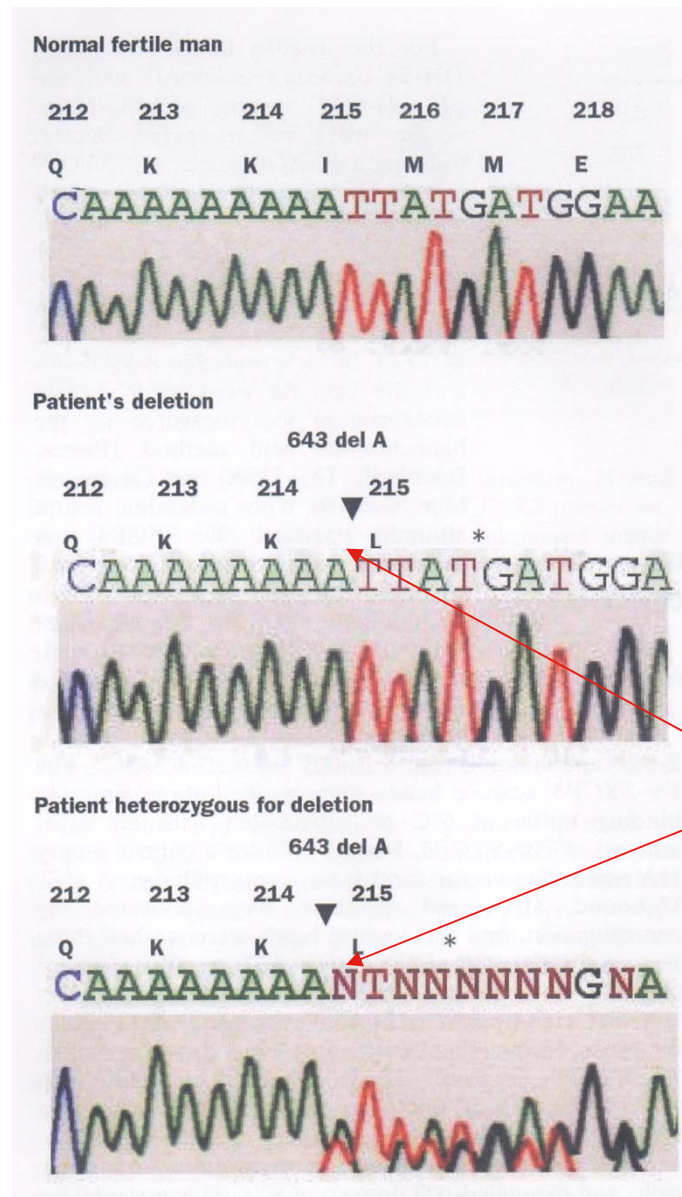
236 aa

Coiled Coil Domain

109 144 172 218
 HVWKTQQDQRQKLNQEYSQQFLTLFQQWDLDMQKAE LKTIKQLYEQFIKSMEELEKNHDNLLTGAQNEFKKEMAMLQKKIMME

Coiled Coil Domain Sequence in Human SYCP3

Point mutation in the azoospermia patients

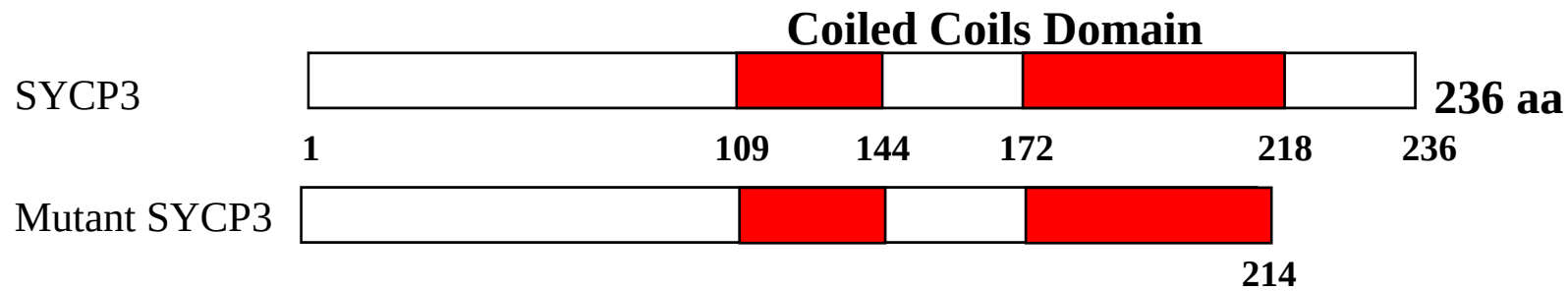


(減数分裂異常)

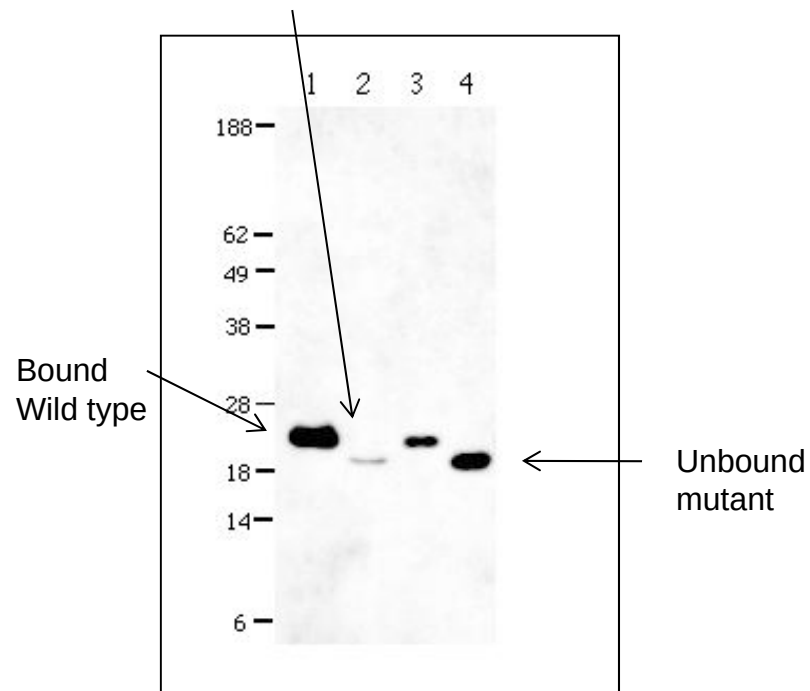
1塩基のアデニンの欠失を
ヘテロで検出

(Miyamoto et al., Lancet 2003)

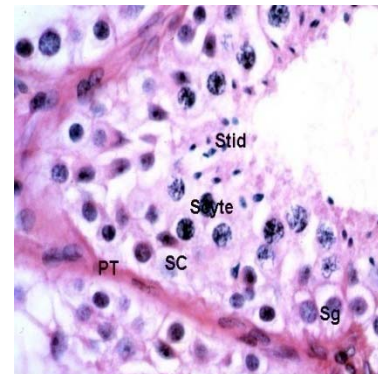
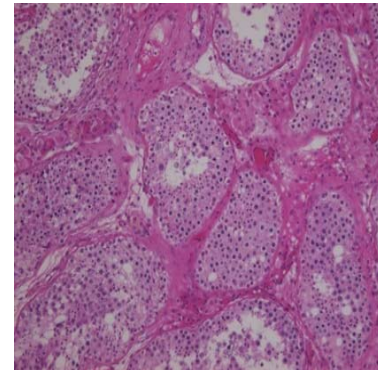
Protein interaction assays between intact and mutant human SYCP3



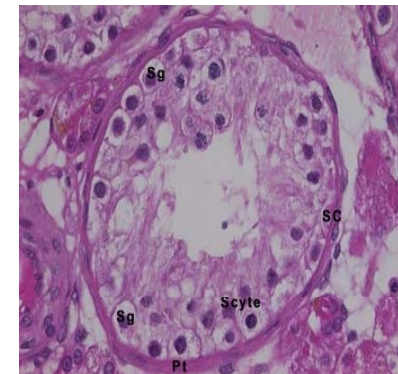
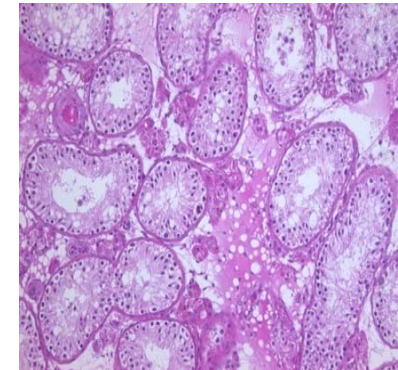
Sycp3 protein self-interaction assay
(Full-lengthとtruncated sycp3 proteinは
Interactionしない)



(Miyamoto et al., Lancet 2003)



Normal



Patient

The human *SYCP3* gene

- ヒトSYCP3 遺伝子は DNA-binding proteinをコードしている。
- その発現は精巢特異的である。
- ヒトChromosome 12に局在している。
- SYCP3 遺伝子はそのmutationにより減数分裂異常に起因する無精子症を呈するAZF領域以外で同定された最初の遺伝子である。
- その精巢の病理組織学的所見はノックアウトマウスのものと酷似していた。
- 以上よりヒトSYCP3のmutationにより減数分裂停止による無精子症が引き起こされたことが示唆された。

(Miyamoto et al., Lancet 2003)

基礎から

男性不妊解明への今後の展望

ヒト無精子症原因遺伝子の同定

逆行性遺伝学(ヒトからマウスへ)

ノックアウトマウスによる精子形成メカニズムの解明

男性不妊症の病態解明



臨床へ

低侵襲無精子症原因診断法および診断キットの開発

遺伝子異常と生殖予後との関連

ヒト精子体外培養下における遺伝子治療法の確立