



文部科学省研究振興局 (2006.05.12)

**第4回科学技術・学術審議会生命倫理・
安全部会生殖補助医療研究所専門委員会**

**大阪大学大学院医学系研究科
器官制御外科学(泌尿器科)**

辻村 晃・奥山明彦



与えられたテーマ

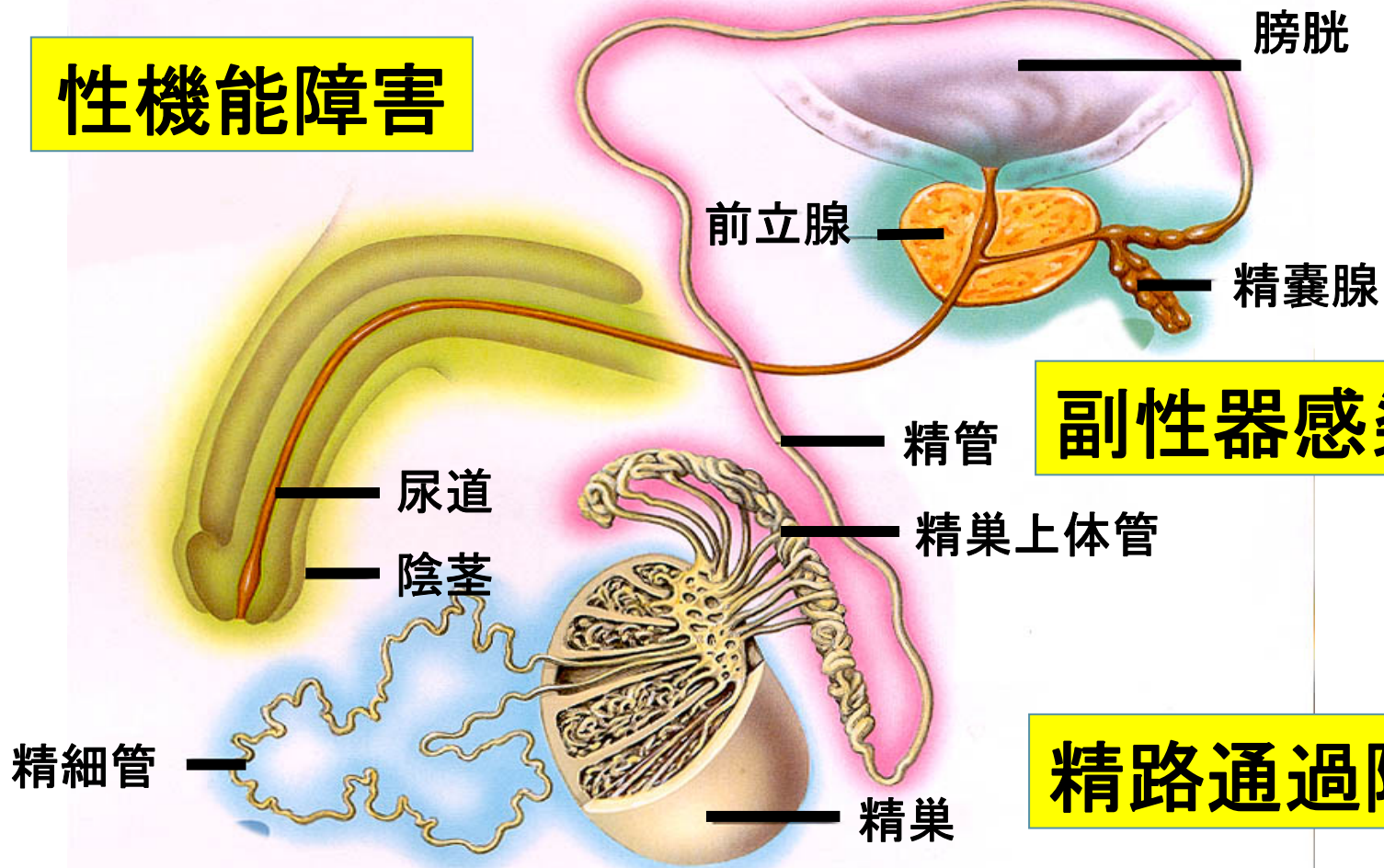
ヒト精子を取り扱う研究の現状

- ・生殖補助医療研究でヒト精子を取り扱う研究
- ・大学や研究所において精子を取り扱う研究の傾向
- ・研究に用いるヒト精子の入手方法
- ・動物実験との関係
- ・ヒト精子を取り扱う研究と、ヒト卵子・ヒト胚を用いる研究の違いについて
 - ・生殖補助医療研究以外でヒト精子を取り扱う研究

ヒト精子を研究用に提供していただく際の
インフォームドコンセントのとりかた

男性不妊症の原因

性機能障害



副性器感染症

精路通過障害

精子形成障害



男性不妊症の原因-2193例の検討-

1. 精子形成障害 (2052例 : 93.6%)

a. 特発性 (原因不明)	1277
b. 精索静脈瘤	612
c. 染色体異常 (Klinefelter症候群など)	51
d. 停留精巣	33
e. 内分泌障害 (ゴナドトロピン欠損症、高プロラクチン血症など)	31
f. 精巣炎	21
g. その他	27

2. 精路通過障害 (77例)

先天性精管欠損症、精管閉塞症、ヘルニア術後など 77

3. 副性器感染症 (37例)

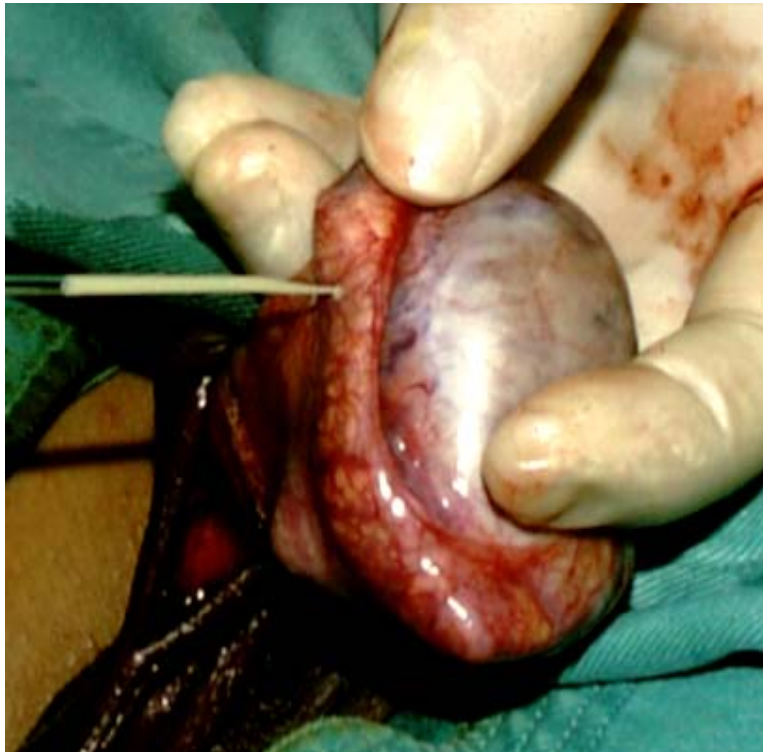
膿精液症、精巣上体炎、精管炎など 37

4. 性機能障害 (27例)

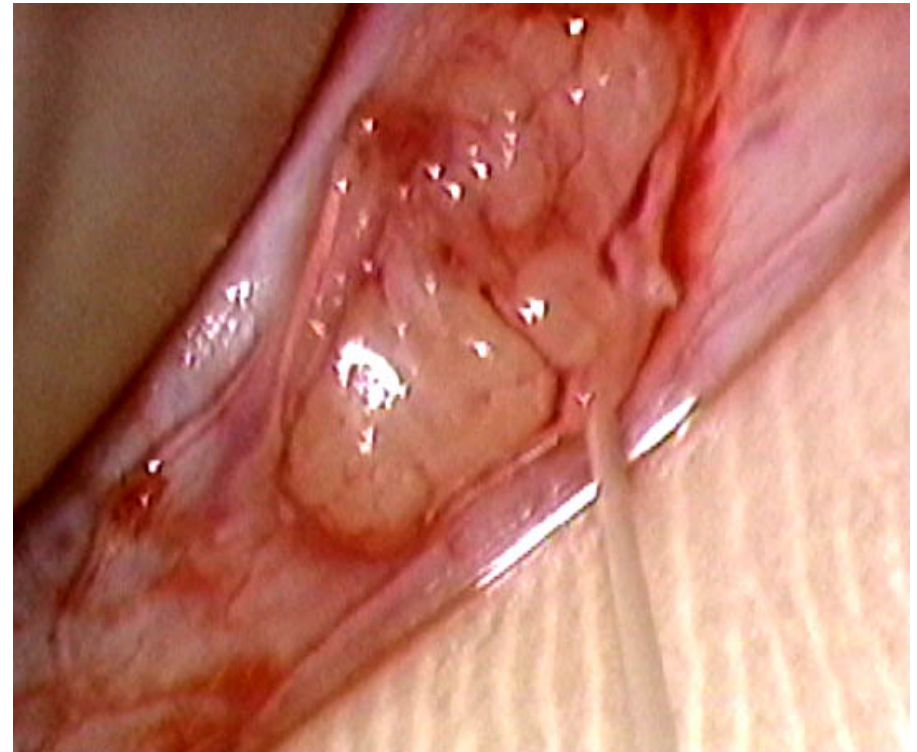
性交障害、射精障害 27

精巢上体精子吸引術

MESA : Microscopic epididymal sperm aspiration



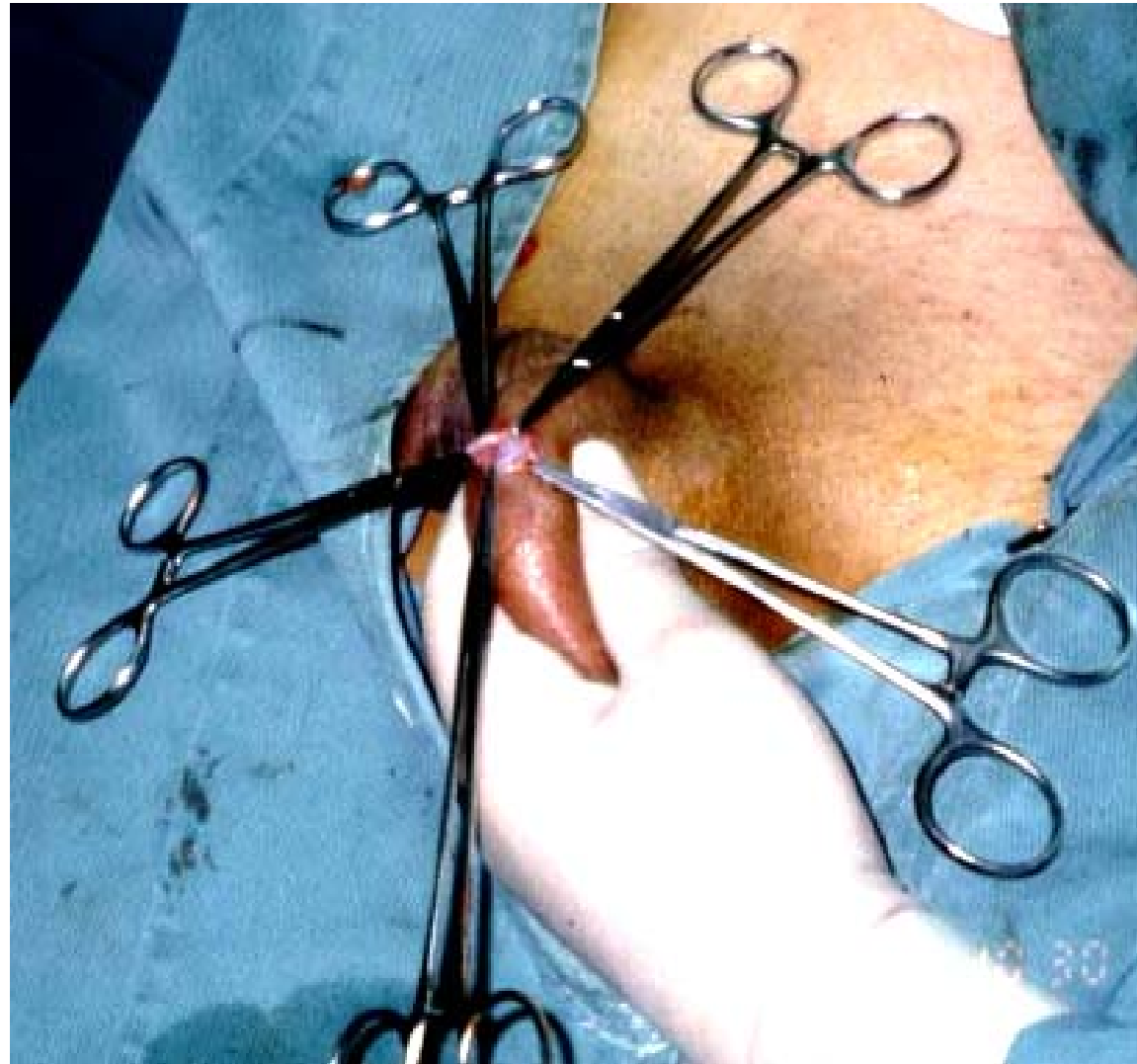
直視下



顕微鏡下

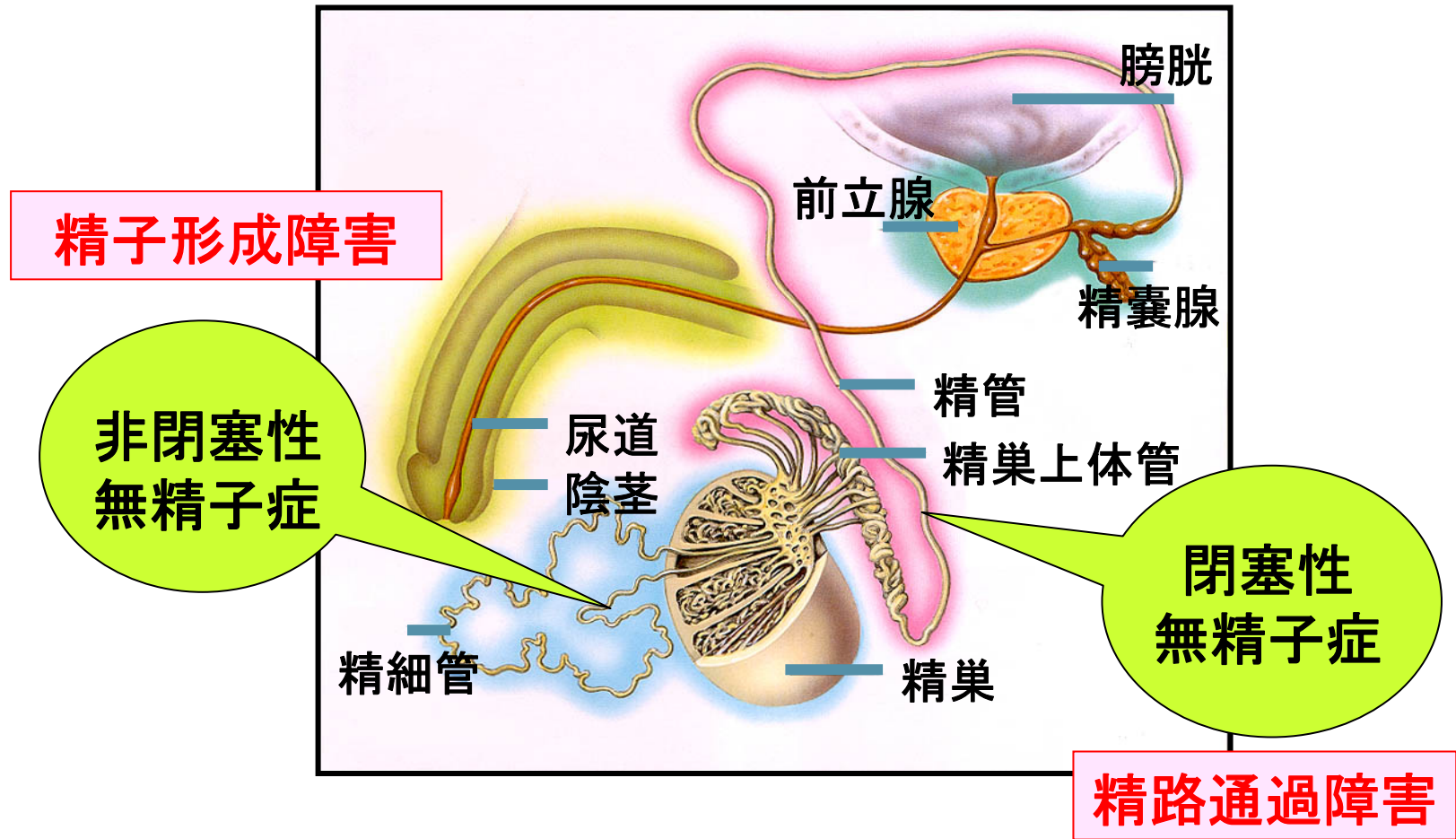
精巢内精子採取術

TESE: Testicular sperm extraction



無精子症治療の実際

精子が獲得されなければ顕微授精の適応もなし





生殖補助医療研究で ヒト精子を取り扱う研究 臨床研究

仮に非閉塞性無精子症であってもTESEで精子さえ採取可能であれば、ICSIで拳児を得る可能性あり

ICSIの成績を上げる研究は産婦人科が中心

泌尿器科的には

非閉塞性無精子症患者の精巣から効率よく精子を確保するための工夫、研究がなされている



精巣内精子採取術(TESE)の変遷

理想的なTESE

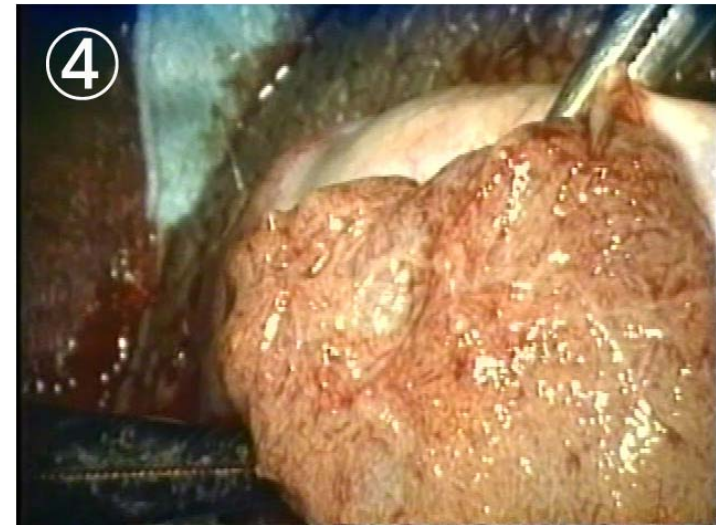
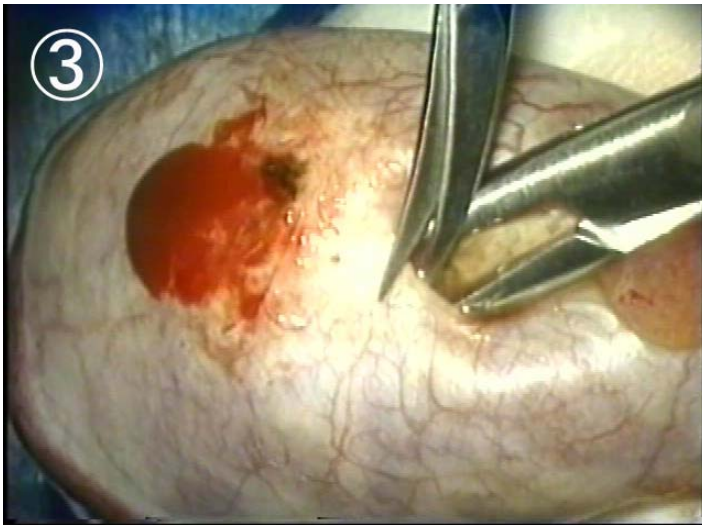
1. 精巣内に存在する精子を確実に採取できる
2. 手術による精巣障害を可及的に回避できる

顕微鏡下精巣内精子採取 (microdissection TESE)

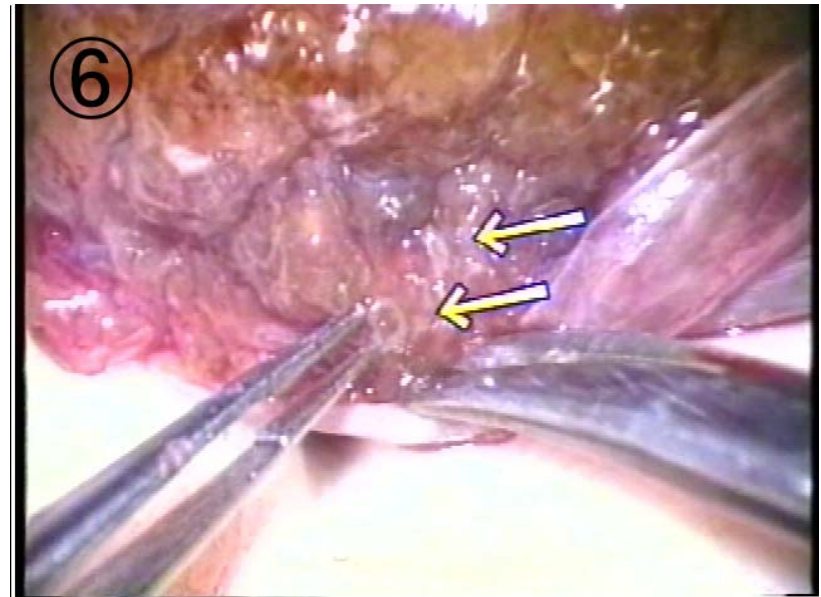
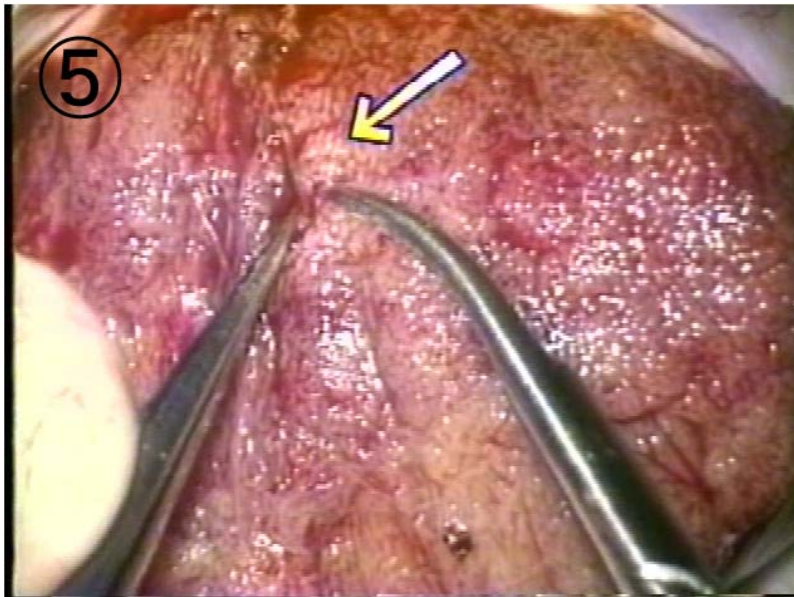
1. 手術用顕微鏡を用いて精子の存在する可能性が高い精細管のみ(太く、白濁、蛇行)を確実に採取
2. 精巣組織採取量が少なくてすむ
3. 精巣微小血管の損傷を回避できる

(Hum Reprod 14: 131-135, 1999)

Microdissection TESE 術式(1)



Microdissection TESE 術式(2)



(焦点距離175mm対面式手術用顕微鏡下)

Microdissection TESE vs Simple TESE

	multiple (手術時間: 68.2 ± 24.5分)				
	例 (%)	JS	採取可能	採取不可能	精子採取率 (%)
KFS	-	-	-	-	-
SCO	23 (62.2)	1.8 ± 0.4	3	20	13.0
MA	1 (2.7)	4.0	0	1	0.0
H	13 (35.1)	6.2 ± 0.6	10	3	76.9
計	37 (100.0)	3.4 ± 2.2	13	24	35.1

	microdissection (手術時間: 131.8 ± 40.2分)				
	例 (%)	JS	採取可能	採取不可能	精子採取率 (%)
KFS	29 (15.7)	1.4 ± 1.3	14	15	48.3
SCO	111 (60.1)	1.9 ± 0.3	33	78	29.7
MA	25 (29.4)	4.2 ± 1.5	18	7	72.0
H	20 (10.8)	6.7 ± 1.5	20	0	100.0
計	185 (100.0)	2.6 ± 1.9	85	100	45.9

(Tsujiura A. et al.: Hum. Reprod. 17: 2924-2929, 2002
J. Urol. 175: 1446-1449, 2006)



Microdissection TESEによる精子採取率

報告年	報告者	症例数	精子採取率(%)
1999	Schlegel PN	27	63
2002	Tsujimura A	56	42.9
2002	Okada H	74	44.6
2002	Amer M	100	47
2005	Ramasamy R	460	57
2006	Tsujimura A	185	45.9



生殖補助医療研究で ヒト精子を取り扱う研究

ヒト精子の各種パラメーターとIVF特にICSIとの関係

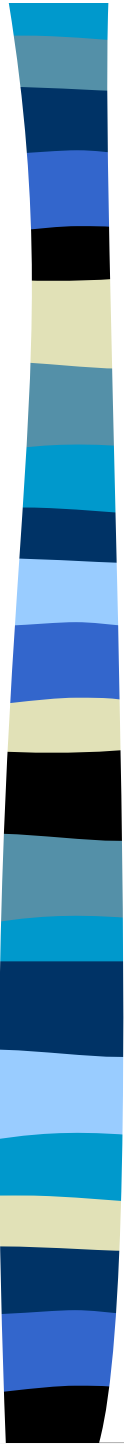
精子濃度

精子運動率

精子正常形態率(奇形率)

ヒト精子と卵子との結合能—受精能—
ハムスターテスト・アクロビーズテスト

後期精子細胞を用いた体外受精は？
円形精子細胞を用いた体外受精は？



大学や研究所において ヒト精子を取り扱う研究内容の傾向 基礎研究

Microdissection TESEを行っても精子を
採取できない患者に対する治療をどうするか

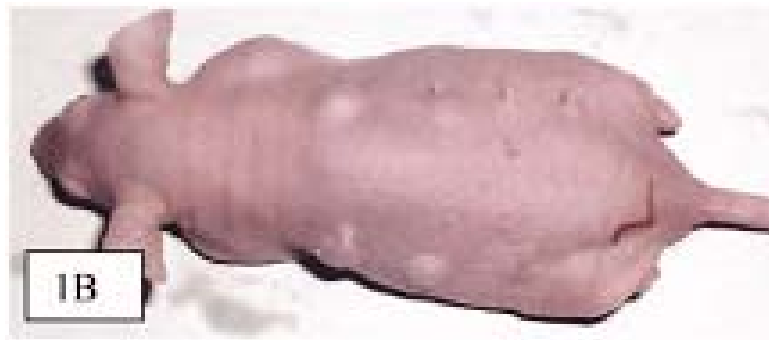
精原性幹細胞から精子までの分化誘導

1. 異種皮下移植
2. 精細管内移植
3. 体外培養

Allograft (異種皮下移植)

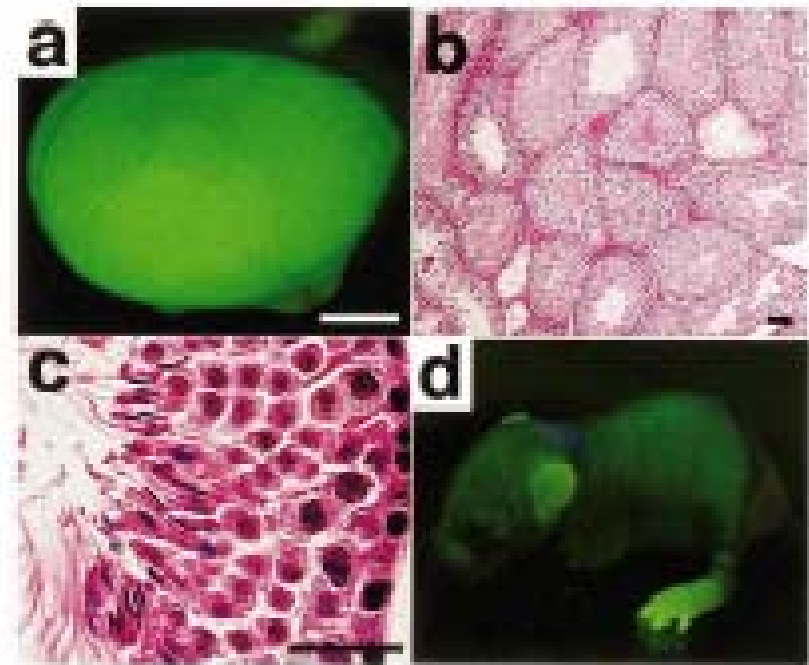
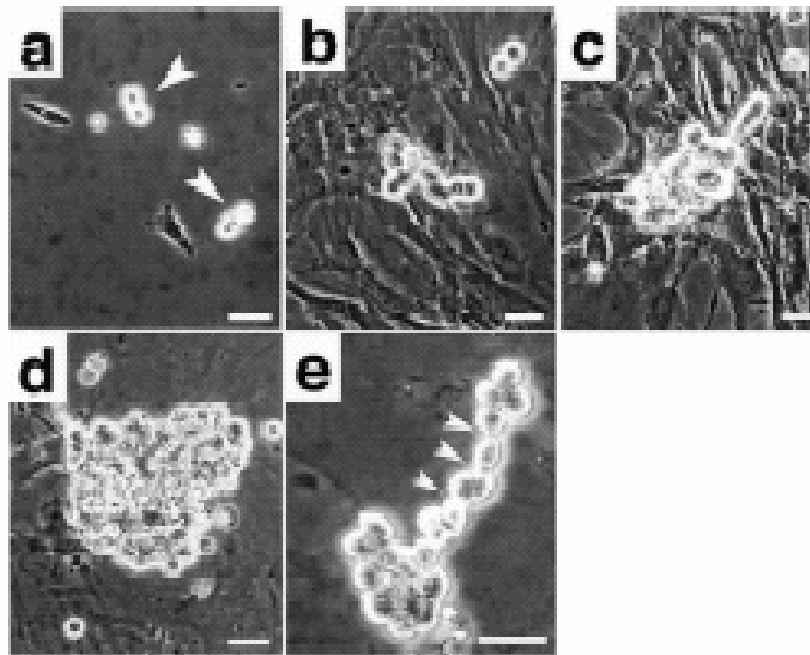
- マウス、ブタ、ヤギの新生児精巣組織をヌードマウスの皮下に移植し、精子形成

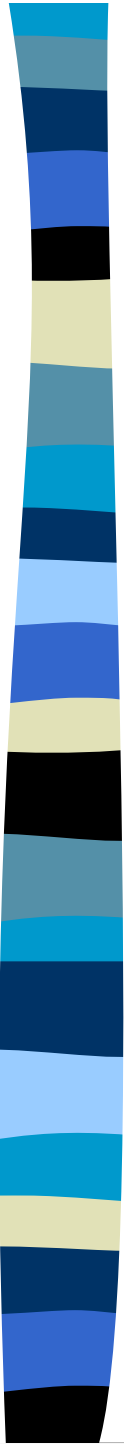
(Honaramooz et al., 2002, Nature Med)



Schlatt et al., 2003, BORより

Long-Term Proliferation in Culture and Germline Transmission of Mouse Male Germline Stem Cells (体外培養)





大学や研究所において ヒト精子を取り扱う研究内容の傾向 基礎研究

精子の研究はヒトでは射出精子を簡単に得ることができるため研究は容易であるが、精原性幹細胞からの分化誘導の実験についてはヒトの組織を用いた実験が困難である。ヒトでは3つの方法ともまだ成功したという報告はない。



研究に用いるヒト精子の入手方法

ボランティア（研究者およびその関係者）からのサンプル

外来受診患者の精液検査後サンプル

手術（精巣上体精子吸引術やTESE）で得られたサンプル
倫理面的問題を有する



動物実験との関係

原理原則

ヒトでの応用を視野に入れつつ、
新しいアイデアはまず動物実験で
検討されるべき



小児悪性腫瘍長期生存者の晩期障害

- 小児急性骨髄性白血病の長期生存者における晩期障害

- 成長障害 – 51%
- 神経学的異常 – 30%
- **不妊 – 25%**
- 内分泌学的異常 – 16%
- 白内障 – 12%

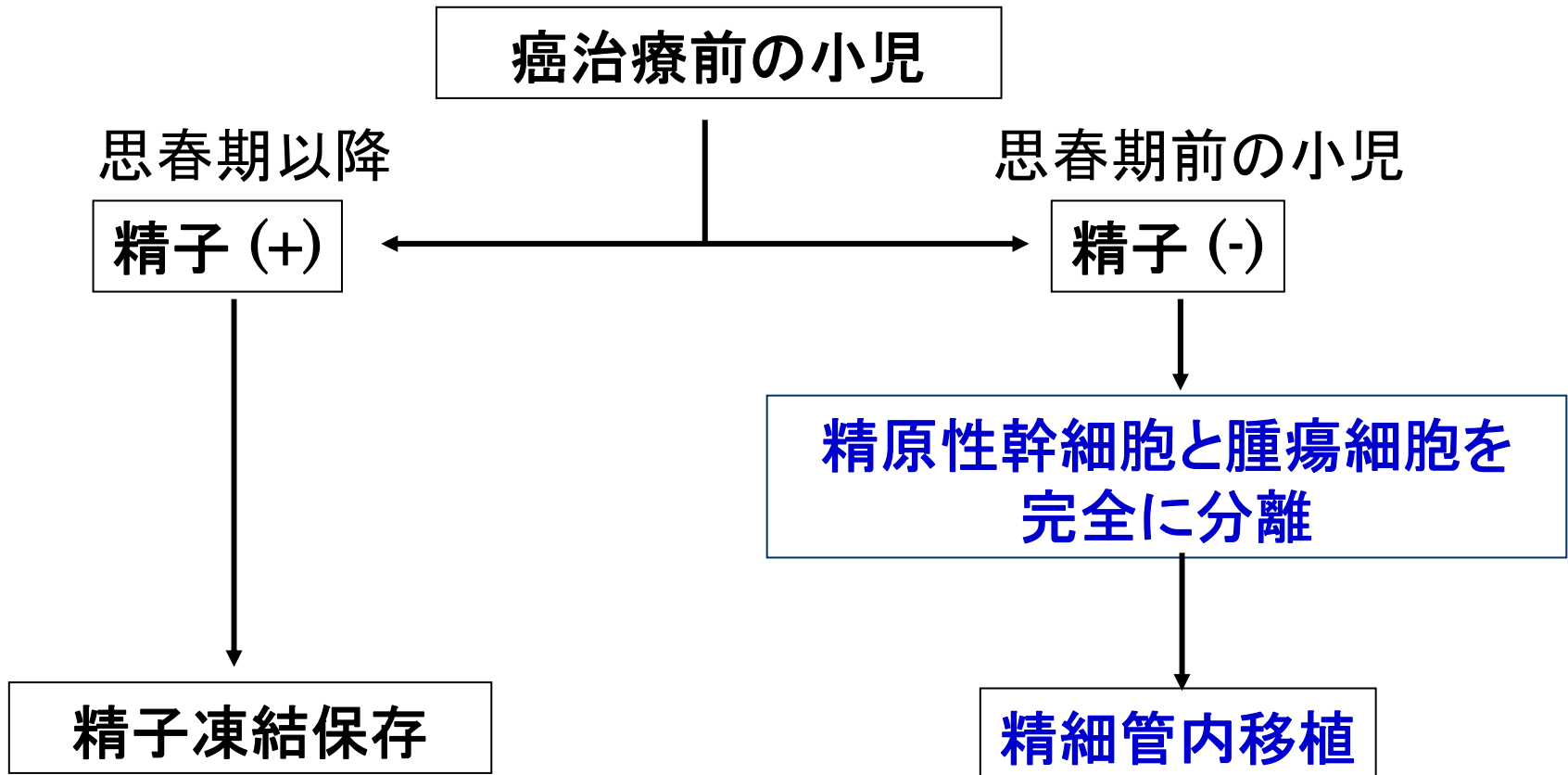
(Leung et al., 2000, J Clin Oncol)

- 小児悪性腫瘍長期生存者における精液調査

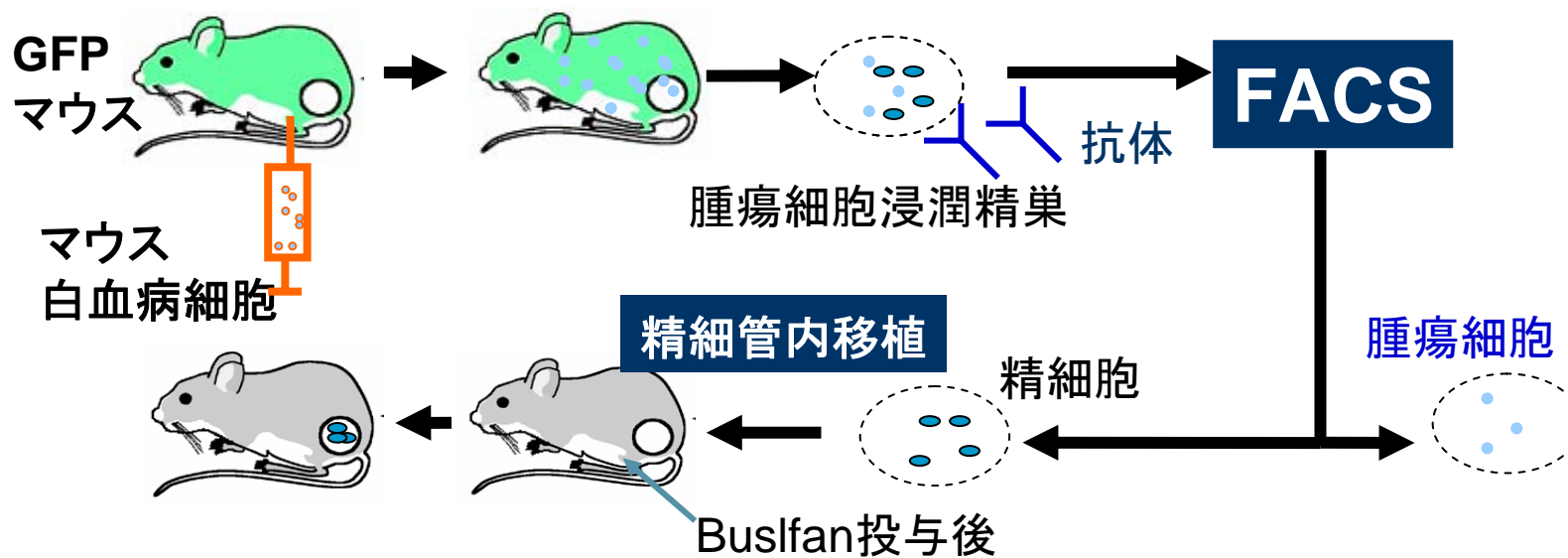
- **30%: 無精子症**
- 18%: 乏精子症

(Thomson et al., 2002, Lancet)

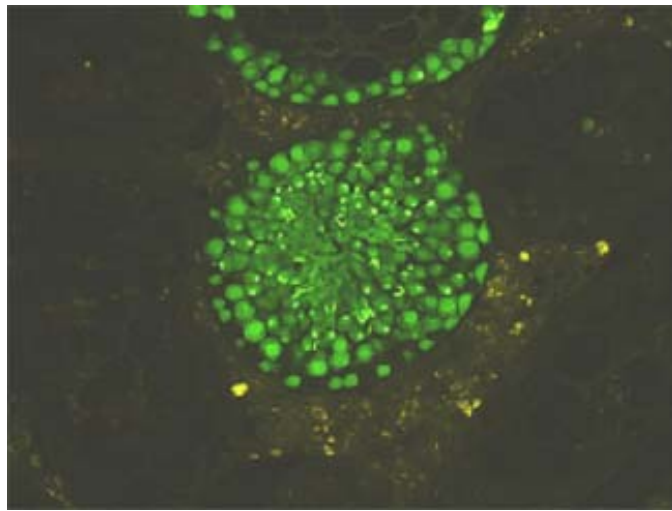
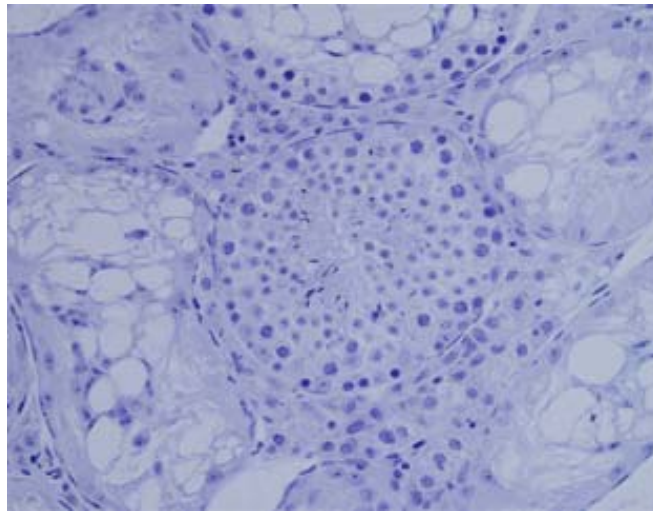
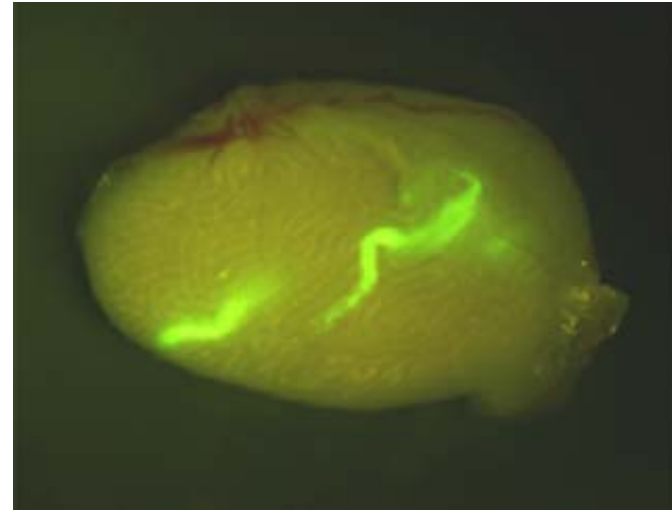
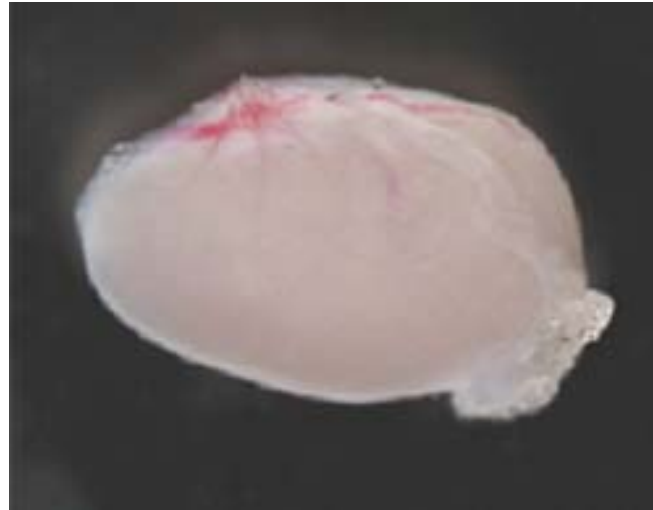
小児癌患者の妊孕性温存のための戦略



マウスモデル

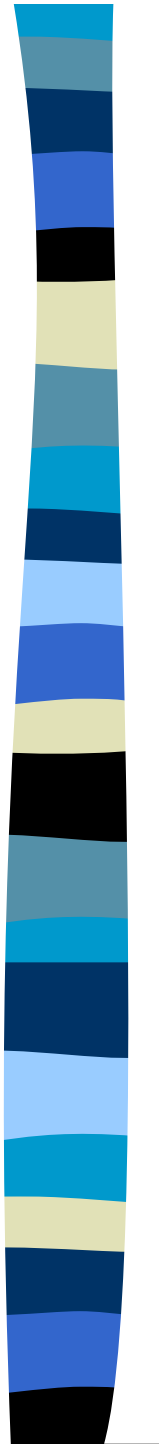


分離後の精細胞分画を移植した精巣



可視光

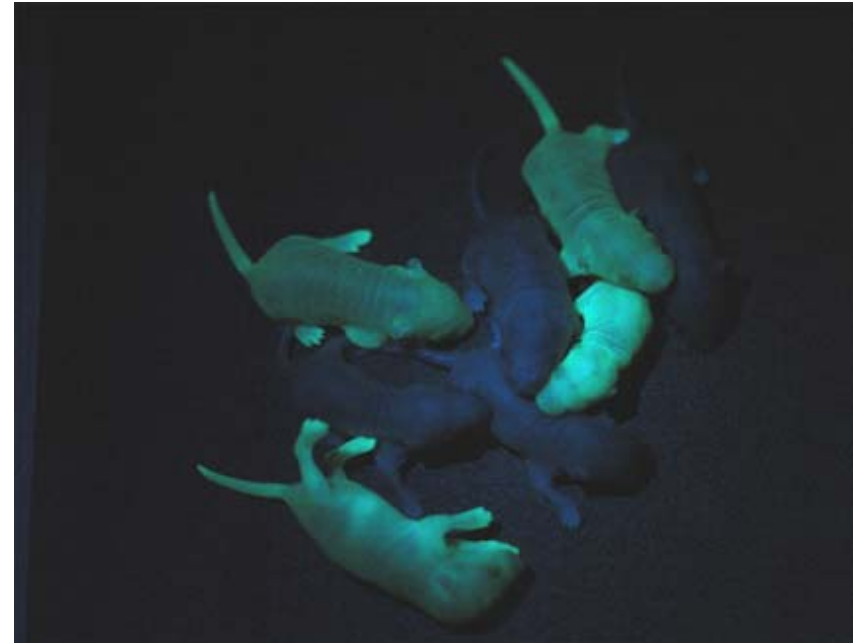
UV light



GFP(+)**成熟精子**を用いて**ICSI**



可視光

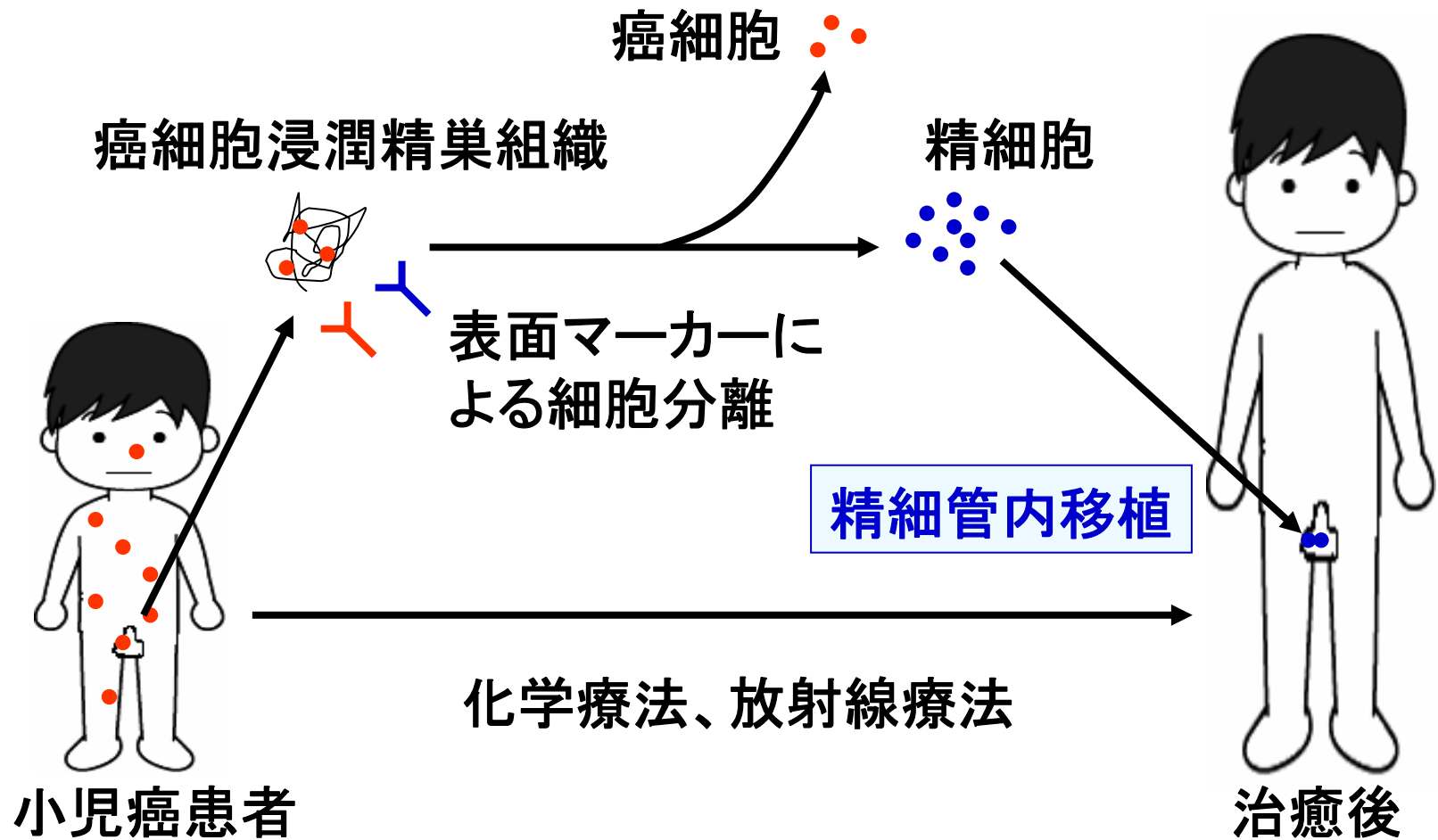


UV light

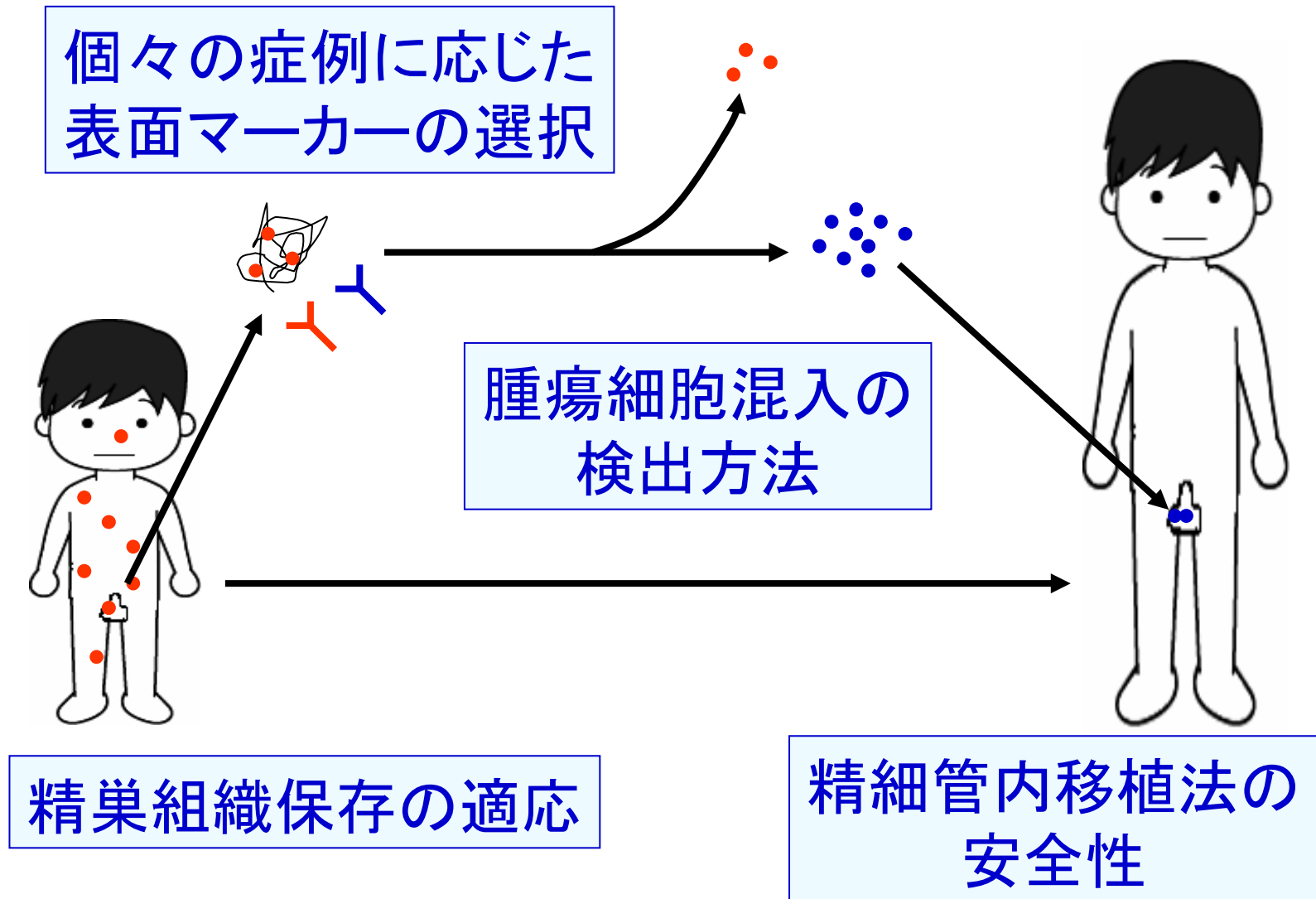
出産率: 28.6%

(K. Fujita, A. Tsujimura et al.: J. Clin. Invest. 115: 1855-1861, 2005)

精細管内移植法のヒトへの応用



臨床応用までの問題点





ヒト精子を取り扱う研究と ヒト卵子・ヒト胚を用いる研究の違い

ヒト精子

研究用に必要なものは、
用手的にmasturbationで
射出精子を確保する
・・・侵襲ほとんどない

ヒト卵子・胚

少なくとも採卵という操作が必要で侵襲的
研究用に必要なものは、
IVF用に採取した余剰卵子



生殖補助医療研究以外で ヒト精子を取り扱う研究

ヒト精子の遺伝的異常 —形態と遺伝情報—

奇形精子の染色体は正常？

奇形精子の遺伝情報は正常？

ヒト精子から得られたmRNA解析

精子から得られたゲノムDNAの解析

造精機能に関与する

遺伝子のSNP解析など



インフォームド・コンセント

一昔前は、
各施設で文書による同意を得ていた

現在では各施設の倫理委員会・
ヒトゲノム研究審査会等の承認を得る



遺伝子解析研究への協力の同意文書

私は遺伝子解析研究（男性不妊症の原因遺伝子の同定と遺伝子多型の解析）について、担当医師より説明文書を用いて説明を受け、その方法、危険性、分析結果のお知らせの方法等について十分理解しました。ついでには、次の条件で研究協力の同意致します。

説明を受け理解した項目（□の中にご自分で☑を付けて下さい。）

- 遺伝子の分析を行うこと。
- 研究協力の任意性と撤回の自由
- 研究目的
- 研究方法
- 研究計画書等の開示
- 試料提供者にもたらされる利益および不利益
- 個人情報の保護
- 遺伝子解析結果の開示
- 研究成果の公表
- 研究から生じる知的財産権の帰属
- 遺伝子解析研究終了後の試料等の取扱の方針
- 費用負担に関する事項
- 遺伝カウンセリングの体制



まとめ

ヒト精子を取り扱う研究の現状

- ・生殖補助医療研究でヒト精子を取り扱う研究
精巣内精子を確保するための研究
- ・大学や研究所において精子を取り扱う研究の傾向
精原性幹細胞から精子までの分化誘導
- ・研究に用いるヒト精子の入手方法
ボランティア精液・患者精液・手術で得たサンプル
- ・動物実験との関係
ヒトでの応用を視野に入れた実験が原則



まとめ

ヒト精子を取り扱う研究の現状

- ・ヒト精子を取り扱う研究と、ヒト卵子・ヒト胚を用いる研究の違いについて

masturbationによるので非侵襲的

- ・生殖補助医療研究以外でヒト精子を取り扱う研究
ヒト精子を用いた遺伝子(ゲノム)解析

ヒト精子を研究用に提供していただく際の
インフォームドコンセントのとりかた

各施設の倫理委員会・ヒトゲノム研究審査会