APP-165 無・高度乏精子症患者における AZF (azoospermia factor) c 領域のパリンドローム複合体の解析

金沢大学大学院 医学系研究科 泌尿器科学¹⁾ 木場公園クリニック²⁾

福島 正人¹⁾, 鈴木 ひろみ¹⁾, 本間 由紀子¹⁾, 福田 護¹⁾
前田 雄司¹⁾, 高 栄哲¹⁾, 並木 幹夫¹⁾, 吉田 淳²⁾

【目的】Y染色体長腕ゲノム上の AZFc 領域には P1、P2 および P3 と呼ばれるパリンドローム構造をもつ複合体が存在する(黒田ら、nature genetics 29: 279, 2001)。Y染色体は反復配列が多く、従来の sequence-tagged site (STS) プローブを用いた検出には限界があった。例えば、DAZ (deleted in azoospermia) プローブである sY254 は AZFc 領域 P1 に 2 つ、P2 に 2 つの計 4 コピーを持つ。我々は AZFc の欠失が複合体単位で起きているという仮定のもとに、無・高度乏精子症患者 282 例のゲノム DNA を解析し、欠失者ゲノムのパリンドローム複合体について検討した。【方法】細胞遺伝学的に異常のない患者ゲノム DNA を用いて、STS-PCR 法によって検証した。STS プローブは黒田らが発表した 16 種を用いた。AZFc 領域の sY627, sY254, sY1198, sY602, sY579 は夫々 4.4, 3.3, 2 コピーを持つことから、一部の症例についてそのコピー数を real-time PCR によって定量し、欠失部位を推測した。【結果】12 例の AZFc 領域の欠失と sY639 の単独欠失 4 例を認めた。P3 欠失は 2 例、P1+P2 (黒田らのいう b2 から b4) 欠失は 6 例、P1 のみと考えられるものは 2 例、その他 2 例を認めた。【考察】AZFc には 6 種の反復配列があり、これらの領域間の組換えによって欠失が生じると考えられている。パリンドローム複合体単位の欠失はこれを支持する可能性がある。

APP-166 ラット精巣に対するエリスロポエチン遺伝子導入による造精機能への影響～in vivo electroporation 法を用いて

神戸大学 大学院 腎泌尿器科

土橋 正樹, 藤澤 正人, 合田 上政, 岡田 弘, 守殿 貞夫

【目的】遺伝子導入においてその安全性、簡便性、導入効率の高さから electroporation 法 (EP 法) がよく用いられる。エリスロポエチン (EPO) は腎より産生される造血ホルモンで、精巣においては造精機能を高める作用があるとされている。ラット精巣に対し in vivo EP 法を用いて EPO 遺伝子を導入し、造精機能に対する影響を検討した。【方法】(1) 8 週齢ラットの右精巣間質内に pCAGGS-lacZ plasmid 遺伝子導入し、その導入を X-gal 染色にて確認する。(2) pCAGGS-EPO plasmid を導入した後、精巣導管を切断し腹腔内停留精巣モデルを作成する。1 週後 (Epo1 群)、2 週後 (Epo2 群) に精巣重量、Germ cell 数の Sertoli cell 数に対する比 (G/S 比) を測定する。control 群はそれぞれ C1 群、C2 群とした。【成績】(1) lacZ 遺伝子は間質、並びに基底膜に近い spermatogonium-like cell に導入を認めた。(2) 精巣重量は C1 群: 0.83 ± 0.03 g, Epo1 群: 0.85 ± 0.08 g と有意差なく、C2 群: 0.52 ± 0.02 g, Epo2 群: 0.62 ± 0.06 g と有意差を認めた。G/S 比は C1 群: 18.63 ± 5.30 , Epo1 群: 23.27 ± 6.80 と有意差を認めたが、C2 群: 6.05 ± 1.58 , Epo2 群: 7.16 ± 3.06 と有意差を認めなかった。【結論】in vivo EP 法を用いたラット精巣への EPO 遺伝子導入により、停留精巣から生じる造精機能障害が軽減化されることが示された。

APP-167 DNA damage in patients with untreated testicular cancer as measured by the sperm chromatin structure assay

Department of Urology, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan¹⁾, Saijin Clinic, Nishi-Kawaguchi, Saitama, Japan²⁾, Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, USA³⁾, South Dakota State University, South Dakota, USA⁴⁾

Hiroshi Kobayashi¹⁾, Hiroshi Toma¹⁾, Ryuichi Ara²⁾, Donald Evenson⁴⁾, Rakesh Sharma³⁾, Ashok Agarwal³⁾

Objectives: The integrity of sperm nuclear DNA is critical for the successful transmission of the paternal genome to the oocyte. Compared to normal, healthy controls, semen quality in testicular cancer patients is poor even before any treatment and it deteriorates further following treatment. This study sought to determine if patients diagnosed with testicular cancer have a higher incidence of DNA damage prior to start of their treatment. Materials and Methods: Cryopreserved semen samples from 12 healthy fertile men and 20 men diagnosed with testicular cancer were processed for extent of DNA damage by the sperm chromatin structure assay (SCSA). Results: Testicular cancer patients showed significantly higher spermatozoal DNA damage as compared with controls. Conclusions: DNA damage is prevalent in testicular cancer. SCSA provides important information about the biochemical integrity of sperm DNA in men with testicular cancer prior to their treatment. Our results may shed some light on the reasons for ART failure in patients with testicular cancer despite normal semen characteristics.

APP-168 精巣腫瘍に対する超大量化学療法後の妊娠能回復についての臨床的検討

神戸大学 大学院 医学系研究科 腎泌尿器学分野

石川 智基, 藤澤 正人, 原 勲, 合田 上政, 土橋 正樹
岡田 弘, 荒川 創一, 守殿 貞夫

【目的】近年、難治性精巣腫瘍に対して自己造血幹細胞移植を併用した超大量化学療法により治療成績の改善が認められているが、患者が生殖可能な若年であることが多く、治療後の妊娠性が QOL の観点から重要な問題としてなっている。今回、我々は超大量化学療法後の妊娠能の回復について臨床的検討を行ったので報告する。【方法】1994 年から 2001 年までに神戸大学泌尿器科にて超大量化学療法を行い、治療後 6 ヶ月以上経過し、精液検査を施行し得た 10 例に対し、治療時の年齢、cisplatin, carboplatin の投与量、精液所見、ホルモンレベル (FSH, LH, testosterone, prolactin, estradiol)、治療後の期間を検討した。【結果】5 例において精子濃度の改善が見られ、そのうち 2 例において自然妊娠が可能であった。また FSH のみにおいて無精子群と改善群では有意な差があった ($p=0.047$)。治療時の年齢、LH は無精子群において高くなる傾向がみられた。他の因子に有意差は認められなかった。cisplatin, carboplatin の投与量、超大量化学療法後の期間と妊娠能においても有意な関連性は認められなかった。【結論】化学療法による造精能障害は不可避であるが、不可逆性ではない。超大量化学療法後であっても妊娠能の回復は十分期待でき、長期的な観察が重要であると考えられた。