

学位論文の内容の要旨

専攻	医学	部門 (平成27年度以前入学者のみ記入)	
学籍番号	17D707	氏名	形見 祐人
論文題目	Genetic and histopathological analysis of spermatogenesis after short-term testicular torsion in rats		

(論文要旨)

【背景・目的】

精巣捻転症は思春期男児に好発し、精索の捻転により精巣の虚血・壊死を引き起こすため、可及的速やかに捻転解除術を行うことが治療の根幹である。手術中に精巣温存が不可能と判断されれば精巣摘出術 (orchietomy) が行われ、温存可能と判断されれば精巣固定術 (orchidopexy) が行われる。現在、精巣捻転症に対する術後治療については明確な指針が示されていないが、術後温存精巣における血液再灌流が精巣障害を引き起こす可能性が指摘されている。精巣捻転症の術後患者において精巣の萎縮や、精子形成低下を報告した研究がみられるとともに、種々の抗酸化物質の精巣虚血再灌流障害に対する治療効果が動物レベルで広く研究されてきた。しかしながら、捻転解除術後の精巣虚血再灌流障害が精子形成低下を引き起こすメカニズムについては十分に解明されていない。

本研究では、精巣捻転症モデル動物を作製し、虚血再灌流障害が精子形成に与える影響について遺伝子発現変動および病理組織学的所見の観点から検証した。

【方法】

8週齢のSprague-Dawleyラットを以下の3群に分類した: group 1 (sham手術群); group 2 (精巣捻転群); group 3 (精巣捻転および再灌流群)。group 2、3では左精巣を720°、1時間捻転させて虚血を負荷した。group 3では精巣捻転を解除したのち24時間の再灌流を行った。患側精巣を摘出し、病理組織学的検査、酸化ストレスマーカー測定、遺伝子発現解析 (RNAシーケンシング、RT-PCR) を行った。

【結果】

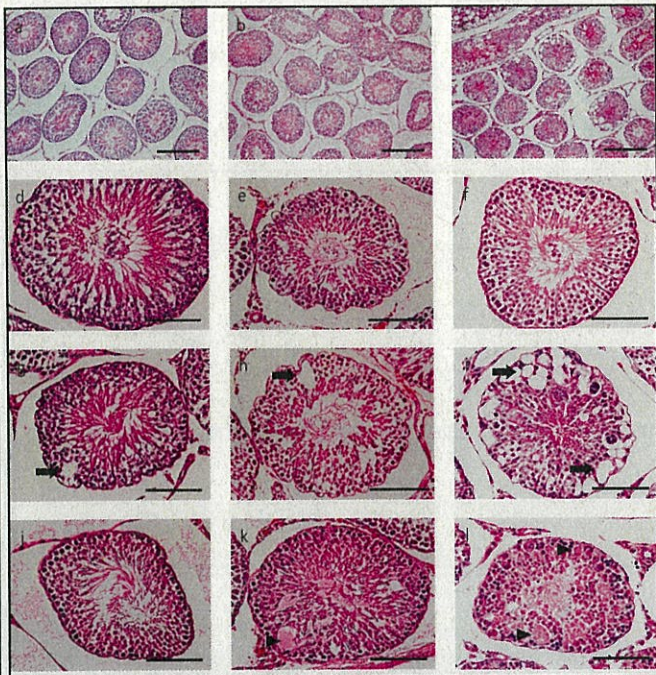
虚血再灌流障害により、精巣の病理組織学的な変化が観察された (図1)。group 3において、精細管の管腔への精細胞脱落 (sloughing: 図1f)、精細管内の空胞病変 (vacuolation: 図1i)、精細胞の壊死 (necrosis: 図1l) が他の2群と比較して有意に増強し、一方で精子形成の評価指標であるJohnsen scoreが有意に低下した。また、TUNEL染色によりgroup 3において著明なアポトーシスが検出された (図2)。これらの病理組織学的変化は、group 1とgroup 2の間では有意差をみとめなかった。

精巣組織の遺伝子発現解析の結果、group 3ではアポトーシス関連遺伝子および抗酸化酵素関連遺伝子の発現増加がみられ、一方で精子形成関連遺伝子の発現低下がみられた (図3)。特に精子形成関連遺伝子については、減数分裂、鞭毛形成、先体形成、卵子透明帯との結合に関与する遺伝子の発現低下が生じた。

【結論】

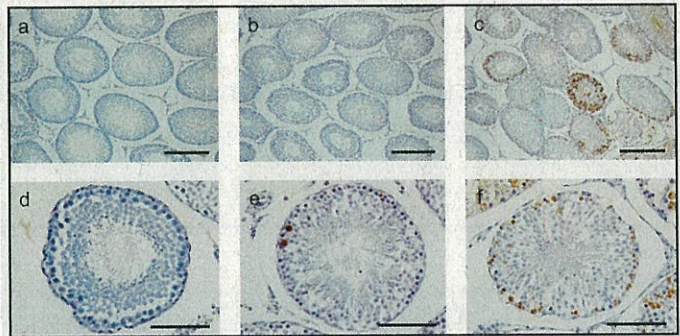
1時間の精巣捻転後の再灌流障害により、精巣の組織障害および精子形成関連遺伝子の発現低下が誘発された。本研究における虚血設定は、有意な病理組織学的変化を引き起こさない程度の短時間の捻転であったにもかかわらず、再灌流から24時間後の時点で精子形成の複数のフェーズに関連する遺伝子の発現低下が示された。

<図1: HE染色> a, d, g, j: sham手術群; b, e, h, k: 精巣捻転群; c, f, i, l: 虚血再灌流群

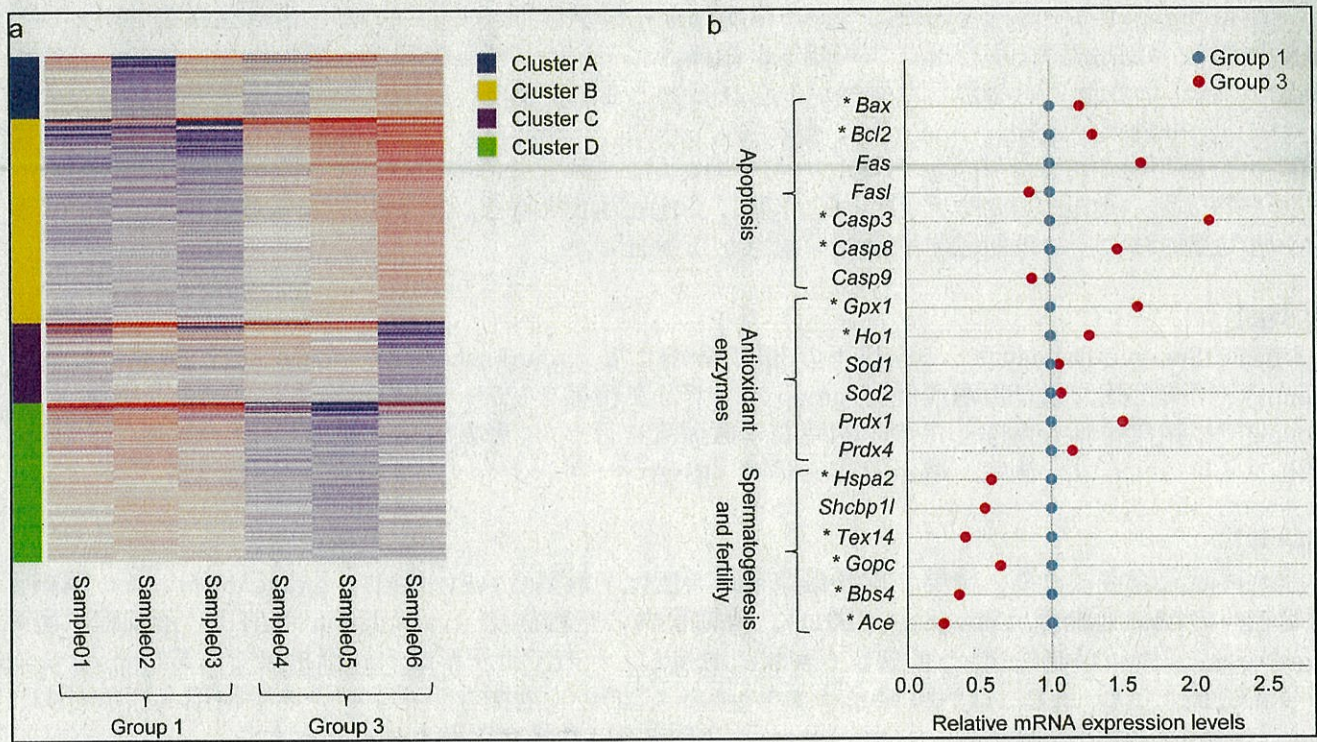


<図2: TUNEL染色>

a, d: sham手術群; b, e: 精巣捻転群;
c, f: 虚血再灌流群



<図3: 遺伝子発現解析> a: クラスタ分析による Heatmap, b: RT-PCR



掲載誌名	Pediatric Research		
(公表予定) 掲載年月	2023年5月	出版社(等)名	Springer Nature
Peer Review	有		

(備考) 論文要旨は、日本語で1,500字以内にまとめてください。