

---

ヒト無精子症原因遺伝子の同定、蛋白機能解析および  
精子形成過程のメカニズムの解析に関する研究

---

16390471

平成 16 年度～平成 18 年度科学研究費補助金

(基盤研究 (B) )研究成果報告書

平成 19 年 3 月

研究代表者 石川 睦男

(旭川医科大学医学部副学長)

<はしがき>

現在、日本の最も深刻な社会問題のひとつとして間違いなく少子化問題が存在する。しかしながら、その背景として不妊症患者が近年増加傾向にあることは一般にはあまり認識されていない。不妊症カップルの増加の背景として、女性の社会進出に伴う結婚年齢の高齢化等の社会的な要因が存在するのは事実であるが、不妊症の原因としての男性因子は極めて重要な因子である。今日までの男性不妊症に対する治療法のめまぐるしい進歩、具体的には体外受精、顕微授精さらには無精子症患者の精巣から外科的手術により、精子を顕微鏡下に抽出し顕微授精を行ういわゆる TESE-ICSI 法等により、男性不妊に対する治療成果は着実に進歩しているものの、無精子症のなかでも特に精巣内にすら成熟精子を全く有してない、いわゆる非閉塞性無精子症患者は現在でも有効な治療法が存在せず、今日の不妊治療の大きな壁となっている。その多くの患者が遺伝学的な素因を示唆されているものの、その原因のほとんどは今なお謎のままである。本研究により、新たなヒト無精子症原因遺伝子を同定し、その研究成果を新たな診断法、治療法の確立へ臨床応用することは、学問的にも臨床医学的にも大変意義のあることである。

#### 研究組織

研究代表者：石川 睦男 (旭川医科大学医学部副学長)

研究分担者：千石 一雄 (旭川医科大学医学部教授)

研究分担者：宮本 敏伸 (旭川医科大学医学部助手)

#### 交付決定額 (配分額)

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 16 年度	7,700,000	0	7,700,000
平成 17 年度	3,700,000	0	3,700,000
平成 18 年度	2,700,000	0	2,700,000
総 計	14,100,000	0	14,100,000

(1) 論文掲載

Miyamoto T, Sengoku K, Hayashi H, Sasaki Y, Takuma N, Yamashita T, Ishikawa M  
Isolation and Expression Analysis of the Testis-Specific Gene, Human OPPO1. J Assist Reprod Genet 21 (4) 129-134. 2004.

Pan B, Kato Y, Sengoku K, Takuma N, Niizeki N, Ishikawa M.  
Treatment of Climacteric Symptoms with Herbal Formulas of Traditional Chinese Medicine. Gynecol Obstet Invest 57: 144-148.

Pan B, Sengoku K, Takuma N, Goishi K, Horikawa M, Tamate K, Ishikawa M.  
Different expression of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in the rat ovary. Mol Cell Endocrinol 214: 1-8. 2004.

Sengoku K, Takuma N, Miyamoto T, Horikawa M, Ishikawa M.  
Integrins are not involved in the process of human sperm-oolemmal fusion. Human Reprod 19(3): 639-944.2004.

Sasaki Y, Miyamoto T, Sengoku K, Hayashi H, Takuma N, Ishikawa M.  
The human transcript induced in spermatogenesis 50. Reprod Med Biol 3: 237-243.2004.

Sengoku K, Takuma N, Miyamoto T, Yamauchi T, Ishikawa M.  
Nuclear dynamics of parthenogenesis of human oocytes: effect of oocyte aging in vitro. Gynecol Obstet Invest. 58(3): 155-9. 2004.

Katayama H, Yamashita T, Sengoku K, Ishikawa M.  
BOMP (BLM, VCR, MMC, and CDDP) therapy for advanced cervical cancer. Nippon Rinsho 62: Suppl10: 187-91. 2004.

Zhao Y, Yamashita T, Ishikawa M  
Regulation of tumor invasion by HOXB13 gene overexpressed in human endometrial cancer. Oncol Rep 13(4): 721-6. 2005.

Miyamoto T, Sengoku K, Hayashi H, Sasaki Y, Jinno Y, Ishikawa M.  
GATM, The human ortholog of the mouse imprinting Gatm gene, escapes genomic imprinting in

placenta. *Genet Mol Biol* 28 (1): 44-45. 2005.

Miyamoto T, Sato H, Yogeve L, Kleiman S, Namiki M, Koh E, Sakugawa N, Hayashi H, Ishikawa M, Lamb DJ, Sengoku K.

Is a genetic defect in Fkbp6 a common cause of azoospermia in human? *Cell Mol Biol Lett* 11(4): 557-569. 2006.

Sato H, Miyamoto T, Yogeve L, Namiki M, Koh E, Hayashi H, Sasaki Y, Ishikawa M, Lamb DJ, Matsumoto N, Birk OS, Niikawa N, Sengoku K.

Polymorphic alleles of the human MEI1 gene are associated with human azoospermia by meiotic arrest. *J Hum Genet.* 51: 533-540.2006.

Sasaki Y, Miyamoto T, Hidaka Y, Satoh H, Takuma N, Sengoku K, Sugimori H, Inaoka T, Aburano T.

Three-dimensional magnetic resonance imaging after ultrasonography for assessment of fetal gastroschisis. *Magn Reson Imaging.* 24(2):201-3. 2006.

Yamashita T, Tazawa S, Yawei Z, Katayama H, Nishiwaki K, Yokohama Y, Ishikawa M.

Suppression of invasive characteristics by antisense introduction of overexpressed HOX genes in ovarian cancer cells. *Int J Oncol.* 28(4):931-8. 2006.

## (2) 学会発表

河井紀一郎、菊池良子、金井麻子、渡邊まり子、荻野元子、片山英人、石谷敬之、山下 剛、石川睦男

[子宮頸癌細胞におけるホメオボックス遺伝子 HOX の異常発現]

第 56 回日本産科婦人科学会学術講演会

山下 剛、石谷敬之、片山英人、荻野元子、河井紀一郎、渡邊まり子、金井麻子、菊池良子、石川睦男、藤井哲哉、林 博章

[初期浸潤子宮頸癌に対する内視鏡手術を応用した治療法選択への試み]

第 56 回日本産科婦人科学会学術講演会

片山英人、山下 剛、石谷敬之、金井麻子、菊池良子、渡邊まり子、河井紀一郎、荻野元子、石川睦男

[婦人科悪性腫瘍症例に対する Weekly TJ 療法ならびに Weekly Taxol 療法の意義]

第 56 回日本産科婦人科学会学術講演会

小島貴志、小島奈緒美、千石一雄、石川睦男

[産婦人科領域における化学物質過敏症の診療]

第 56 回日本産科婦人科学会学術講演会

千石一雄、横浜祐子、山内智文、堀川道晴、宮本敏伸、田熊直之、石川睦男

[ヒト卵細胞膜と精子の結合・融合過程におけるインテグリンの関与]

第 56 回日本産科婦人科学会学術講演会

堀川道晴、横浜祐子、山内智文、千石一雄、石川睦男

[生殖細胞特異的遺伝子 GC-LRR(Germ Cell Leucine-Rich Repeat)の発現解析]

第 56 回日本産科婦人科学会学術講演会

宮本敏伸、千石一雄、田熊直之、石川睦男

[マウス下垂体発生に関する遺伝子 Spot2 の単離およびその機能解析]

第 56 回日本産科婦人科学会学術講演会

横浜祐子、山内智文、堀川道晴、千石一雄、石川睦男

[凍結融解胚移植周期における 2 種類の経皮吸収エストロゲン製剤の比較検討]

第 56 回日本産科婦人科学会学術講演会

荻野元子、山下 剛、石川睦男

[婦人科癌化学療法患者に対する専門担当医による面接・介入について ]

第 17 回日本サイコオンコロジー学会

山下 剛、河井 紀一郎、片山 英人、石谷 敬之、石川 睦男

[子宮頸癌における腹腔鏡下センチネルリンパ節ナビゲーション法を用いたリンパ節転移診断の試み]

第 36 回日本婦人科腫瘍学会

宮本 敏伸

「ART に必要な andrology の知識 1」

[新たなヒト無精子症原因遺伝子であるヒト SYCP3 の同定及びその機能解析 ]

日本アンドロロジー学会第 23 回学術大会 シンポジウム

山下 剛、石谷敬之、片山英人、渡辺まり子、石川睦男

[初期子宮頸癌における腹腔鏡を用いた診断治療法の試み]

第 44 回日本産婦人科内視鏡学会

石谷敬之、山下 剛、石川睦男

[腹腔鏡下手術が施行された子宮体癌の予後]

第 44 回日本産婦人科内視鏡学会

佐々木禎仁、日高康弘、小島貴志、田熊直之、千石一雄

[胎児腹壁破裂の出生前診断において胎児 MRI が有効であった 1 症例]

第 27 回日本産科婦人科 ME 学会

千石一雄

シンポジウム[ゴナドトロピン療法の実際と問題点]

第46回日本不妊学会，第22回日本受精着床学会

千石一雄

シンポジウム[酢酸セトロレリクスの国内臨床試験成績]

第46回日本不妊学会，第22回日本受精着床学会

宮本敏伸

シンポジウム[新たなヒト無精子症原因遺伝子であるヒトSYCP3の同定及びその機能解析]

第46回日本不妊学会，第22回日本受精着床学会

菊池良子、金井麻子、佐々木禎仁、日高康弘、小島貴志、吉田俊明、田熊直之、千石一雄

[マイコプラズマによる産褥感染症の一例]

第52回北日本産科婦人科学会、第82回北海道産科婦人科学会

佐久川直子、渡邊まり子、河井紀一郎、荻野元子、長坂 武、片山英人、石谷敬之、山下 剛、

千石一雄

[卵巣癌症例に対する Weekly TJ療法ならびに Weekly Taxol療法の意義]

第52回北日本産科婦人科学会、第82回北海道産科婦人科学会

内田亜紀子、横浜祐子、佐藤 恒、宮本敏伸、堀川道晴、千石一雄、石川睦男

[不妊症治療における妊娠例の検討 -排卵誘発療法を中心に-

第52回北日本産科婦人科学会、第82回北海道産科婦人科学会

佐々木禎仁、内田亜紀子、横浜祐子、佐藤 恒、宮本敏伸、堀川道晴、千石一雄

[ヒト精子特異的遺伝子である TISP50, TISP15, TISP43 についての解析]

第52回北日本産科婦人科学会、第82回北海道産科婦人科学会

金井麻子、菊池良子、佐々木禎仁、日高康弘、小島貴志、吉田俊明、田熊直之、千石一雄

[胎児水腫を伴った重症胎児乳び胸に対する胎児治療]

第52回北日本産科婦人科学会、第82回北海道産科婦人科学会

渡邊まり子、佐久川直子、河井紀一郎、荻野元子、長坂 武、片山英人、石谷敬之、山下 剛、

千石一雄

[子宮体癌に対する腹腔鏡下手術の予後に関する検討]

第52回北日本産科婦人科学会、第82回北海道産科婦人科学会

河井紀一郎、山下 剛、趙 亜薇、片山英人、石谷敬之、石川睦男

[子宮頸癌細胞における HOX 遺伝子の異常発現と浸潤能の解析]

第63回日本癌学会

片山英人、山下 剛、石谷敬之、河井紀一郎、長坂 武、荻野元子、渡邊まり子、佐久川直子、石川睦男

[TJ 療法施行卵巣癌症例における CA125 値評価による効果および予後予測の可能性について]

第63回日本癌学会

趙 亜薇、山下 剛、河井紀一郎、片山英人、石谷敬之、石川睦男

[子宮体癌における HOXB13 過剰発現による浸潤抑制に対するエストロゲンの影響]

第63回日本癌学会

佐々木禎仁、宮本 敏伸、田熊 直之、千石 一雄、石川 睦男

[ヒト精巣特異的遺伝子である TISP50, TISP15, TISP43 についての解析]

第13回産婦人科分子内分泌懇話会

佐々木禎仁、日高 康弘、吉田 俊明、田熊 直之、千石 一雄

[胎児消化管異常の出生前診断において胎児3D-MRI が有用であった2症例]

第2回日本胎児治療研究会

千石 一雄

ランチョンセミナー「GnRH antagonist の ART への応用」

第9回日本生殖内分泌学会

堀川道晴、横浜祐子、佐藤 恒、宮本敏伸、千石一雄、石川睦男

シンポジウム2『子宮内膜症と不妊』

第26回エンドメトリオーシス研究会

長坂 武、渡辺まり子、荻野元子、河井紀一郎、片山英人、石谷敬之、山下 剛、千石一雄、石川睦男

[当科における卵巣ムチン性腺癌について]

北海道婦人科癌化学療法談話会 第43回例会

佐々木禎仁、宮本敏伸、日高康弘、田熊直之、千石一雄

[孤立性心筋緻密化障害の胎児心エコーと1家系における遺伝子解析について]

第11回日本胎児心臓病研究会学術集会

宮本敏伸

[GATM, the human ortholog of the mouse imprinted Gatm gene, escapes genomic imprinting in placenta ]

第57回日本産科婦人科学会学術講演会

千石一雄

[ヒト受精機構における tetraspanin ファミリーの役割]

第57回日本産科婦人科学会学術講演会

日高 康弘、金井 麻子、内田 亜紀子、佐々木 禎仁、吉田 俊明、田熊 直之、千石 一雄

[マイコプラズマによる産褥感染症の一例]

日本産婦人科感染症研究会学術講演会

荻野 元子、山下 剛、千石 一雄

[主治医が行うがん患者の心のケアに対する意識調査]

日本緩和医療学会・サイコオンコロジー学会合同大会 (横浜)

渡邊 まり子、山下 剛、石谷 敬之、片山 英人、長坂 武、荻野 元子、横浜 祐子、

千石 一雄

[腹膜原発腺癌に関する検討]

北海道婦人科癌化学療法談話会 第44回例会

佐々木 禎仁、金井 麻子、板橋 詠子、北 香、日高 康弘、田熊 直之、千石 一雄

[胎児消化管異常の出生前診断において胎児 3D-MRI が有用であった5症例]

第41回日本周産期・新生児学会学術集会

山下 剛、石谷 敬之、片山 英人、荻野 元子、渡邊 まり子、千石 一雄

[当科における腹腔鏡下広汎子宮全摘術の現況]

第45回日本産婦人科内視鏡学会

片山 英人、渡邊 まり子、荻野 元子、石谷 敬之、山下 剛、千石 一雄

[当施設における内視鏡下子宮全摘術(LAVH, LH, TLH)の後方視的検討]

第45回日本産婦人科内視鏡学会

千石 一雄

特別講演 [当科における不妊治療の考え方]

道東地区産婦人科医会学術講演会

佐藤 恒、堀川 道晴、宮本 敏伸、横浜 祐子、佐久川 直子、Zou Yi Jie、石川 麻希子、

千石 一雄

[Non-contact infrared laser を用いた Assisted hatching の有用性に関する検討]

第23回日本受精着床学会総会、学術講演会

堀川 道晴、佐久川 直子、佐藤 恒、宮本 敏伸、千石 一雄

[経膈超音波下子宮内腔長計測による胚移植部位決定の有用性]

第23回日本受精着床学会総会、学術講演会

片山英人、石谷敬之、山下 剛、千石一雄

[子宮頸癌における Sentinel node の評価について]

第64回日本癌学会

金井麻子、板橋詠子、北 香、佐々木禎仁、日高康弘、田熊直之、千石一雄

[緊急頸管縫縮術症例の考察]

第3回北海道周産期談話会

長坂 武、片山英人、横浜祐子、渡邊まり子、荻野元子、石谷敬之、山下 剛、千石一雄

[子宮頸癌に対する concurrent chemotherapy の検討]

第53回北日本産科婦人科学会

堀川道晴、佐久川直子、佐藤 恒、宮本敏伸、千石一雄

[経膈超音波下子宮内腔長計測による胚移植部位決定の有用性]

第53回北日本産科婦人科学会

渡邊まり子、山下 剛、石谷敬之、片山英人、長坂 武、荻野元子、横浜祐子、千石一雄

[原発性膣癌にセンチネルリンパ節の同定後腹腔鏡下リンパ節郭清を施行した一例]

第53回北日本産科婦人科学会

北 香、板橋詠子、金井麻子、佐々木禎仁、日高康弘、田熊直之、千石一雄

[妊娠中に多量の胎児腹水を認めた総排泄腔・真性半陰陽の一例]

第53回北日本産科婦人科学会

金井麻子、板橋詠子、北 香、佐々木禎仁、日高康弘、田熊直之、千石一雄

[羊水由来培養細胞を用いて遺伝子診断し得た Simpson-Golabii-Behmel Syndrome の一例]

第53回北日本産科婦人科学会

横浜祐子、渡邊まり子、荻野元子、長坂 武、片山英人、石谷敬之、山下 剛、千石一雄

[末期がん患者の消化管閉塞に対し octreotide の投与を行った3症例]

第53回北日本産科婦人科学会

佐々木 禎仁、田熊 直之、千石 一雄

[ The Expression Analysis of Human Transcript Induced in Spermatogenesis (TISP) 50, TISP 15 and TISP 43 ]

第19回アジアオセアニア産婦人科学会

田熊 直之、日高 康弘、佐々木 禎仁、千石 一雄

[ A Case Of The Prenatal Genetic Diagnosis From Amniotic Fluid ]

第19回アジアオセアニア産婦人科学会

渡邊 まり子、山下 剛、石谷 敬之、片山 英人、長坂 武、荻野 元子、横浜 祐子、千石 一雄

[当科における全腹腔鏡下子宮全摘術(TLH)の工夫]

北海道医学大会産婦人科分科会

横浜 祐子、渡邊 まり子、荻野 元子、長坂 武、片山 英人、石谷 敬之、山下 剛、千石 一雄

[皮膚筋炎患者の悪性腫瘍精査で卵管癌が発見された1症例]

北海道医学大会産婦人科分科会

荻野 元子、片山 英人、山下 剛、千石 一雄

[適応障害を認める婦人科癌化学療法患者に対する抗うつ薬(SSRI)の使用経験]

北海道医学大会産婦人科分科会

宮本 敏伸

[ヒト無精子症原因候補遺伝子であるヒト FKBP6 遺伝子の解析]

第50回日本不妊学会総会・学術講演会

西脇 邦彦、横浜 祐子、渡邊 まり子、荻野 元子、長坂 武、加藤 育民、片山 英人、山下 剛、  
千石 一雄

[当科で経験した卵管癌の3症例]

第45回北海道婦人科癌談話会

荻野 元子、山下 剛、横浜 祐子、渡邊 まり子、長坂 武、加藤 育民、片山 英人、  
西脇 邦彦、千石 一雄

[婦人科癌化学療法患者に対する主治医による心理的サポートの実践]

第45回北海道婦人科癌談話会

佐久川直子、佐藤 恒、宮本 敏伸、堀川 道晴、千石 一雄

[男性不妊症に対する精巣内精子採取一卵細胞質内精子注入法 (TESE-ICSI) についての検討]

第48回日本不妊学会北海道地方部会総会、学術講演会

宮本 敏伸、佐久川 直子、佐藤 恒、堀川道晴、千石 一雄

[ヒト無精子症原因候補遺伝子であるヒト FKBP6 遺伝子の解析]

第57回日本産科婦人科学会学術講演会

片山 英人、渡邊 まり子、荻野 元子、加藤 育民、西脇 邦彦、山下 剛、千石 一雄

[子宮頸癌 Sentinel node における微小転移検索について]

第57回日本産科婦人科学会学術講演会

横浜 祐子、渡邊 まり子、荻野 元子、加藤 育民、片山 英人、西脇 邦彦、山下 剛、  
千石 一雄

[子宮体癌におけるホメオボックス遺伝子 HOX の過剰発現と浸潤転移能の解析]

第57回日本産科婦人科学会学術講演会

佐藤 恒、佐久川 直子、宮本 敏伸、堀川道晴、千石 一雄

[ヒト無精子症の原因遺伝子であるヒト MEI1 の同定および無精子症例における解析]

第57回日本産科婦人科学会学術講演会

佐久川 直子、佐藤 恒、宮本 敏伸、堀川道晴、千石 一雄

[男性不妊症に対する精巣内精子採取術(TESE-ICSI)についての検討]

第57回日本産科婦人科学会学術講演会

佐々木 禎仁、北 香、日高 康弘、田熊 直之、千石 一雄

[胎児消化管異常における3D-MRIによる評価]

第57回日本産科婦人科学会学術講演会

田熊 直之、北 香、佐々木 禎仁、日高 康弘、千石 一雄

[非典型的な子宮破裂3症例の検討]

第57回日本産科婦人科学会学術講演会

荻野元子、渡邊まり子、加藤育民、片山英人、西脇邦彦、山下剛、千石一雄

[成熟嚢胞性奇形腫摘出術における体内法と体外法の比較]

第13回北海道婦人科内視鏡学会

片山英人、渡邊まり子、荻野元子、加藤育民、西脇邦彦、山下剛、千石一雄

[早期子宮体癌症例において腹腔鏡下手術は成立するか]

第13回北海道婦人科内視鏡学会

荻野元子、山下剛、千石一雄

[主治医が苦慮する終末期患者の精神的サポート(緩和ケアチームに依頼した4症例の検討)]

第19回日本サイコオンコロジー学会

佐久川 直子、佐藤 恒、宮本 敏伸、堀川 道晴、千石 一雄

[男性不妊症に対する精巣内精子採取術-卵細胞質内精子注入法(TESE-ICSI)についての検討]

第4回北海道生殖医療カンファレンス

菊池 良子、千石 一雄

[CGHアレイによる卵巣癌の網羅的ゲノム解析]

第40回日本婦人科腫瘍学会

安達 かおり、金井 麻子、北 香、日高 康弘、伊藤 秀行、田熊 直之、千石 一雄

[当科における術式を統一した最近2年間の前置胎盤症例の検討]

第4回周産期談話会

佐藤 恒、堀川 道晴、佐久川 直子、宮本 敏伸、千石 一雄

[当科における吊り上げ式腹腔鏡下子宮筋腫核出術(LM)の検討]

第46回日本婦人科内視鏡学会

荻野 元子、山下 剛、西脇 邦彦、片山 英人、加藤 育民、渡邊 まり子、千石 一雄

[過去6年間における腹腔鏡下手術に伴うトラブルの検討]

第46回日本婦人科内視鏡学会

堀川 道晴、佐久川 直子、佐藤 恒、宮本 敏伸、千石 一雄

[腹腔鏡下に摘出後、早期に再発した莢膜細胞腫の一例]

第46回日本婦人科内視鏡学会

片山 英人、山下 剛、渡邊 まり子、荻野 元子、加藤 育民、西脇 邦彦、千石 一雄

[子宮体癌症例における腹腔鏡下手術治療の可能性]

第46回日本婦人科内視鏡学会

山下 剛、片山 英人、西脇 邦彦、加藤 育民、荻野 元子、渡邊 まり子、千石 一雄

[子宮頸癌における骨盤リンパ節転移状況から見た腹腔鏡下広汎子宮全摘術およびセンチネルリンパ節生検の適応]

第46回日本婦人科内視鏡学会

安達かおり、金井 麻子、北 香、日高 康弘、伊藤 秀行、田熊 直之、千石 一雄

[当院における術式を統一した最近2年間の前置胎盤症例の検討]

第54回北日本産科婦人科学会

佐久川直子、佐藤 恒、宮本 敏伸、堀川 道晴、千石 一雄

[男性不妊症例における精巣病理と精巣内精子採取率および治療成績についての検討]

第54回北日本産科婦人科学会

西脇 邦彦、渡邊まり子、荻野 元子、加藤 育民、片山 英人、山下 剛、千石 一雄

[腹腔鏡手術により診断、治療を行った13歳卵管血腫捻転の1例]

第54回北日本産科婦人科学会

加藤 育民、千石 一雄、石川 睦男

[漢方薬に関する検索ソフトの開発]

第26回産婦人科漢方研究会

千石 一雄

特別講演[生殖補助医療の現状]

第345回苫小牧市医師会学術講演会

宮本 敏伸

シンポジウム : 生殖医学の最近のトピックス[ヒト無精子症原因遺伝子群]

第24回日本受精着床学会総会・学術講演会

千石 一雄

ランチョンセミナー[GnRH アンタゴニストの不妊治療への応用]

第24回日本受精着床学会総会・学術講演会

西脇 邦彦、加藤 育民、片山 英人、山下 剛、千石 一雄

[TBX1 遺伝子の子宮体癌細胞株と組織における過剰発現]

第65回日本癌学会

山下 剛、加藤 育民、片山 英人、西脇 邦彦、千石 一雄

[ダブルアンチセンス HOXB7 およびHOXB13 遺伝子を用いた卵巣癌細胞株の浸潤抑制およびHOX 標的遺伝子の検討]

第65回日本癌学会

佐久川 直子、佐藤 恒、宮本 敏伸、堀川 道晴、千石 一雄

[習慣性流産のスクリーニング検査における抗PE抗体の有用性について]

第86回北海道医学大会産婦人科分科会

伊藤 秀行、北 香、安達 かおり、日高 康弘、田熊 直之、千石 一雄

[最近当科で経験した子宮破裂症例の検討]

第86回北海道医学大会産婦人科分科会

西脇 邦彦、渡邊 まり子、荻野 元子、加藤 育民、片山 英人、山下 剛、千石 一雄

[腹腔鏡手術により診断、治療を行った13歳卵管血腫捻転の1例]

第86回北海道医学大会産婦人科分科会

加藤 育民、山下 剛、渡邊 まり子、荻野 元子、片山 英人、西脇 邦彦、千石 一雄

[最近3年間における手術施行した卵巣腫瘍症例の検討]

第86回北海道医学大会産婦人科分科会

片山 英人、荻野 元子、加藤 育民、西脇 邦彦、山下 剛、千石 一雄

[当施設における子宮体癌症例に対する腹腔鏡下手術の治療成績]

第44回日本癌治療学会総会

山下 剛、西脇 邦彦、片山 英人、加藤 育民、荻野 元子、千石 一雄

[子宮頸癌におけるセンチネルリンパ節生検を含む骨盤リンパ節転移状況と腫瘍径からみた手術適応]

第44回日本癌治療学会総会

荻野 元子、加藤 育民、片山 英人、西脇 邦彦、山下 剛、千石 一雄

[主治医が苦慮する終末期患者の精神的サポート]

第44回日本癌治療学会総会

千石 一雄

[不妊治療と周産期アウトカム]

道東地区産婦人科医会学術講演会

山下 剛、横浜 祐子、荻野 元子、加藤 育民、片山 英人、西脇 邦彦、千石 一雄

[Laparoscopic Sentinel Node Navigation Surgery Followed by Laparoscopic Radical Hysterectomy as Minimum Invasive Surgery in Early Invasive Cervical Cancer]

第18回FIGO

片山 英人、横浜 祐子、荻野 元子、加藤 育民、西脇 邦彦、山下 剛、千石 一雄

[Identification of SLN and Detection of Micrometastasis in Cervical Cancer]

第18回FIGO

荻野 元子、横浜 祐子、加藤 育民、片山 英人、西脇 邦彦、山下 剛、千石 一雄

[A Comparison of Intraperitoneal Method and Extraperitoneal Method in Laparoscopic Enucleation of Ovarian Dermoid Cysts]

第18回FIGO

宮本 敏伸

シンポジウム 「精子形成における最新の知見」[ヒト精子形成遺伝子]

第51回日本生殖医学会総会・学術講演会

安達 かおり、金井 麻子、北 香、日高 康弘、伊藤 秀行、田熊 直之、千石 一雄

[出生前に先天性サイトメガロウイルス感染症と診断した1症例]

北海道出生前診断研究会

宮本 敏伸

遺伝子・染色体病の診断治療の最前線[不妊・不育症と染色体]

COE 国際ワークショップ

片山 英人、山下 剛、千石 一雄

[腹腔鏡下に診断および治療を行った13歳女性に発症した卵管血腫捻転の一例]

第19回日本内視鏡外科学会総会

山下 剛、片山 英人、千石 一雄

[当科における腹腔鏡手術の現状とその合併症についての検討]

第19回日本内視鏡外科学会総会

千石 一雄

[不妊症と周産期アウトカム]

札幌市産婦人科医会学術講演会

千石 一雄

[初期流産のEBMと臨床]

道東地区産婦人科医会学術講演会

千石 一雄

[不妊治療は周産期アウトカムに影響を及ぼすのか]

道東産婦人科医会

加藤 育民、山下 剛、横浜 祐子、荻野 元子、片山 英人、西脇 邦彦、千石 一雄

[当科における光線力学療法を施行した6症例の検討]

第46回北海道婦人科癌化学療法談話会例会

堀川 道晴、佐久川 直子、和田 恵子、宮本 敏伸、千石 一雄

[巨大筋腫核出後の癒着体網部に妊娠した子宮外妊娠の一例]

第14回北海道内視鏡下婦人科手術研究会

荻野 元子、横浜 祐子、加藤 育民、片山 英人、西脇 邦彦、山下 剛、千石 一雄  
[ラップディスクミニを用いた一孔式腹腔鏡下手術に関する検討]  
第14回北海道内視鏡下婦人科手術研究会

片山 英人、横浜 祐子、荻野 元子、加藤 育民、西脇 邦彦、山下 剛、千石 一雄  
[当施設における TLH 施行症例の検討]  
第14回北海道内視鏡下婦人科手術研究会

日高 康弘、田熊 直之、伊藤 秀行、北 香、安達 かおり、千石 一雄  
[新生児予後が異なった緊急搬送常位胎盤早期剥離の検討]  
第2回 旭川周産期医療研究会

佐々木 禎仁、宮本 敏伸、千石 一雄  
[ヒト精巣特異的遺伝子 TISP50, 15, 43 についての解析]  
北海道生殖医療カンファレンス

佐久川 直子、渡辺 まり子、河井 紀一郎、荻野 元子、長坂 武、片山 英人、石谷 敬之、  
山下 剛、千石 一雄  
[当科における卵巣明細胞腺癌の検討]  
北海道婦人科癌化学療法談話会 第42回 例会

佐藤 恒、堀川 道晴、佐久川 直子、宮本 敏伸、千石 一雄  
[当科における吊り上げ式腹腔鏡下子宮筋腫核出術(LM)の検討]  
第46回日本婦人科内視鏡学会

荻野 元子、山下 剛、西脇 邦彦、片山 英人、加藤 育民、渡邊 まり子、千石 一雄  
[過去6年間における腹腔鏡下手術に伴うトラブルの検討]  
第46回日本婦人科内視鏡学会

堀川 道晴、佐久川 直子、佐藤 恒、宮本 敏伸、千石 一雄  
[腹腔鏡下に摘出後、早期に再発した莢膜細胞腫の一例]  
第46回日本婦人科内視鏡学会

片山 英人、山下 剛、渡邊 まり子、荻野 元子、加藤 育民、西脇 邦彦、千石 一雄  
[子宮体癌症例における腹腔鏡下手術治療の可能性]  
第46回日本婦人科内視鏡学会

山下 剛、片山 英人、西脇 邦彦、加藤 育民、荻野 元子、渡邊 まり子、千石 一雄  
[子宮頸癌における骨盤リンパ節転移状況から見た腹腔鏡下広汎子宮全摘術およびセンチネルリ  
ンパ節生検の適応]

第46回日本婦人科内視鏡学会

## 研究成果

### (1) ヒト無精子症原因候補遺伝子であるヒト FKBP6 遺伝子に関する研究

#### A. 研究目的

ヒト無精子症の原因として以前より、Y 染色体上の部分的欠失ことに AZF 領域の欠失が報告されている。しかしながら、今日までこの領域においてヒト無精子症の原因遺伝子として同定されたのは、DAZ, RBMY 及び USP9Y のわずか 3 つにすぎない。世界的には今なお多くの研究者が無精子症原因遺伝子の検索を AZF 領域において行っているが、最後に同定された原因遺伝子は実に 8 年前までさかのぼる。加えて最近の知見ではヒト無精子症患者のうち、その Y 染色体に微小欠失を伴うものは 10%以下であろうと推定されている。近年、我々はその遺伝子変異により無精子症を引き起こす新たな遺伝子ヒト SYCP3 を同定した (Miyamoto et al., Lancet 2003)。特筆すべき点はこの SYCP3 はヒト 12 番染色体上に位置している点である。ヒト SYCP3 は AZF 領域以外で同定された最初の無精子症原因遺伝子である。加えて昨年我々は新たにヒト無精子症原因候補遺伝子であるヒト MEI1 遺伝子の同定に成功した (Sato et al., J Hum Genet 2006) 以上より、我々はヒト常染色体上にも多数の無精子症原因遺伝子が存在すると確信している。近年、Fkbp6 遺伝子のノックアウトマウスが報告され、homo-mutant のオスは成熟精子を全く有していなかった。詳細な解析の結果ノックアウトマウスのオスは減数分裂過程における異常により、濃縮した核をもつ特徴的な pachytene spermatocyte を有し、pachytene stage を超える細胞は全く観察されなかった。そこで我々はヒト FKBP6 遺伝子のヒト無精子症への関与を解析した。

#### B. 研究方法

1. ヒト FKBP6 の発現様式を解析するために、我々は Clontech 社のヒト成人 cDNA パネル (15 臓器) を鋳型として PCR 法を施行した。
2. 対象は組織学的に減数分裂停止による無精子症と診断された患者 19 名及び正常コントロール 40 名である。本研究に参加したすべての患者及び正常コントロール

ールは全て文章による同意を得た後に血液を採取し、DNA を抽出した。また本研究は大学の倫理委員会の承認後、開始された。全ての患者は染色体異常がないことまたその Y 染色体の微小欠失が存在しないことが確認されている。

3. ヒト FKBP6 の coding region である Exon1 から Exon8 までの隣接するイントロンにプライマーを各々設定し、PCR 法を施行し、ダイレクトシーケンス解析した。

4. 3 にて検出された single nucleotide polymorphism (SNP) において正常コントロール群でも同様に PCR 及びダイレクトシーケンス解析を施行した。

5. 検出された 2 つの SNP において genomic imprinting の有無を解析するために患者精巣及び正常精巣組織から各々 RNA を抽出し、RT-PCR 法を施行し、それぞれダイレクトシーケンス解析を施行した。

#### (倫理面への配慮)

本研究に参加したすべての患者及び正常コントロールは全て文章による同意を得た後に血液を採取し、DNA を抽出した。また本研究は大学の倫理委員会の承認後、開始された。

#### C. 研究結果

ヒト FKBP6 はマウス同様その精巣に特異的な発現パターンを呈した。また mutation 解析を施行したところ、患者 19 名中 4 名において Exon3 においてシトシンからグアニンへの変換をヘテロに認めた。このシトシンからグアニンへの変換により早期にストップコドンが出現し、コードされるアミノ酸は正常では 327 個であるが、わずか 60 個となり不完全な FK506 binding domain が形成される。そこで正常コントロールでも同様にシーケンス解析したところ、40 名中 4 名において同様なヘテロの配列を認めた。しかしながら、このグアニンが RNA レベルで発現し、不完全なアミノ酸をコードしているとは考えにくい。そこで、ヒト FKBP6 は genomic imprinting を受けているのではないかとの仮説のもとに解析を進めた。ヘテロを認めた患者 1 名のみの精巣からの RNA を得ることができ、

解析したところ、RNA レベルで発現しているのはシトシンのみであった。また同様に解析した正常コントロール4名でも RNA レベルではシトシンのみが発現していた、さらに、Exon6 でヘテロを検出した多型部位での解析でも RNA レベルでは mono allelic な発現を呈した。

#### D. 考察

ヒト FKBP6 はマウス同様ヒト精巣特異的に発現していた。この結果はヒト FKBP6 がヒト精子形成に重要な役割を担うことを示唆するものである。Mutation 解析により、我々は Exon3 において新規の SNP を同定することができた。この SNP および Exon6 における SNP を用いた解析により、ヒト FKBP6 が mono allelic に発現していることが明らかになった。しかしながら、本研究においてはいずれの両親からも DNA を得ることが出来なかったため、どちらのアレルが発現しているのかは不明のままである。よって、本研究は、ヒト FKBP6 遺伝子が genomic imprinting を受けている可能性を示唆するものである。Imprinting 遺伝子は cluster を形成する傾向があるため、今後隣接する遺伝子の解析さらにはマウス Fkbp6 遺伝子の imprinting の有無の検討が望まれる。またヒト FKBP6 とヒト無精子症との関連は今回解析された患者数が 19 名であったため、今後更に解析数を増やした検討が必要と考えられる。

#### E. 結論

本研究により、ヒト FKBP6 遺伝子はその精巣において genomic imprinting を受けている可能性が示唆された。

(Miyamoto T, Sato H, Yogev L, Kleiman S, Namiki M, Koh E, Sakugawa N, Hayashi H, Ishikawa M, Lamb DJ, Sengoku K.

Is a genetic defect in Fkbp6 a common cause of azoospermia in human? Cell Mol Biol Lett 11(4): 557-569. 2006. 論文添付)

(2) ヒト MEI1 遺伝子の同定及びヒト精子形成過程ことにその減数分裂におけるヒト MEI1 遺伝子に関する研究

#### A. 研究目的

今日までに、ヒト男性不妊の遺伝学的な素因として Y 染色体の微小欠失に代表される染色体異常及び Y 染色体上の AZF (azoospermia factor) 領域に存在する DAZ, RBMY 及び USP9Y さらには 12 番染色体上に局在する SYCP3 遺伝子の異常などが報告されているものの (1)、その原因のほとんどは今なお謎のままである。

精子形成過程における減数分裂の異常は無精子症の重要な原因の一つであるが、そのメカニズムはほとんど明らかにされていない。しかしながら、マウスにおいてはいくつかの減数分裂において重要な役割を担う遺伝子 (Dmcl1、Fkbp6、Scp3 (Sycp3)、Spo11、Msh4 と Msh5) が報告されてきた。近年、胚性幹細胞に抗癌剤を投与し生み出された不妊マウスのスクリーニングにより、減数分裂異常に起因する無精子症を呈する *mei1* (meiosis defective 1) マウスが同定され、さらにポジショナルクローニング法により、マウス *Mei1* 遺伝子の *mutation* が染色体のシナプスの欠損に起因する減数分裂停止による無精子症を引き起こすことが明らかにされた (2)。

今回我々は、マウス *Mei1* cDNA をもとにヒト *MEI1* cDNA を単離し、その発現パターンを解析し、さらにヒト *MEI1* 遺伝子の異常とヒト無精子症の関係を明らかにするために、組織学的に減数分裂停止による無精子症と診断された患者の *genomic DNA* を用いて解析を行った。

## B. 材料・方法

1. ヒト *MEI1* cDNA の単離及びヒト成人組織におけるその発現様式の解析  
マウス *Mei1* 遺伝子のアミノ酸配列およびヒト *Genome database* を利用して、マウス *mei1* 遺伝子とアミノ酸レベルで相同性を有するヒトゲノムシークエンス領域にプライマーを 2 組設定し、ヒト精巣 cDNA ライブラリーを鋳型として First PCR 及び Nested PCR を施行した。Nested PCR 産物を T Easy ベクターにサブクローニングしシークエンス解析を行った。その後、full length cDNA を単離すべく 5'RACE 及び 3'RACE 法を施行し PCR 産物をそれぞれシークエンス解析した。。

単離された遺伝子のエクソン内にイントロンをはさむ形でプライマーを設定し、15 のヒト成人組織から構成された Clontech 社の Multiple Tissues cDNA Panels

を用いて PCR を施行した。本研究において全ての PCR は Clontech 社の Advantage 2 PCR Enzyme System を使用した。PCR 反応は 95°C150 秒後、95°C 15 秒 68°C90 秒を First PCR で 32 サイクル、Nested PCR では 20 サイクルそれぞれ施行された。

## 2. 対象患者群と正常コントロール群

対象患者は組織学的に減数分裂停止による無精子症と診断された27名であり、ヨーロッパ系アメリカ人患者13名、イスラエル人13名及び日本人1名である。全ての患者は染色体異常がないこと、またY染色体の微小欠失が存在しないことが確認されている。正常コントロールとしてヨーロッパ系アメリカ人61名及びイスラエル人60名が同様に解析された。全ての患者及びドナーは文章によるインフォームドコンセントを得た後、血液を採取しDNAを抽出した。また本研究はアメリカ、イスラエル及び日本の各大学の倫理委員会の承認を得た後に開始された。

## 3. ヒト無精子症患者におけるヒト MEI1 の遺伝子変異解析

ヒト MEI1 遺伝子における coding region 内の全てのエクソンに隣接するイントロン部位にプライマーをそれぞれ設定し、組織学的解析で減数分裂停止による無精子症と診断された 27 名の患者の genomic DNA を用いて PCR 及びダイレクトシーケンス解析を行った。妊孕能の確認されている正常コントロール群の genomic DNA を用いて同様に PCR 及びダイレクトシーケンス解析を施行し、同定された 4 つの coding single-nucleotide-polymorphism (cSNP) において genotype およびアレルの出現頻度を比較検討した。さらに expectation-maximization(E-M)algorithm をもちいて近似的に頻度を計算してハプロタイプに対しても比較検討を行った。

## C. 成績

単離された full length cDNA は 2 つの転写体からなり、ヒトゲノムシーケンスとの比較によりヒト MEI1 遺伝子は 16 個のエクソンから構成され、短い cDNA は alternative splicing によりエクソン 7 を欠いていた。コードされるアミノ酸はそれぞれ 642 個及び 607 個でマウスとの相同性はアミノ酸レベルで 77%、核酸レベルで 61%であった。

発現パターンの解析では、ヒト MEI1 は精巣にほぼ特異的に強く発現していたが、脾臓と胸腺にもわずかに発現が検出された。

無精子症患者のシーケンス解析により open reading frame (ORF) 内に 4 箇所の single nucleotide polymorphism (SNPs) が検出された。genotype、アレル解析を行ったところ、SNP3 及び SNP4 においてコントロール群に対して統計学的な有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。さらに人種別に genotype、アレル解析を同様にを行ったところアメリカ人の SNP3 及び SNP4 においては有意差が認められたがイスラエル人では有意差が認められなかった。さらに、ハプロタイプ解析を SNP3-SNP4 において行ったところアメリカ人でやはり有意差が認められ、イスラエル人にも同様に有意差が検出された。

#### D. 考察

我々はヒト MEI1 cDNA を単離した。単離された cDNA は 2 つの転写体を有しており、2 つのアミノ酸をコードしている。これはマウス Meil 遺伝子と一致する。またその発現はマウス同様ヒト精巣に特異的なものであり、精子形成への関与を示唆するものである。

meil マウスはマウス Meil 遺伝子のエクソン 12 の部分的欠失もしくは完全欠失によりフレームシフトが起こることにより生じる。近年、マウスにおいて Meil 遺伝子と DNA 修復遺伝子 Dmcl 遺伝子の関係が報告され Meil はマウス減数分裂において Dmcl の上流に位置していることが明らかとなった(3)。今後ヒト MEI1 遺伝子と DMC1 遺伝子の関係を明らかにするために、さらなる解析が必要とされている。

本研究においてヒト MEI1 の coding region において新たに 4 つの SNP を同定することが出来た。それらの SNP の解析では、SNP3 と SNP4 においてその出現頻度がアメリカ人患者群ではコントロール群に対して統計学的有意差を認められたことにより、そのメカニズムは不明なものの今回同定された SNP がヒト精子形成過程、特にその減数分裂において深く関与している可能性が示唆された。

#### E. 結論

本研究はヒト MEI1 遺伝子とヒト精子形成との関係を示唆した最初の報告であ

る。我々の研究成果は今後のヒト減数分裂の分子メカニズムの解明に何らかの貢献をする可能性がある。ヒト MEI1 遺伝子において今後、より多くの症例数を用いた解析及び他の民族における解析が強く望まれる。

(Sato H, Miyamoto T, Yogeve L, Namiki M, Koh E, Hayashi H, Sasaki Y, Ishikawa M, Lamb DJ, Matsumoto N, Birk OS, Niikawa N, Sengoku K.)

Polymorphic alleles of the human MEI1 gene are associated with human azoospermia by meiotic arrest. J Hum Genet. 51: 533-540.2006. 論文添付)

### (3) ヒト精子形成遺伝子に関する研究

#### A. 研究目的

ヒト不妊症の原因の一つとして、男性不妊が大きな要因を占めるが、ヒトにおいて精子形成に関与する遺伝子は十分に解明されているとは言えない。近年、マウス及びラットにおいて精巣および精子特異的に発現する遺伝子が多数報告されており、これらの結果をもとにヒト精巣特異的に発現する遺伝子を単離した。

#### B. 研究方法

GenBank を用いてマウス *Oppo1*, *TISPfamily* のアミノ酸配列と相同性を有するヒトゲノムシーケンスにおいて primer を設定し、ヒト精巣 cDNA ライブラリーを鋳型として PCR さらには RACE 法を行い full length cDNA を単離した。単離された cDNA においてイントロンをはさむ形で primer を設定し Clontech 社のヒト cDNA パネルを用いて PCR を行いその発現様式を解析した。

#### C. 研究結果

上記により、ヒト精巣特異的な発現を示す新規遺伝子ヒト *OPPO1* 遺伝子およびヒト *TISP50* 遺伝子が同定された。

#### D. 考察

ヒト *OPPO1* 遺伝子およびヒト *TISP50* 遺伝子がヒト精子形成に何らかの関与をしている可能性が示唆された。今後 *in situ hybridization* 法などにより、これら

の遺伝子がヒト精巣のどの部位さらにはどの段階にはつげんしているのか解析を加える必要がある。

(Miyamoto T, Sengoku K, Hayashi H, Sasaki Y, Takuma N, Yamashita T, Ishikawa M

Isolation and Expression Analysis of the Testis-Specific Gene, Human OPPO1. J Assist Reprod Genet 21 (4) 129-134. 2004.論文添付, Sasaki Y, Miyamoto T, Sengoku K, Hayashi H, Takuma N, Ishikawa M. The human transcript induced in spermatogenesis 50. Reprod Med Biol 3: 237-243.2004.)

(4) ヒト無精子症原因候補遺伝子であるヒト HOP2, CDK2, MEISEZ 遺伝子に関する研究

#### A. 研究目的

近年、マウス Hop2, Cdk2 及び Meisez 遺伝子のノックアウトマウスが報告された。これらのマウスは全て生殖能力を全く有していなかった。詳細な解析の結果、これらのマウス全てが精子形成過程における減数分裂異常に起因する無精子症を呈することが判明した。そこで我々はこれら 3 つの遺伝子がヒトでもヒト無精子症の原因遺伝子となりうるのではないかとの仮説をもとに解析を行った。

#### B. 研究方法

対象となる患者はアメリカ人、イスラエル人及び日本人の計 55 名である。すべての患者及び正常コントロール群は文章によるインフォームドコンセントを得た後に血液から DNA を抽出し、また大学の倫理委員会の承認を得た後に解析が開始された。3 つの遺伝子における全ての coding region において mutation 解析を施行した。

#### C. 研究結果

解析の結果、coding region 内においてヒト HOP2 遺伝子で 1 箇所、CDK2 遺伝子で 1 箇所さらに、MEISEZ 遺伝子で計 11 箇所の single nucleotide polymorphism (SNP) を検出した。これらの SNP において正常コントロール群とそのアレル、ゲノタイプの出現頻度を比較検討したところ、HOP2 及び CDK2 遺伝子では患者群とコントロール群で有意な差を認めなかった。しかしながら、ヒト MEISEZ 遺伝子においては今回検出された 11 の SNP のうちその 2 箇所において患者群とコント

ロール群でそのアレルおよびゲノタイプの出現頻度において統計学的な有意差を認めた ( $p < 0.05$ )。

#### D. 考察及び結論

本研究により、ヒト MEISEZ 遺伝子がヒト無精子症特にその精子形成過程における減数分裂に関与していることが示唆された。

(論文作成中)