日本医療研究開発機構 成育疾患克服等総合研究事業 事後評価報告書

公開

I. 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 精巣内クレアチンの病態意義解明に基づく非侵襲的な精巣内造精能画像評価法と精巣内精子採取術ナビゲーションシステムの開発

(英語) Development of non-invasive imaging of testicular spermatogenic function and surgery navigation system for testicular sperm extraction based on pathophysiology of intra-testicular creatine.

研究開発実施期間: 令和2年4月1日～令和5年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 福原 慎一郎

(英語) Shinichiro FUKUHARA

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:

(日本語) 国立大学法人 大阪大学・大学院医学系研究科・准教授

(英語) Osaka University Graduate School of Medicine, Associate Professor

II. 研究開発の概要

(和文) 2ページ以上

1. 研究開発の概要

わが国では少なく見積もっても 100 万人の男性不妊患者が存在すると考えられる。最重症型の無精子症に対して顕微鏡下精巣内精子採取術 (microTESE) が行われるが、侵襲度が高く、採取率は約 40%にとどまる。以前から精巣内クレアチン(Cr)が造精能と関連することが報告されていたが、我々は新たな Cr 分子イメージング MRI である CrCEST-MRI を用いたマウス精巣内 Cr 濃度の画像化に成功した。本研究ではヒトを対象とした非侵襲的な精巣内造精機能の画像評価法の確立とナビゲーション技術システムによる microTESE 治療成績の向上、および精巣内 Cr 代謝の生理学的、病的意義解明に基づく新規治療法開発を目的とした。

前臨床検討として動物実験をすすめた (研究代表者福原、研究分担者木岡、伊川)。動物実験において、精巣虚血モデルを用いた男性不妊モデルでの検討を行い、CrCEST-MRI によって測定した精巣内 Cr 濃度が精巣の造精機能の評価に有用であることについて論文報告を行った (顕著な成果 (1))。また放射線照射モデルにおいても精巣内機能の評価系を確立し、臨床現場で応用を検討している microTESE のナビゲーション技術の前検討として、部分的に精巣機能が傷害されている放射線部分照射モデルを使用し、精巣内のまだらな造精機能の分布を CrCEST-MRI によって評価できることを見出し、論文報告を行った (顕著な成果 (2))。抗がん剤 (シスプラチン) を用いたモデルを用いて、抗がん剤による経時的な造精機能低下および回復の程度を CrCEST-MRI によって評価ができることを見出し、論文報告を行った (顕著な成果 (3))。本報告の結果は抗がん剤治療後の無精子症の診療においても CrCEST-MRI が有用であることを示唆している。さらに造精機能の各段階の精巣内の評価を行うために、セルトリ細胞限定症候群、精子成熟停止、精子運動異常などのモデル動物を作成、使用し、それぞれの精巣内の造精機能の段階ごとの評価を行い、精巣内の精子発育各段階での評価を CrCEST-MRI によって行えることについて論文報告を行った (著名な成果 (4))。

これらの結果を元に、精巣内の機能の評価するシステムとして CrCEST-MRI による精巣内の精巣機能の非侵襲的な検査方法として特許出願を行った。知財については日本国内だけでなく、国際出願へ移行している。

研究代表者 (福原) および研究分担者 (富山、梁川、木内、竹澤) により、臨床現場での CrCEST-MRI の男性不妊症臨床における有用性についての検討をおこなった。臨床での検討を行うにあたっては、In vitro 解析として実際の臨床用 MRI 装置において CrCEST-MRI によってクレアチン水溶液を用いてクレアチン濃度依存性の Cr-CEST 信号増強が得られることを確認した。健常人において条件検討を重ね、CrCEST-MRI がヒトの精巣を評価する非侵襲的画像評価法としてのプログラムを開発した。CrCESTMRI を用いた精巣内造精機能の非侵襲的画像診断法の確立および microTESE ナビゲーションシステム開発のため、CrCEST-MRI を用いてヒト精巣の造精機能評価を行うための多施設共同観察研究の倫理承認を得て、臨床研究を進めている。男性不妊症、特に精索静脈瘤の患者の精巣内の造精機能の評価において評価系として用いることができることを見出した。無精子症患者の精巣内精子採取術のナビゲーションシステムとしての有用性についても臨床研究を開始し、研究を進めている。

1. 顕著な成果

(1) 論文

Takahashi Y, Kioka H, Saito S, Fukuhara S, Asano Y, Takashima S, Yoshioka Y, Sakata Y.
Accurate Estimation of the Duration of Testicular Ischemia Using Creatine Chemical Exchange Saturation Transfer (CrCEST) Imaging.
J Magn Reson Imaging. May;53(5):1559-1567. 2021

概要：(200 字程度)

CrCEST-MRI が精巣機能の評価において有用であることを示した最初の論文である。精巣のクレアチン化学交換飽和移動 (Cr-CEST) イメージングを行い、精巣の虚血期間を正確に推定する能力を評価することを目的とし、C57BL/6 コントロールマウス (n = 6) および精巣虚血モデルを用い虚血精巣の画像を評価した。虚血精巣における CrCEST 効果の低下は虚血期間とよく相関しており、精巣 CrCEST 画像は精巣虚血の期間を正確に推定するのに有用であったことを示した報告である。

(2) 論文

Takahashi Y, Kioka H, Fukuhara S, Kuribayashi S, Saito S, Asano Y, Takashima S, Yoshioka Y, Sakata Y.
Visualization of Spatial Distribution of Spermatogenesis in Mouse Testes Using Creatine Chemical Exchange Saturation Transfer Imaging.
J Magn Reson Imaging. Nov;54(5):1457-1465. 2021

概要：(200 字程度)

Cr-CEST-MRI が精巣内の非侵襲的造精機能評価が可能であることを示したのに引き続き、精巣内の造精機能の空間分布を評価できることを示した論文である。C57BL/6 コントロールマウスおよび精巣全体への X 線照射および精巣下部への局所的 X 線照射を行い、コントロールマウスと X 線照射モデルマウスの精巣で精巣内造精機能の苦局在診断ができることを示した。実臨床で進めている精巣内精子採取術の術中ナビゲーション開発の基軸となる報告である。

(3) 論文

Kuribayashi S, Saito S, Sawaya R, Takahashi Y, Kioka H, Takezawa K, Kiuchi H, Fukuhara S, Nonomura N.
Creatine chemical exchange saturation transfer (Cr-CEST) imaging can evaluate cisplatin-induced testicular damage.
Magnetic Resonance in Medical Sciences. 2022

概要：(200 字程度)

7-T MRI を用いて評価したクレアチン-化学交換飽和移動 (Cr-CEST) 法のシスプラチンによる精巣障害においても精巣内造精機能の評価能力を有することを示した報告である。C57BL/6 マウスを用い、コントロール群とシスプラチン投与群で検討を行った。シスプラチン投与群では、Cr-CEST 効果が対照群と比較して有意に減少することを証明したものである。Cr-CEST MRI は、シスプラチンによるマウス精巣障害の評価にも有用であることを示し、様々な精巣障害に対して Cr-CEST-MRI が有用であることを示した報告である。

(4) 論文

Kuribayashi S, Fukuhara S, Tsujimura G, Imanaka T, Okada K, Ueda N, Takezawa K, Kiuchi H, Saito S, Takahashi Y, Kioka H, Oura S, Shimada K, Ikawa M, Nonomura N.

Evaluation of the efficacy of creatine chemical exchange saturation transfer imaging assessing testicular maturity.

Reproductive medicine and biology. Feb 23;22(1):e12507. 2023

概要：(200 字程度)

Cr-CEST-MRI が精巣内の精巣発育段階を評価できることを証明した報告である。Cr-CEST MRI により精子成熟停止、セルトリ細胞限定症候群、精子無力症などの精巣内の精子形成の各段階を評価できうることを示した。これにより、精子採取予測の術前マーカーの存在しない無精子症において、非侵襲的に精巣内の状態を評価することができうることを示し、臨床現場における無精子症診療における術前予測マーカーおよび術中ナビゲーションとしての Cr-CEST-MRI の可能性を示した論文である。

(5) 知財

Cr-CEST-MRI を用いた精巣機能の部位別診断法、

木岡秀隆・高橋佑典・福原慎一郎・坂田泰史・野々村祝夫・高島成二・斎藤茂芳、

国立大学法人大阪大学、2020.12.25、特願 2020-201814 2021.11.25、PCT/JP2021/044174

概要：(200 字程度)

本研究の成果により CrCEST-MRI が精巣機能の優れた部位別診断法となることについて知財を獲得した。本知財は国内での特許出願だけでなく、PCT 出願へ移行し、現在指定国移行としてアメリカ合衆国へも知財の移行を行っている。また獲得した特許を下に、大阪大学共創機構の支援の下に研究成果の技術移転企業であるテックマネッジ社の HP に開発した技術を公開し、技術移転の展開を図っている。

(英文)

In Japan, there are at least one million male infertility patients. Microscopic intra-testicular sperm extraction (microTESE) is used to treat the most severe forms of azoospermia, but it is highly invasive and the extraction rate is only about 40%. It has been previously reported that creatine (Cr) in the testis is associated with spermatogenesis, and we have successfully imaged Cr concentration in the mouse testis using CrCEST-MRI, a novel Cr molecular imaging MRI. In this study, we aimed to establish a non-invasive imaging method for evaluation of spermatogenesis in the testis in humans, to improve microTESE treatment results using a navigation technology system, and to develop new treatment methods based on clarification of the physiological and pathological significance of intra-testicular Cr metabolism.

Animal experiments were conducted as preclinical studies. In animal experiments, a male infertility model using testicular ischemia was investigated, and a paper was reported on the usefulness of testicular Cr concentration measured by CrCEST-MRI in the evaluation of spermatogenesis in the testes. We also established an evaluation system for intratesticular function in a radiation-irradiated model, and found that the distribution of spermatogenesis in a partially irradiated model with partially damaged testis could be evaluated by CrCEST-MRI. We found that the distribution of spermatogenesis in the testis can be evaluated by CrCEST-MRI using a partially irradiated model with partially damaged testicular function and reported the results in a paper. Using an anticancer drug (cisplatin) model, we found that CrCEST-MRI can evaluate the degree of decrease and recovery of spermatogenesis over time due to anticancer drugs, and reported the results in a paper. The results of this report suggest that CrCEST-MRI is also useful in the treatment of azoospermia after anticancer drug therapy. In order to further evaluate each stage of spermatogenesis in the testes, we created and used animal models of Sertoli cell-limited syndrome, sperm maturation arrest, and abnormal sperm motility, and evaluated each stage of spermatogenesis in each testis, and reported on the possibility of using CrCEST-MRI to evaluate each stage of sperm development in the testes. We reported in a paper that CrCEST-MRI can be used to evaluate each stage of spermatogenesis in the testes.

Based on these results, a patent application was filed as a non-invasive examination method of testicular function in the testes by CrCEST-MRI as a system to evaluate the function in the testes. Regarding intellectual property, the application has been moved to international application as well as Japanese domestic application.

For the clinical study, we confirmed that creatine concentration-dependent Cr-CEST signal enhancement was obtained by CrCEST-MRI using creatine solution in an actual clinical MRI system as an in vitro analysis. After repeated condition examinations in healthy subjects, we developed a program for CrCEST-MRI as a noninvasive imaging method to evaluate the human testis, in order to establish a noninvasive imaging method of spermatogenesis in the testis using CrCESTMRI and to develop a microTESE navigation system, we developed CrCEST-MRI to evaluate spermatogenic function in the human testis, we have obtained ethical approval for a multicenter observational study and are conducting clinical research. We found that CrCEST-MRI can be used as an evaluation system in the assessment of spermatogenesis function in the testes of patients with male infertility, especially varicocele. Clinical research has also been initiated and is ongoing on its usefulness as a navigation system for intra-ovarian sperm extraction in patients with azoospermia.