

氏 名	横田 佳大
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士第993号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項
学位授与年月日	令和6年3月21日
学位論文題目	Thiopurines exert harmful effects on spermatogenesis in Nudt15R138C knock-in mice (Nudt15R138C ノックインマウスを用いたチオプリンが精子 形成に及ぼす影響の検討)
審査委員	主査 教授 等 誠司 副査 教授 依馬 正次 副査 教授 醍醐 弥太郎

論文内容要旨

※整理番号	1001	(ふりがな) 氏名	よこた よしひろ 横田 佳大
博士論文題目	Thiopurines exert harmful effects on spermatogenesis in <i>Nudt15</i> ^{R138C} knock-in mice		
<p>【背景・目的】</p> <p>チオプリンは炎症性腸疾患 (IBD) の寛解維持目的に広く投与されている。チオプリンには骨髄抑制、肝機能障害、脱毛などの副作用が報告されている。アジア人はチオプリンに対する感受性が高く、欧米人と比較して骨髄抑制を伴うことが多い。チオプリンは、生体内で最終的に6-thioguanosine triphosphate (TGTP) に代謝されて薬理学的作用を発揮する。NUDT15はTGTPを加水分解して非活性型の6-thioguanosine monophosphate (TGMP) に代謝する酵素である。NUDT15の139番目アルギニンがシステインに置換される一塩基多型<i>NUDT15</i>^{R138C}は、NUDT15の酵素活性の低下を招き6-TGTPの細胞内蓄積を生じることにより骨髄抑制を惹起する。日本人において<i>NUDT15</i>^{R138C}のホモ接合体が約1%、ヘテロ接合体が約20%で認められ、チオプリン導入前に<i>NUDT15</i>遺伝子多型の検査を行うことが推奨されている。これまでに我々はヒト<i>NUDT15</i>^{R138C}に対応した<i>Nudt15</i>^{R138C}ノックインマウスを作成し、チオプリンによる造血幹細胞障害の機序について検討してきた。また、<i>Nudt15</i>^{R138C}ノックインマウスを用いて妊娠中のチオプリン投与が<i>Nudt15</i>^{R138C}アレルを持つ胎仔に与える影響についても報告してきた。今回、チオプリンの投与が<i>NUDT15</i>遺伝子多型を有する精子形成能に及ぼす影響を明らかとすることを目的として研究を行った。</p> <p>【方法】</p> <p>9週齢～12週齢のオス<i>Nudt15</i>^{R138C}ノックインマウスにメルカプトプリン (MP) (0.5mg/kg/day) を4週間または12週間経口投与を行った。可逆性を検討するために、一部のマウスは12週間のMP投与後にMP非投与下でさらに12週間飼育した。各マウスで精巣重量、精細管形態、精子数、精子形態を評価した。4週間投与群ではTUNEL法により造精子細胞のアポトーシスを評価した。12週間投与群では血清テストステロン値、卵胞刺激ホルモン (FSH) 値、黄体形成ホルモン (LH) 値の評価を行った。またMP投与後のマウスと野生型マウスを交配させて、妊娠率及び出生数を評価した。</p> <p>【結果】</p> <p>4週間のMP投与により、<i>Nudt15</i>^{+/+}マウス (wild type) および<i>Nudt15</i>^{R138C}マウスと比較して<i>Nudt15</i>^{R138C/R138C}マウスは、有意に精巣重量は減少し、精細管は萎縮した。<i>Nudt15</i>^{R138C/R138C}マウスではTUNEL陽性のアポトーシス細胞が有意に増加しており、その多くは精原細胞であった。4週間のMP投与後の<i>Nudt15</i>^{R138C/R138C}マウスでは、精子数と精子の形態に有意な変化は認めなかった。12週間のMP投与では、<i>Nudt15</i>^{+/+}マウスと比較して<i>Nudt15</i>^{R138C}マウスで有意な精巣重量の減少と精細管の萎縮を認めたが、それらの変化は12週間のMP非投与下の飼育により改善を認めた。また、精子数には変化を認めなかったが異型精子率</p>			

は増加した。妊娠率と出生数には有意な変化を認めなかった。血清テストステロン値及びFSH値は*Nudt15*^{+/+}マウスと*Nudt15*^{R138C}で有意差を認めなかった。

【考察】

本研究は、*Nudt15*遺伝子多型を考慮したチオプリン投与の精巣機能に対する影響に関する最初の報告である。4週間の短期MP投与では、*Nudt15*^{R138C/R138C}マウスで精細管の萎縮を認め、精原細胞のアポトーシスの増加を伴っていた。これらの結果から、ホモ接合体*NUDT15*リスクアレルを有するIBD患者に対しては、チオプリンは骨髄幹細胞のみならず、精原細胞などの全身の細胞分裂が盛んな細胞に対して細胞毒性を有する可能性が示唆される。12週間の長期MP投与では、ヘテロ接合体*Nudt15*^{R138C}マウスで精細管の萎縮と異型精子の増加を認めたが、MPの投与中止によりそれらの変化は改善し可逆的であった。それらの変化は精子形成に影響するテストステロンやFSHによる可能性も考慮されたが、今回の検討では血清テストステロン値及びFSH値には有意な変化を認めなかった。異型精子の増加にも関わらず、交配実験では妊娠能は維持された。異型精子がさらに多いマウスでも生殖能力は維持されるという報告もあり、異型精子の増加は高度であっても生殖能力は維持されることが考えられる。今回の検討ではチオプリン投与と関連した奇形の誕生は認められなかった。ヒトでは男性に対するチオプリン投与は精巣機能や妊娠経過に影響しないと報告されているが、今後、*NUDT15*遺伝子多型を考慮した検討が必要と考えられる。

【結論】

マウスでは*NUDT15*リスクアレルに応じて、チオプリン投与が精巣機能に有害な影響を与えた。今後、ヒトを対象とした*NUDT15*遺伝子多型とチオプリン投与の男性精巣機能の関係を評価する疫学研究が必要と考えられる。

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、
2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

博士論文審査の結果の要旨

整理番号	1001	氏名	横田 佳大
論文審査委員	主査 等 誠司 副査 依馬 正次 副査 醍醐 弥太郎		
<p>(博士論文審査の結果の要旨)</p> <p>本論文では、炎症性腸疾患の治療に用いられるチオプリンが人種によって異なる薬剤感受性を示すことから着想を得て、アジア人に多い遺伝子多型である <i>Nudt15</i>^{R138C} に注目した。相同の遺伝子変異 (<i>Nudt15</i>^{R138C}) をもつノックインマウスを用いて、チオプリン長期投与による造精機能に対する影響を解析することにより、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) <i>Nudt15</i>^{R138C} ホモ型マウスでは、4週間のチオプリン投与により、精巣および精細管の萎縮を認め、精細管の基底膜側の細胞にアポトーシスを検出した。 2) <i>Nudt15</i>^{R138C} ヘテロ型マウスでは、12週間のチオプリン投与により、精細管萎縮と異型精子の増加を認めた。 3) チオプリン投与による精巣や精細管の萎縮は、休薬によって回復した。 4) 本研究の投与方法の範囲内で、チオプリン投与はオスマウスの妊孕性に影響を与えなかった。 <p>本論文は、炎症性腸疾患のみならず、抗がん剤としても使用されることがあるチオプリンが起こしうる副作用について新たな知見を与えたものであり、また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総文字数515字)</p> <p style="text-align: right;">(2024年 2月19日)</p>			