

奨励賞受賞関連総説

抗がん治療後の男性不妊症と漢方療法

—ブスルファン処置マウスの精子形成障害における牛車腎気丸の治療効果—

○ 曲 寧¹⁾, 伊藤 正裕²⁾, 寺山 隼人¹⁾,
隅山 香織¹⁾, 坂部 貢¹⁾

1) 東海大学医学部基礎医学系生体構造機能学

2) 東京医科大学人体構造学分野

Male infertility after anticancer treatment and oriental medicine therapy

—Gosha-jinki-gan recovers the intact spermatogenesis in busulfan-induced aspermatogenesis in mice—

Ning Qu¹⁾, Masahiro Itoh²⁾, Hayato Terayama¹⁾, Kaori Suyama¹⁾ and Kou Sakabe¹⁾

1) Department of Anatomy, Division of Basic Medical Science, Tokai University
School of Medicine.

2) Department of Anatomy, Tokyo Medical University

要約

化学療法や放射線療法などの抗がん治療の副作用として精子形成障害が起こることがあり、この治療には、ホルモン製剤やビタミン製剤などが用いられるが、その治療効果は低く、精子形成障害は難治性慢性疾患となっている。近年、抗がん治療副作用の軽減に漢方薬が注目されているが、抗がん治療後の精子形成障害の改善効果に関する報告は未だ少ない。著者らは、最近、漢方薬の1つ牛車腎気丸が、抗がん剤投与したマウスの精子形成障害の治療効果を有することを見出した。

《キーワード》抗がん治療、精子形成障害、漢方薬

Abstract

It is well known that the male infertility including spermatogenesis disturbance is one of side effects

受付：平成29年9月14日 採用：平成29年11月28日

別刷請求先：曲寧

東海大学医学部基礎医学系生体構造機能学

〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋143

E-mail : quning@tokai.ac.jp

of anticancer therapies such as chemotherapy and radiotherapy. Although hormone preparations and vitamin preparations are used for spermatogenesis disturbance, their therapeutic effects are low. Aspermatogenesis is a refractory chronic disease induced by anticancer therapies. In recent years, oriental medicine (traditional herbal medicine) has been attention for alleviating the side effects of anticancer treatment, but there are still few reports about the improving effect on anticancer treatment-induced aspermatogenesis. The authors recently found that an oriental medicine, gosha-jinki-gan, can recover the intact spermatogenesis in busulfan-induced aspermatogenesis in mice.

(Jpn J Clin Ecol 26 : 76 – 81, 2017)

《Key words》 anticancer therapy, aspermatogenesis, oriental medicine

現在、外科療法・化学療法・放射線療法は、がん治療の三大療法とも呼ばれ、がんの一般的な治療法である。抗がん剤はがん細胞だけでなく、骨髄細胞や免疫組織や消化管粘膜など細胞分裂の盛んな正常な組織にもダメージを与える。その結果、免疫力の低下や、白血球や血小板の減少、貧血、食欲低下、下痢、吐き気、脱毛などさまざまな副作用が起こる。同様に、放射線治療でも副作用が見られ、それは放射線ががん細胞だけでなく正常細胞へも照射されることで起こる。放射線治療では、放射線照射によりがん細胞のDNAを切断することでがん細胞を破壊する。この作用は抗がん剤同様に、細胞分裂が起こっている時に効果を発揮する。つまり、生殖細胞などの細胞分裂の盛んな細胞ほど、抗がん剤や放射線のダメージを受けやすく、精子形成障害は、がん治療における代表的な副作用として知られている。

近年、がんに対する診断および集学的治療の進歩による治療成績向上の結果として、がん克服患者が増加している。一方、抗がん治療による吐き気や白血球減少などの副作用を抑える治療法（支持療法）も進歩してきたが、未だに十分ではない。ここ数年、抗がん剤の副作用対策としての漢方薬の効果について、科学的に検証した結果が報告され、国内だけでなく海外からも注目を集めている。例えば骨髄機能の低下に十全大補湯や人参養榮湯¹²⁾、腎障害に柴苓湯³⁾、肝臓障害に小柴胡湯・茵陳蒿湯^{4)~7)}、全身倦怠感や食欲不振には補中益気湯⁸⁾⁹⁾、吐き気に小半夏加茯苓湯・半夏瀉心湯¹⁰⁾、下痢に五苓散・半夏瀉心湯^{11)~13)}、神経障害に牛車腎気丸¹⁴⁾¹⁵⁾など、いくつかの漢方薬が化学療法の

副作用対策に有効であることが報告されている。

抗がん治療後の精子形成障害に対する治療は、性腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導体・性腺刺激ホルモン・抗エストロゲン剤などのホルモン製剤、カリジノゲナーゼなどの代謝改善剤、ATPやCo-Q10などの酵素剤、そしてビタミンB12やEなどのビタミン製剤が併用されているが、漢方製剤による治療の期待は大きい。現在、通常の精子形成障害の治療に用いられている漢方製剤は、主に八味地黄丸と補中益気湯であり、それらはテストステロンやホルモン分泌の増加を促進する効果を持つことが知られているが¹⁶⁾¹⁷⁾、実際には個人差があり効果が不透明である。これらの漢方薬の抗がん治療後の生殖機能障害に対する治療効果の報告は未だない。そもそも漢方の適用に『精子形成障害』を銘記しているものではなく、“臨床医の経験に基づく処方”という経験的治療に頼るところが大きい。漢方製剤による精子形成障害の効果に関する臨床研究の大半は治療前後の精液所見の変動で効果判定がなされ、ランダム化および対照群の設定のない研究であり、漢方療法の有効性を正当評価したことにはならない。臨床応用の段階の前に、漢方薬もまず実験動物を用いた基礎研究によりその有効性や安全性、副作用が検証され、ヒトでの臨床使用に耐えうるとみなされる必要がある。しかし、我々の知る限り、現時点で漢方薬の造精機能および精子の働きに及ぼす影響に関する基礎的検討は表1に示された程度で、まだ限られている。八味地黄丸と補中益気湯の他に、男性不妊症治療において臨床的に有効性が指摘されている漢方製剤に、ツムラ牛車腎気丸 (TJ107) があ

表1 漢方薬の造精機能および精子機能に関する実験動物を用いた基礎研究

検討対象の改善	実験動物	使用漢方薬	
血清と精巣内テストステロンの上昇	ラット	八味地黄丸・桂枝茯苓丸	Usuki S. Jpn. J. Fertil. Steril., 33(3), 628, 1988 Usuki S. Am. J. Chinese Med., XVI, 93, 1988
精巣内の蛋白合成促進	ラット	人參・八味地黄丸	志田圭三・他. 日不妊会誌. 16: 166, 1971 山本昌弘. 代謝. 10: 581, 1973 小曾戸洋・他. Proc. Symp. WAKAN-YAKU. 16: 162, 1983
精巣上体培養細胞の蛋白合成促進	ハムスター	補中益気湯・十全大補湯・桂枝茯苓丸・人參湯・六味丸	野田洋一・他. 日不妊会誌. 38: 48, 1993 野田洋一・他. 産婦人科漢方研究のあゆみ. 11: 82, 1994 Nakayama T. et al. Am. J. Chinese Med., 22: 301, 1994
抗がん剤による造精機能障害の改善	マウス	補中益気湯・八味地黄丸	須藤和彦・他. 日薬理誌. 92: 251, 1988 須藤和彦・他. 東邦医学会雑誌. 30: 476, 1991
	ラット	六味地黄湯	Oh MS. et al. Reproductive Toxicology. 24: 365, 2007

表2 ブスルファン単独投与マウスとブスルファン及び牛車腎気丸投与マウスの観察期間終了時の体重及び精巣重量

Groups	Busulfan	Busulfan+TJ107
Body weight (g)	27.86±2.20	31.01±1.52*
Testis weight (g)	0.02±0.00	0.10±0.01*

* p < 0.05 as compared with the Busulfan group

り、その基礎的な研究が待たれていた。

著者らは、抗がん剤投与後のマウス精子形成障害に対する牛車腎気丸の治療効果を調べた。ブスルファンは、主に白血病の治療に用いられているアルキル化剤で、慢性骨髄性白血病、真性多血症の他、骨髄移植（造血幹細胞移植）に先立ち骨髄の白血病細胞を根絶するための前処置に使われる。服用後骨髄抑制が顕著に現れ、また、長期間使用した場合に、生殖機能の衰えおよび無月経を引き起こすとの報告がある。著者らは、ブスルファン投与から60日後には、マウスの免疫機能は正常にまで回復したが、生殖機能は回復しないこ

とを見出した²³⁾。これより、生殖細胞は骨髄細胞より回復しにくいことが考えられる。そこで、牛車腎気丸を選び、ブスルファンによるマウスの精子形成障害に対する牛車腎気丸の効果を精巣・精巣上体の組織学的解析により検討した。表2には、ブスルファン単独投与群と、ブスルファン及び牛車腎気丸投与群の観察期間終了後の体重と精巣重量を示した。ブスルファン単独投与群に比べ、ブスルファン及び牛車腎気丸投与群は体重及び精巣重量が有意に高値を示し、一般状態の改善及び性機能の改善が示唆された。図1には精巣の病理所見を示した。ブスルファン投与群では萎縮した精細管内に顕著な精子形成障害が観察されたが、ブスルファン及び牛車腎気丸投与群では正常な精子形成が観察された。図2aには精巣上体の病理所見、図2bに精巣上体の精子数を群ごとに示した。ブスルファン単独投与群では、精巣上体にはわずかな未熟な精子が観察されたのみであったが、ブスルファン及び牛車腎気丸投与群では多くの成熟した精子が観察され、正常に近い像を示

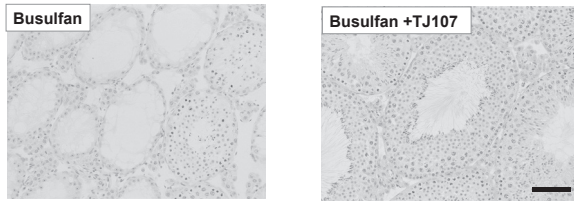


図1 The histological examinations of testes at Day 120 in the Busulfan group and Busulfan+TJ107 group.

Note: The atrophic seminiferous tubules with azoospermia were recognized in Busulfan group. On the other hand, testicular sections of Busulfan+TJ107 group showed the normal-appearing seminiferous tubules with normal spermatogenesis. Bar = 50µm.

した。精巣上体の精子数に関してはブスルファン単独投与群に比べ、ブスルファン及び牛車腎気丸投与群では精巣上体精子数は有意に増加し、未処置のマウスのレベルまでに回復することを見出した。また、回復した雄マウスの妊孕率を正常雌マウスとの自然交配により調べたところ、すべての雌マウスが仔を生んだ。これより、抗がん剤投与後のマウス精子形成障害に対して、牛車腎気丸が有効な治療効果をもつことが明らかとなった。

今後は、牛車腎気丸をはじめ、その他の漢方薬である補中益気湯および八味地黄丸による精子形成障害の改善効果やその作用機序を明らかにし、主に、液性因子である各種ホルモンやサイトカインの生殖細胞、セルトリ細胞および精巣間質細胞への影響について比較検討したい。これらの漢方の作用機序を明らかにすることより、男性不妊症に対する漢方治療の学術的基盤を作ることを目指したい。

小児がんとは15歳以下の小児に発生する悪性腫瘍であるが、その種類と治療の多様性が特徴である¹⁸⁾。男女共通して、多いのは白血病である。男児では、精巣がんができる場合もあり、女児では、子宮頸がんや乳がんになる場合もある。治療プロトコールと支持療法の改良により治療予後が改善し、5年以上生存率は小児がん全体で約8割となっている¹⁹⁾。小児がん経験者 (Childhood

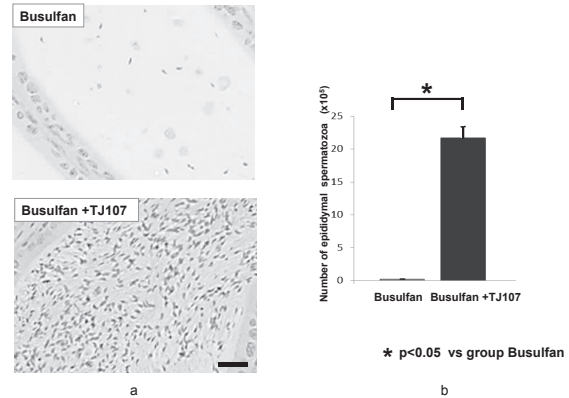


図2 Histological examinations of epididymides and the numbers of epididymal spermatozoa at in Busulfan group and Busulfan+TJ107 group.

Note the only few spermatozoa were recognized in epididymal sections of Busulfan group. * indicates $p < 0.05$ vs Busulfan group. Bar = 50µm.

Cancer Survivors; CCS) に生じるさまざまな健康障害が近年注目され、長期フォローアップの重要性に対する認識が医療者側に高まってきている。小児がん患者は治療自体が無事終了しても、思春期になってから性腺機能異常が明らかとなり、成人になってから妊孕性低下に直面する可能性がある。三善らは国内における CCS の内分泌学的晩期合併症中性腺機能低下症の頻度が高いことを報告した²⁰⁾。CCS122名 (男性62名、女性60名) 中82名 (67%) に内分泌異常を認め、性腺機能低下症を60名 (49%) (原発性51名、中枢性9名) と高頻度に認めた²⁰⁾。2006年に米国臨床腫瘍学会 (American Society of Clinical Oncology: ASCO) は米国生殖医学会 (American Society for Reproductive Medicine: ASRM) との共同で、がん患者における妊孕性温存に関する指針を出した²¹⁾。ASCO2006推奨は以下の3点である。①がん治療前の患者教育と患者説明の一環として、がん治療医は患者の生殖可能年齢の間がん治療が行われることによる不妊の可能性に関する情報を提供し、考えられる妊孕性温存療法に関して検討を行い、あるいは適応を有する希望のある患者に対して生殖医療専門医を紹介すべきである。②可能な

限り早急に妊孕性温存の可能性に関する臨床的判断を行い、患者と話し合う機会を持つべきである。③がん治療前は、精子凍結や胚凍結が標準的な妊孕性温存療法となる。2013年新たに、ASCO2013指針が報告されて、大規模な変更点はなかったが、男性また女性がん患者の生殖毒性に関する情報はASCO2006と比較してより詳細な内容に改変された。

生殖機能への副作用を避けるためにここ数年、女性では抗がん剤治療の前に卵子を凍結保存するなどの医療技術が確立され、新しい妊孕性温存療法として卵巣組織凍結・移植が臨床応用されたことから、欧米では Oncofertility (がん・生殖医療) という新しい領域が確立され、若年がん患者に対する妊孕性温存の診療の考え方が見直され始めている²¹⁾。男性の場合、思春期以前の子どもは全身麻酔で、電流で刺激を与える電気射精や精巣組織からの生殖細胞採取などの報告もあるが、確立されたものはなかった。また、精巣組織を将来移植するための組織片の凍結保存をASCO2006には記されているが、その先の移植については、卵巣と異なり確立された方法はまだない。横浜市立大学の小川らのグループは、まだ精子が作られていない仔マウスからの摘出精巣を器官培養して、精子を造ることに成功している²²⁾。これがいつかヒトに応用できるようになれば、子ども精巣組織から体外で精子を作りだすことも可能だと考えられる。

利益相反

本研究の内容に関連して開示すべき利益相反はない。

謝辞

第26回日本臨床環境医学会学術集会において奨励賞を賜り、木村穰大会長はじめ、学会関係者の先生方に感謝の意を表したい。また、稿を終えるにあたり、東海大学医学部基礎医学系生体構造機能学領域の田中理先生、古谷祐生子秘書および東京医科大学人体構造学講座の永堀健太助教、倉升三幸助手、小川夕輝助手のご協力・ご支援に深く

謝意を表す。なお、本研究は科学研究費・基盤研究C(15K08937)の助成を受け、牛車腎気丸エキスは株式会社ツムラより提供を受けた。

引用文献

- 1) Ohnishi Y, Fujii H, et al. Oral administration of a Kampo (Japanese herbal) medicine Juzen-taiho-to inhibits liver metastasis of colon 26-L5 carcinoma cells. *Jpn J Cancer Res* 89: 206-213, 1998
- 2) Takahashi H, Nakazawa S. Antitumour effect of Juzen-taiho-to, a kampo medicine, for transplanted malignant glioma. *Int J Immunotherapy* 11: 65-69, 1995
- 3) Tada K, Fujisuka N, et al. Effect of the traditional Japanese medicine Sairei-to on edema in mouse anti-GBM nephritis. *J Trad Med* 21: 125-129, 2004
- 4) Ohta Y, Nishida K, et al. Comparative study of oral and parenteral administration of sho-saiko-to (xiao-chaihu-tang) extract on D-galactosamine-induced liver injury in rats. *Am J Chin Med* 25: 333-342, 1997
- 5) Yamamoto M, Miura N, et al. Genipin, a metabolite derived from the herbal medicine Inchin-ko-to, and suppression of Fas-induced lethal liver apoptosis in mice. *Gastroenterology* 118: 380-389, 2000
- 6) Yamashiki M, Mase A, et al. Effects of the Japanese herbal medicine 'Inchinko-to' (TJ-135) on concanavalin A-induced hepatitis in mice. *Clin Sci (Lond)* 99: 421-431, 2000
- 7) Shimizu I, Ma YR, et al. Effects of Sho-saiko-to, a Japanese herbal medicine, on hepatic fibrosis in rats. *Hepatology* 29: 149-160, 1999,
- 8) Harada M, Seta K, et al. Concomitant immunity against tumor development is enhanced by the oral administration of a kampo medicine, Hochu-ekki-to (TJ-41: Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang). *Immunopharmacol Immunotoxicol* 17: 687-703, 1995
- 9) Yae S, Takahashi F, et al. Evid Based Complement Alternat Med <http://dx.doi.org/10.1155/2012/976926>, 2012
- 10) Kase Y, Yuzurihara M, et al. The effects of hange-shashin-to on gastric function in comparison with sho-saiko-to. *Biol Pharm Bull* 20: 1155-1159, 1997
- 11) Kurita T, Nakamura M, et al. Effects of Gorei-san: a traditional Japanese kampo medicine, on Aquaporin 1, 2, 3, 4 and V2R mRNA expression in rat kidney and forebrain. *J Med Sci* 11: 30-38, 2011

- 12) Kase Y, Hayakawa T, et al. Pharmacological studies on antidiarrheal effects of Hange-shashin-to. *Biol Pharm Bull* 19: 1367-1370,1996
- 13) Kase Y, Hayakawa T, et al. Preventive effects of Hange-shashin-to on irinotecan hydrochloride-caused diarrhea and its relevance to the colonic prostaglandin E2 and water absorption in the rat. *Jpn J Pharmacol* 75: 407-413,1997,
- 14) Nishizawa M, Sutherland WH, et al. Gosha-jinkigan (herbal medicine) in streptozocin-induced diabetic neuropathy. *J Neurol Sci* 132: 177-181, 1995
- 15) Mizuno K, Kono T, et al. Goshajinkigan, a traditional Japanese medicine, prevents oxaliplatin-induced acute peripheral neuropathy by suppressing functional alteration of TRP channels in rat. *J Pharmacol Sci* 125: 91-98, 2014
- 16) Steliarova-Foucher E, Stiller C, et al. International Classification of Childhood Cancer, third edition. *Cancer* 103: 1457-1467, 2005
- 17) Siegel R, Naishadham D, et al. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 63: 11-30, 2013
- 18) Miyoshi Y, Ohta H, et al. Endocrinological analysis of 122 Japanese childhood cancer survivors in a single hospital. *Endocr J* 55: 1055-1063, 2008
- 19) Lee SJ, Schover LR, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol* 24: 2917-2931, 2006
- 20) Nakamura N, Merry GE, et al. Evaluation of Culture Time and Media in an In Vitro Testis Organ Culture System. *Birth Defects Res* 109: 465-474, 2017
- 21) Woodruff TK: The Oncofertility Consortium: addressing fertility in young people with cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 7: 466-75, 2010
- 22) Kojima K, Sato T, et al. Spermatogenesis in Explanted Fetal Mouse Testis Tissues. *Biol Reprod* 95(3): 63,1-6, 2016
- 23) Hirayanagi Y, Qu N, et al. Busulfan pretreatment for transplantation of rat spermatogonia differentially affects immune and reproductive systems in male recipient mice. *Anat Sci Int* 90: 264-274, 2015