

- 「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」第 12 . 1 の指針に基づく医学系研究の公開情報

以下の研究について、本学で実施しておりますのでお知らせ致します。

研究に関する問い合わせ等がありましたら、以下の連絡先にご連絡下さい。

研究課題名	精子不動化抗体による精子不動化現象および精子 DNA の断片化の解析
研究責任者	馬淵誠士
研究機関長名	鈴木 敬一郎
倫理審査 受付番号	第 4092 号
研究期間	2022 年 5 月 31 日 ~ 2029 年 3 月 31 日
研究対象情報の 取得期間	下記の期間に当科で精子不動化抗体の血清を採取した不妊患者さん 西暦 1990 年 1 月 1 日 ~ 2022 年 3 月 31 日 上記期間に受診され、当研究及び以下の研究に参加された方を対象とします。 凍結精子を用いた CASA による精子不動化試験の開発 倫理審査受付番号：2865 実施期間：2018 年 2 月 6 日 ~ 2021 年 12 月 16 日 CASA を用いた精子不動化抗体による精子不動化現象の解析 倫理審査受付番号：2416 実施期間：2016 年 10 月 4 日 ~ 2024 年 8 月 31 日
研究に用いる 試料・情報	■ 試料等（研究目的で取得） ■ カルテ情報（診療の過程で取得） □ アンケート その他（ ）
研究目的、意義	血中精子不動化抗体は頸管粘液中に分泌され、精子の運動機能を障害し、精子が子宮内に侵入するのを妨げます。また子宮腔～卵管内にも抗体は分泌されるため、子宮腔に侵入できた精子も卵管内で通過性を障害されます。障害の程度は精子不動化抗体価である S I₅₀ 値（50%精子不動化値）と深い関係があります。 体外受精用の培養液に精子不動化抗体陽性患者の血清を使用すると受精率がきわめて低率ですが、代用としてアルブミンを使用すると受精率は正常化します。すなわち精子不動化抗体保有女性の血清中に存在する抗精子抗体は受精を阻害します。なお、抗精子抗体による受精障害は、精子の受精能獲得、透明帯への

	結合・貫通、先体反応など、いずれの受精段階でも起こります。 今回、この精子不動化抗体に関わる研究を実施します。精子不動化抗体陽性血清を用いて精子不動化試験（sperm immobilization test：以下SIT）を行うと、経時的に精子の運動率が低下していく一方で、精子頭部を振動させながら加速する精子、不動化する直前に精子頭部が鋭角に屈曲し、加速しながらせん状に振動する現象や、精子頭部を固定しながら同心円状に尾部を振動する、いわゆるshaking phenomenonが顕微鏡下に観察されます。従来、精子のこのような運動現象を顕微鏡下に肉眼で評価することは困難でした。近年、コンピューターによる精子自動分析装置であるCASA（computer-aided sperm analysis）が開発され、従来評価困難であった精子速度や精子の頭部振動などが測定可能となっています。精子不動化抗体による精子の不動化現象を経時的に観察し、完全不動化に至るまでの精子の運動速度や頭部振動などCASAにおける各パラメーターの関連性について検討します。また、精子不動化抗体による精子DNAの断片化の有無を明らかにします。これらの研究により、精子不動化抗体が精子の運動を止める機序を解明し、精子不動化抗体による不妊症の治療に役立てることを目的としています。
研究の方法	精子不動化抗体陰性の患者さん（群）と精子不動化抗体陽性の患者さん（群）を比較検討します。血清中のプロゲステロン濃度が精子運動性に及ぼす影響を考慮し、月経周期3～5日目に採取した血清を使用します。精液は精液所見正常かつ精子結合抗体が陰性のボランティア男性から提供を受けます。これらの血清と精子を用いてSITを行い、精子が完全に不動化するまでCASAによる測定を行い、CASAにおける各パラメーターの関連性について検討します。 SITの方法を下記に記載します。 1.血清の準備 精子不動化抗体陽性患者さん、および対照として精子不動化抗体陰性の女性から、すでに採取している各々20mLの末梢血を使用します。これらの採血試料は本研究を含め本学倫理審査委員会にて許可を得た当科研究での使用のみを目的としています。得られた試料は遠心分離により非働化を行います。 2.精子の調整 精液所見が正常で、抗精子抗体が付着していない健康な男性の新鮮射出精液から、swim-upなどの方法により運動性良好な精子浮遊液を調整します。 3.補体の調整 補体源としては、標準モルモット補体として凍結乾燥したものを入手します。 4.血清希釈 SIT陽性の被検血清を、抗体陰性の標準血清で順次倍数希釈（2倍、あるいは3倍系列）します。 5.アッセイ法 抗精子抗体陽性及び陰性血清と、各希釈血清、精子浮遊液、補体をPCRチューブで反応させ、反応液4μLをスライドグラスにのせ顕微鏡下にCASAを用いて精

	子の運動現象を解析します。 精子 DNA 断片化の評価方法を下記に記載します。 Sperm Chromatin Structure Assay(SCSA) 法により DNA 断片化 (DFI; DNA fragmentation Index) を評価します。具体的には、ヒト精子をアクリンオレンジ (AO) 染色し、その蛍光をフローサイトメーター (FCM) にて解析します。AO に染色された DNA は二本鎖であれば緑色、一本鎖であれば赤色に発光する性質を利用し、AO 染色後のヒト精子における赤色蛍光を検出することで、DFI を測定します。 収集する試料・情報は以下の通りです。 1. 精子不動態抗体陽性女性患者さんの血清 2. 精子不動態抗体陰性女性患者さんの血清 3. 男性の WHO の基準を満たした精子 使用する情報は、年齢、性別、精子不動態抗体の有無、精子不動態抗体の量、精液所見 (精子量、総精子数、濃度、運動率、前進運動率、奇形率) です。
個人情報の 取扱い	試料提供者の個人情報を保護することは、刑法で定められた医師の義務です。試料提供者の個人情報は他人に漏れないように、取扱いを厳重に管理します。解析・研究を開始する前に、あなたの提供された試料や診療情報から住所、氏名などが削られ、代わりに新しく符号がつけられます。あなたとこの符号とを結びつける対応表は、試料を採取した当大学で個人情報分担管理担当者が厳重に保管します。
本研究に関する 連絡先	研究責任者：兵庫医科大学産科婦人科 教授 馬淵誠士 連絡先担当者：兵庫医科大学産科婦人科 本田晴香 住所：〒663-8501 兵庫県西宮市武庫川町 1-1 連絡先電話番号：0798-45-6481 対応時間 月～金曜日は 8:30～16:45 上記時間帯以外 代表番号 0798-45-6111 試料・情報が当該研究に用いられることについて患者さんにご了承いただけない場合には研究対象としますので、上記の連絡先までお申出ください。その場合でも患者さんに不利益が生じることはありません。