

閉塞性無精子症に対する精巣上体精子採取法

京都大学大学院医学研究科器官外科学講座 (泌尿器病態学) (主任 : 小川 修教授)

奥野 博, 中村英二郎, 七里 泰正
寛 善行, 寺地 敏郎, 小川 修

EPIDIDYMAL SPERM ASPIRATION FOR OBSTRUCTIVE AZOOSPERMIA

Hiroshi OKUNO, Eiji NAKAMURA, Yasumasa SHICHIRI,
Yoshiyuki KAKEHI, Toshiro TERACHI and Osamu OGAWA
From the Department of Urology, Graduate School of Medicine, Kyoto University

Epididymal sperm aspiration technique combined with assisted reproductive technology (ART) including intracytoplasmic sperm injection (ICSI) has provided new frontiers for the treatment of unreconstructable obstructive azoospermia, including congenital bilateral absence of the vas deferens and failed surgical intervention. Epididymal sperm is obtained by several procedures, including microsurgical epididymal sperm aspiration (MESA), mini-MESA (Modified MESA), macroscopic epididymal sperm aspiration (MaESA) and percutaneous epididymal sperm aspiration (PESA).

Since 1991 in our department, epididymal sperm aspiration combined with ART was performed by MESA (26 cases, 41 times) and PESA (3 cases, 4 times). Motile sperm retrieval using MESA and PESA was obtained in 34 out of 36 times (94.4%) and 2 out of 4 times (50%), respectively. MESA-ICSI resulted in a 47.3% 2PN (metaphase II) fertilization rate per eggs and a 28.8% pregnancy rate per transfer.

With advancement of ICSI technique in which frozen sperm can be used, elective sperm retrieval can be planned at our convenience. PESA is a convenient, inexpensive and effective outpatient clinic procedure for retrieving sperm assisted with ICSI.

In summary, infertile couples need to be given realistic options regarding treatment outcome. The fertility potential and age of the female partner need to be considered when addressing male treatment options.

(Acta Urol. Jpn. 46 : 581-586, 2000)

Key words : Obstructive azoospermia, MESA, PESA, ART, ICSI

緒 言

精巣上体精子採取法は閉塞性無精子症 (精路通過障害による無精子症) に対する治療法の1つであり, 近年の体外受精 胚移植や顕微授精 Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) などのニューテクノロジー, いわゆる補助生殖技術 assisted reproductive technology (ART) との医療連携により, 多数の産児が得られるようになってきた。しかし本来, 閉塞性無精子症の治療の目標は再吻合 (精路再建術) による閉塞の解除である。したがって本稿では本術式の適応や採取方法の選択, ART とのタイミングさらに現在の本治療法の問題点について解説したい。

適 応

対象症例は1) 先天性両側精管欠損症 congenital bilateral absence of vas deferens (CBAVD), 2) 両

側精巣上体炎, 3) 両側鼠径ヘルニア術後 精管切断術後, 4) Young 症候群, 5) 原因不明の精路閉塞症, 6) 射精管閉塞症などである。2~5) に対しては精路再建術が, 6) に対しては治療可能なものは経尿道的手術がファーストチョイスであるが, それらが不成功となった症例や閉塞部位が広範なため物理的に再建術が困難な症例, 不妊期間が長く女性側の年齢のため本術式を希望された場合などが本採取法の適応となる。特に女性の年齢では35歳を過ぎると ART における妊孕性が低下するといわれており¹⁾, また再吻合術の場合, 妊娠までの平均期間が約1年と比較的かかるといわれ²⁾, 33, 34歳以上のパートナーの場合, 本術式の選択肢も十分考慮する必要があると考えられる。

採 取 方 法

採取方法としては, 1. 顕微鏡下精巣上体精子吸引術 microsurgical epididymal sperm aspiration

(MESA), 2. Mini-MESA (Modified MESA), 3. 肉眼直視下精巣上体精子吸引術 macroscopic epididymal sperm aspiration (MaESA) 4. 経皮的精巣上体精子吸引術 percutaneous epididymal sperm aspiration (PESA) があげられる。

1. 顕微鏡下精巣上体精子吸引術 microsurgical epididymal sperm aspiration (MESA)

全身麻酔下,あるいは腰椎麻酔下に陰嚢に切開を加え精巣および精巣上体を露出する。その後,手術用顕微鏡下に精巣上体被膜を切開し,被膜下の血管膜を丁寧に剝離し精巣上体管を露出する。黄色の内容液を含む拡張した部分は生存精子が期待できないのでその部分は避ける。精液への血液の接触を防ぐため,止血を念入りに行ったのち,精巣上体管を約 300~500 μm に先端を加工したマイクロピペットで穿刺し,内容液を毛細管現象にて吸引する。あるいは精巣上体精管吻合術と同様に精巣上体管の側面に切開(開窓)を加え,流出する液を精子培養液を含む 1 cc のシリンジ(先端に 24 G のサーフロー針の外筒を装着)で吸引する(Fig. 1)。採取した液はすぐさま一部を鏡検し運動精子を認めない場合は,さらに精巣上体近位部に切開を進め,精子を採取する。余剰の精子は凍結保存する。終了後は10-0 ナイロン糸で開窓部を縫合する。

2. Mini-MESA (Modified MESA)

局所麻酔下に陰嚢に小切開を加え,眼科用開眼器(self-retaining eyelid retractor)を用い精巣鞘膜を展開し,精巣・精巣上体を露出し,その後 MESA と同様の操作を行う³⁾

3. 肉眼直視下精巣上体精子吸引術 macroscopic epididymal sperm aspiration (MaESA)

腰椎麻酔下に陰嚢に正中切開を加え施行側精巣を創外に脱転し,精巣鞘膜を切開して精巣上体を露出させる。ついで精巣上体被膜を切開し,直視下にガラスピペットを穿刺,内容液を毛細管現象にて吸引する。上体管に拡張を認めない場合は,管腔に小切開を加えて流出した液を吸引する。採取液の顕鏡で形態正常の運



Fig. 1. Microsurgical epididymal sperm aspiration (MESA).

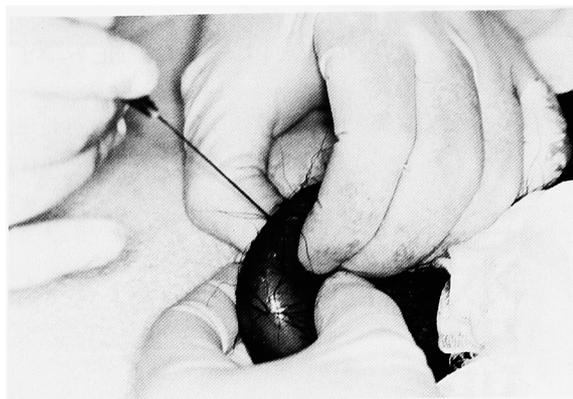


Fig. 2. Percutaneous epididymal sperm aspiration (PESA).

動精子が認められない場合は,同側他部位(通常近位側),精巣輸出管,対側精巣上体の穿刺を行い,それでも認められない場合は時を移さず精巣内精子採取術(TESE)に移行する⁴⁾

4. 経皮的精巣上体精子吸引術 percutaneous epididymal sperm aspiration (PESA)

2%キシロカインにて精索神経叢に十分な伝達麻酔を施した後に精巣上体の頭部から体部を経皮的に把持し,22~24 G 針で穿刺し,ゆっくり陰圧を加えながら内容液を数カ所から 1 cc のシリンジ内へ吸引採取する(Fig. 2)。すぐさま HTF 液にて洗浄を行い,精子を調整する。

採取方法の選択に関しては,MESA は全身麻酔・腰椎麻酔を必要とするものの凍結保存にも十分な運動精子が回収できうることで利点があると考えられる。一般に運動精子採取率は MESA 法で 90~95%, PESA 法で 67~90%である⁵⁾ また近年デイ サージャリー部門を開設する病院も増え,上記麻酔下でも日帰りあるいは一泊入院での対応が可能となってきている。MaESA は MESA と同等の成績が得られ,かつ顕微鏡などの特殊な手術器機を使用せず行えることで利点があると考えられる⁴⁾ PESA は MESA と比べ,運動精子回収率は劣るものの,外来レベルで局所麻酔下に行える利点がある。本術式は採取精子数の少ないことが欠点であったが,近年の ICSI 法の援護と良好な成績より従来の MESA 法に比べほぼ同等の受精率,妊娠率が報告されるようになり⁶⁾,今後 MESA 法に代わりうる術式と考えられる。Table 1 に各術式の特徴を整理した。

閉塞性無精子症は MESA によりほとんどの症例で運動精子が回収できることにより,精子凍結保存のうえパートナーの性周期にあわせた ICSI が可能となってきた。このことは MESA の手術予定が立てやすいことやパートナーの負担 費用の面からも利点があると考えられる。また実際,新鮮精子と凍結精子の比較でも,その受精率,妊娠率には差がなく,Spitz ら⁷⁾

Table 1. A comparison of sperm retrieval techniques from patients with obstructive azoospermia

Parameter	MESA	Mini-MESA	MaESA	PESA	TESE	TESA
Anesthesia	Gen/regional/local	Local	Gen/regional/local	Local	Gen/regional/local	Local
Microscope	Yes	Yes	No	No	No	No
% Success Retrieval	90-95%	95%	80%	67-90%	95-100%	95-100%
Invasiveness	High	Relative low	High	Low*	High	Low
Sperm obtained (number/quality)	enough/high	enough/high	enough/high	a few/high	a few/low?	a few/low?
ICSI	Fresh<Frozen	Fresh<Frozen	Fresh<Frozen	Fresh>Frozen	Fresh>Frozen	Fresh>Frozen

* peri-operative risk: postoperative obstruction, uncontrolled bleeding

Table 2. Results of assisted reproductive technology using epididymal sperm in patients with obstructive azoospermia

Reference	Method	No. of cycle	Fertilization/eggs %	Pregnancy/transfers %	
Nagy et al. (1995)	MESA-ICSI	43	56	30	
Craft et al. (1995)	PESA-ICSI	42	32.8	28.6	
Silver et al. (1995)	MESA-ICSI	52	43	56	
Palermo et al. (1996)	MESA-ICSI (for CBAVD)	52	65	66	
Mansour et al. (1997)	MESA-ICSI	44	59.5	27	
Present (2000)	MESA-ART	52	47.3	28.8	
Friedler et al. (1998)	MESA-ICSI (fresh sperm)	7	55	33	
	MESA-ICSI (frozen sperm)	7	54	45	
	PESA-ICSI (fresh sperm)	17	56	31	
	PESA-ICSI (frozen sperm)	6	52	25	
Spitz et al. (1999)	MESA-ICSI (fresh sperm)	142	52.8	50	IVF center A
	MESA-ICSI (frozen sperm)	499	59.5	68.4	IVF center A
	PESA-ICSI (fresh sperm)	399	49.1	29.4	IVF center B
	PESA-ICSI (frozen sperm)	327	57.5	37	IVF center B

の2カ所の IVF センターで行った比較ではむしろ凍結精子を用いた方が成績がよい結果がでている。これは凍結により精子の viability が損なわれることが少ないことや、無理なくパートナーの採卵の計画がたてられることなどが影響していると考えられる。われわれも最近ではほとんどの症例で凍結保存による ICSI を行っている。

治療成績

当院では1991年9月から MESA を26例41回, 1997年12月から PESA を3例4回施行してきた。MESA の対象症例は, 先天性両側精管欠損症が最も多く, 15例23回, 先天性片側精管欠損症+対側精巣の機能不全が2例6回で, その他精巣上体炎, 鼠径ヘルニア術後, Young 症候群などが含まれた。MESA では全例全回で精子の採取が可能(運動精子採取は記載不明の5回を除いて34回(94.4%))であった。MESA-ART の種類は ICSI が39回(78%)と最も多く, 他に gamete intra-fallopian transfer (GIFT), in vitro fertilization-embryo transfer: (IVF-ET)-microdroplet 法, subzonal insemination (SUZI) などを用い(1994年以降はほとんど ICSI 法を選択), 採卵あたりの受精率 151/319 OPU (47.3%), 胚移植あたりの妊娠率

15/52 cycle (28.8%) であった (Table 2)⁵⁻¹²⁾ 1~5回(平均1.8回)の MESA-ART により, 全体として13例(50%)が産児(7例が凍結精子での ART, 3例が二卵性双児)を得た(2例で流産)。海外の成績を含めるとおおむね受精率は33~65%, 妊娠率は27~68%であった。

PESA は当院では症例数は少ないが精管切断術後1例2回, 原因不明の精巣上体閉塞が1例1回, 射精管閉塞症に伴う死滅精子症が1例1回に施行した。うち2回(50%)で精子(運動精子)の採取が可能であった。受精率は86%であったが妊娠例はなかった。なお PESA で精子回収できなかった症例はいずれも後日 MESA にて運動精子の回収が可能であった。

MESA-ART の問題点

1. 精路再建術との選択

閉塞性無精子症の治療は, 本来は夫婦の愛情に包まれた性行為に基づいて生じる自然妊娠が誰しも望むところであり精路再建術がファーストチョイスと考えられる。われわれは1985年以降積極的に精路再建術に取り組んできた (Table 3)。現在のところ精管精管吻合術を35例(小児期鼠径ヘルニア術後19例, 精管切断術後13例, 片側精管欠損症+対側造精機能障害2例, 停

Table 3. Results of microsurgical seminal tract reconstruction in patients with obstructive azoospermia

	No. Pts.	Patency (%)	Unassisted pregnancy (%)	Assisted pregnancy (%)	Total pregnancy (%)
Vasovasostomy	35	27 (77)	13 (37)	7* (20)	18 (51)
Vasoepididymostomy	38	26 (68)	11 (29)	6** (16)	17 (45)

* AIH 2 pts., Ejaculated sperm-ICSI 2 pts., MESA-ICSI 3 pts. ** AIH 3 pts., Ejaculated sperm-ICSI 1 pt., MESA-ICSI 2 pts.

留精巢1例)に、精管精巢上体吻合術を38例(精巢上体炎11例, Young 症候群5例, 精管閉塞による二次的閉塞7例, 片側精管形成不全+対側造精機能障害1例, 原因不明14例)に施行し, 平均約5年の追跡調査において精路開通はそれぞれ27例(77.1%), 26例(68.4%)であった。また自然妊娠はそれぞれ13例(37.1%), 11例(28.9%)であり, AIHの併用も含めると妊娠成立は15例(42.9%), 15例(39.5%)であり, MESA-ARTの成績と比べ, 決して劣るものではなかった。さらに流産の比率も低く, 本症例の場合, 既に10カップル以上に第2子以上の産児が自然妊娠にて得られており, その意味からも入院期間 侵襲性の問題はあるものの可能なものは精路再建術を積極的に勧めるべきと考えられる。

しかしそれが困難な症例や先天性両側精管欠損症では, ARTによる費用, 卵胞過剰刺激症候群, 多胎などの問題や cystic fibrosis の責任遺伝子の異常との関連の問題はあるが, 精巢上体精子採取法によりこれまで不妊に悩んできた夫婦にとって大きな福音となったのは事実であると考えられる。

2. 精子採取部位 (MESA or TESE) の選択

1993年に Schoysman ら¹³⁾によって精巢内精子 testicular sperm extraction (TESE) を使った顕微授精による妊娠が報告されて以来, TESE は MESA により精子が回収できない閉塞性無精子症例や, さらに非閉塞性無精子症でも精巢生検で精子の存在が確認される症例があることがわかり, その適応は拡大されてきている。また Silver ら¹⁴⁾は閉塞性無精子症例で, MESA-ICSI と TESE-ICSI とを比較しているが受精率, 分割率, 妊娠率は両者ともほぼ同等な成績であると報告しており, 近年ではその簡便さ, 迅速性, 安全性の意味から MESA 適応症例でも本術式を選択される施設も増加している。また近年 (1998), Belker ら¹⁵⁾が, PESA と同様に open surgery を伴わず, 静脈内麻酔のみで経皮的に精巢内精子を採取する percutaneous testicular sperm aspiration (TESA) の術式を報告している。しかしいずれにしろ精巢内精子の場合, 運動はしていても卵透明帯通過能や卵細胞膜融合能を有していない可能性があることや, さらに genetic (inprinting など) に精巢内精子は精巢上体精

子に比べ未熟である可能性も否定できないため, 医学的 倫理的にもその適応は慎重でなければいけないと考えられる。1999年5月に行われた Society for the Study of Male Reproduction での参加メンバーへのアンケートでは閉塞性無精子症例に対する ART の source は, epididymal sperm を用いるとした者が70%, testicular sperm を用いるとした者が30%であった。当教室では MESA により精子が回収できない症例にかぎり, testicular sperm (TESE) を用いている。

最終的にはどの術式を選択すべきかは各施設, 患者・パートナーの状態 希望により異なるが, 当教室では短期間の入院加療は必要とするものの, より確実に凍結保存にも十分な運動精子が採取できる方法として MESA を第1選択としている。

3. 遺伝学的問題点

先天性両側精管欠損症 (CBAVD) は, 本邦では男性不妊症の1%, 無精子症の2%程度を占め比較的稀な疾患と言われているが, 欧米ではその率は高く, また cystic fibrosis の責任遺伝子 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) の異常との関連が報告されている。事実欧米では cystic fibrosis 患者の95%以上がCBAVDであり, 一方CBAVD患者の約60%にこの遺伝子に mutation が認められ, 本治療を行う前に夫婦ともに CFTR 遺伝子の異常をスクリーニングすることが勧められている。幸い本邦ではCBAVD患者からCFTR遺伝子のintron上での異常のみしか現時点では報告¹⁶⁾されていないが, ARTの進歩に伴い, 従来は遺伝されるはずのない不妊症や他の遺伝疾患が遺伝される可能性があることを十分考慮する必要がある。現在のところ適当な動物モデルがないために, ARTによって次世代に継承された軽微な遺伝子異常が生殖に及ぼす影響を検討するためには, 次世代まで結論を待たねばならない。患者へは, むやみに心配させる必要はないが, 上記のことを踏まえ十分な Informed Consent を行うことが肝要である。

4. ART の問題点

ARTを用いた治療においては, 多胎, 流産, 卵胞過剰刺激症候群 ovarian hyperstimulation syndrome

(OHSS) などのパートナーに対する肉体的負担や ART に関わる高額な費用負担, さらには患者 家族の精神的不安などの問題点があげられる. 実際われわれの施設での成績では13出産例中3例が双児, また一患者あたりの ART 回数は1~5回で平均1.8回であった. 厚生省研究班のアンケート調査では, 治療に費やす期間は平均4.6年で, 3カ所近くの病院を訪れていること, 約4割は百万円以上の治療費がかかっていることがわかった. 多胎に関しては, 移植胚数を増やせば症例あたりの妊娠率が増加する反面多胎発生率も上昇することから, 日本産科婦人科学会では移植胚数を原則として3個以下とし余剰胚については被実施者との協議のうえ凍結保存処置をとることが望ましいとしている. しかし移植胚数を3個以下としても双胎, 品胎の発生は自然妊娠に比べはるかに高いのは事実である. 昨今, 種々の培養液の開発によりヒト受精卵を胎盤胞まで培養することが可能となり, これによる妊娠率の向上と移植胚数を2個までに限定する試みがなされようとしている. 今後これらの治療開発により, 多胎, 特に品胎の防止策が導入されることが期待される. OHSS は, 過排卵刺激によっておこる卵巣腫大と血管透過性亢進の結果生じる third space への血漿成分の移行を主病変とする, すなわち, 腹水および胸水が貯留し, 循環血液量の減少と血液濃縮をきたし, 重症例では肝障害, 血液凝固能亢進, 血栓, 腎不全などの多臓器不全を起こす病態である. 近年増加傾向にあり, 重症例は上記のごとく生命を脅かす場合がある. 現在のところ確立された予防, 予測, 治療法はないのが現状であり注意を要する.

結 語

以上, 閉塞性無精子症に対する精巣上体精子採取法の開発により, これまで不妊に悩んできた夫婦にとって大きな福音となったのは事実である. しかし, 本来は夫婦の愛情に包まれた性行為に基づいて生じる自然妊娠が誰しも望むところである. したがって泌尿器科医としては, 閉塞性無精子症におけるマイクロサージェリーの成績の向上, 各医の技術の上達に励むことが強く望まれる. また ART においては産婦人科との医療連携を今後さらに計りつつ, そのうえで, 患者が過度の期待に迷わされないよう, 医師が予想される妊娠率などについてきちんと説明を行い, そして最終的には患者自身による治療選択にゆだねることが肝要と考えられる.

文 献

1) Schieve L, Peterson H, Meikle S, et al.: Live-birth rates and multiple-birth risk using in vitro fertilization. *JAMA* **282**: 1832-1838, 1999

- 2) Belker AM, Thomas AJ Jr, Fuchs EF, et al.: Results of 1,469 microsurgical vasectomy reversals by the Vasovasostomy Study Group. *J Urol* **145**: 505-511, 1991
- 3) Nudell DM, Conaghan J, Pedersen RA, et al.: The Mini-MESA for sperm retrieval: a study of urological outcomes. *Hum Reprod* **13**: 1260-1265, 1998
- 4) 近藤宣幸, 古賀 実, 竹川政美, ほか: 閉塞性無精子症に対する肉眼直視下精巣上体精子採取術の治療成績. *日不妊会誌* **44**: 291-297, 1999
- 5) Turek PJ, Nudell DM and Conaghan J: Methods of epididymal sperm retrieval: a urologic perspective. *Assisted Reproduction* **9**: 60-64, 1999
- 6) Friedler S, Raziel A, Soffer Y, et al.: The outcome of intracytoplasmic injection of fresh and cryopreserved epididymal spermatozoa from patients with obstructive azoospermia—a comparative study. *Hum Reprod* **13**: 1872-1877, 1998
- 7) Spitz A, Brannigan RE, Orejuela F, et al.: Outcome analysis of intracytoplasmic injection of fresh versus cryopreserved epididymal spermatozoa for patients with obstructive azoospermia. *J Urol* **161**: No. 4, Supplement 281, 1999
- 8) Nagy Z, Liu J, Cecile J, et al.: Using ejaculated, fresh and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa gives rise to comparable results after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* **63**: 808-815, 1995
- 9) Craft I and Tsigotis M: Simplified recovery, preparation and cryopreservation of testicular spermatozoa. *Hum Reprod* **10**: 1623-1627, 1995
- 10) Silver SJ, Nagy Z, Liu J, et al.: The use of epididymal and testicular sperm injection: the genetic implications for male infertility. *Hum Reprod* **10**: 2031-2043, 1995
- 11) Palermo GD, Schlegle PN, Colombero LT, et al.: Aggressive sperm immobilization prior to intracytoplasmic sperm injection with immature spermatozoa improves fertilization and pregnancy rates. *Hum Reprod* **11**: 1023-1029, 1996
- 12) Mansour RT, Kamal A, Fahmy I, et al.: Intracytoplasmic sperm injection in obstructive and nonobstructive azoospermia. *Hum Reprod* **12**: 1974-1979, 1997
- 13) Schoysman R, Vanderzwalen P, Nijs M, et al.: Pregnancy after fertilization with human testicular sperm (letter). *Lancet* **342**: 1237, 1993
- 14) Silver SJ, Van Steirteghem AC, Liu J, et al.: High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biopsy. *Hum Reprod* **10**: 148-152, 1995
- 15) Belker AM, Sherins RJ, Dennison-Lagos L, et al.: Percutaneous testicular sperm aspiration: a convenient and effective office procedure to retrieve

- sperm for in vitro fertilization with intracytoplasmic sperm injection. *J Urol* **160**: 2058-2062, 1998
- 16) Okada H, Yoshimura K, Fujioka H, et al. : Assisted Reproduction technology for patients with congenital bilateral absence of vas deferens. *J Urol* **161**: 1157-1162, 1999
- (Received on May 22, 2000)
(Accepted on June 21, 2000)