

令和 6 年 9 月 24 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09628

研究課題名（和文）卵巣機能を改善させる新規卵胞成熟療法の開発

研究課題名（英文）Development of novel ovarian follicle maturation technique for improvement of ovarian function

研究代表者

井原 基公（Ihara, Motomasa）

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・非常勤講師

研究者番号：50403506

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：我々のグループは卵胞発育障害の新規治療法として卵胞活性化療法（IVA: in vitro activation）を開発したが、卵巣組織切片を卵巣内や腹膜に移植した際に卵巣組織が生着する割合は100%ではなく、質の良い卵母細胞をより効率的に獲得するためには未だ改善の余地がある。本研究の結果、VEGFの徐放剤を用いると移植卵巣切片内の卵胞数が有意に増加したことから、卵巣組織切片の生着率を格段に向上させることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵胞の発育率を改善させるために世界においてもさまざまな方法が報告されているが、いずれも成熟卵胞の獲得率は低いままである。原始卵胞が存在するが、発育しない状態である卵巣機能不全患者に対する治療法として、VEGF徐放剤が卵胞活性化療法の効果を更に改善させる可能性が高く、良好成熟卵子の獲得により卵巣機能不全患者の妊娠率を向上させる可能性が高い。また、卵巣組織の生着率改善だけでなく、他の臓器移植に対しても徐放剤の有用性が示された。

研究成果の概要（英文）：Our group developed IVA (in vitro activation) as a novel treatment for POI (premature ovarian insufficiency). The percentage of the ovarian tissue graft survival rate, which is grafted into the ovary or beneath the peritoneum is not 100%. We still have room for some improvement of graft survival rate to get many follicles in grafted ovarian tissues. As the result of our study, A VEGF (vascular endothelial growth factor)-releasing fiber mat increased the number of follicles in the grafted ovarian tissues and improved the graft survival rate of ovarian tissue.

研究分野：生殖医療

キーワード：徐放剤 卵胞活性化療法 卵巣組織移植 VEGF

1. 研究開始当初の背景

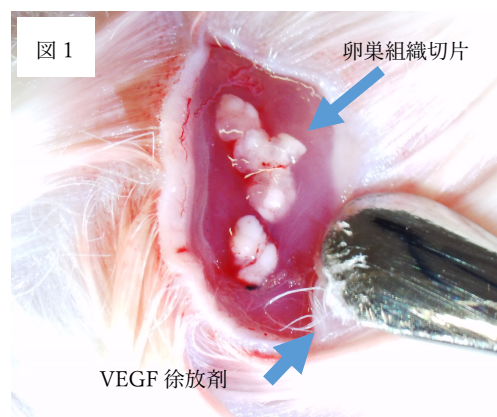
医療技術の進歩によって不妊症患者における治療成績は以前より改善してきたが、不妊の原因は複合的であり、器質的な異常や染色体異常が認められない原因不明の不妊症例が数多く存在する。現代社会において少子化や晩婚化に伴い不妊治療のニーズが増加しているが、不妊治療には未だ改善の余地があり、不妊のメカニズムに対する新たな知見や理解、その治療方法の改善が必要である。基礎研究では iPS 細胞から始原生殖細胞を作製・体外培養し、生仔を得られるようになったが、卵の質に直結する卵胞発育を制御する詳細なメカニズムは未だ不明である。卵胞の発育障害は、高齢不妊患者、抗癌剤を使用した若年癌患者や原因不明の早発卵巣不全において治療困難な病因である。我々のグループは卵胞発育障害の新規治療法として卵胞活性化療法 (IVA: in vitro activation) を開発したが、卵巣組織切片を卵巣内や腹膜に移植した際に卵巣組織が 100% 生着するわけではなく、卵巣組織移植後に質の良い卵母細胞をより効率的に獲得するためには未だ改善の余地があった。卵胞の発育率を改善させるために世界においてもさまざまな方法が報告されているが、いずれも成熟卵胞の獲得率は低いままである。最近、間葉系幹細胞療法 (MSC 療法) を用いた細胞治療による卵巣機能の改善方法が報告され、臨床応用されつつある。そこで IVA 療法に MSC 療法やその改良方法を取り入れ、より優れた卵胞発育障害の治療法を開発する必要があった。

2. 研究の目的

移植切片の生着には VEGF などの血管新生因子やその他の細胞増殖因子が必要であるが、それらの増殖因子は半減期が極めて短いため、これまでは細胞増殖因子を用いて効率的に組織生着を改善させることは困難であった。今回、VEGF 徐放剤を用いてマウス移植卵巣組織の生着率を改善させることで卵胞数を増加させられるか否かを検討した。

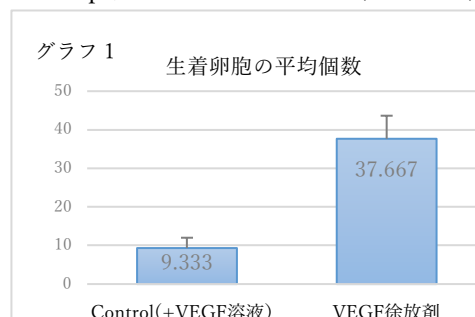
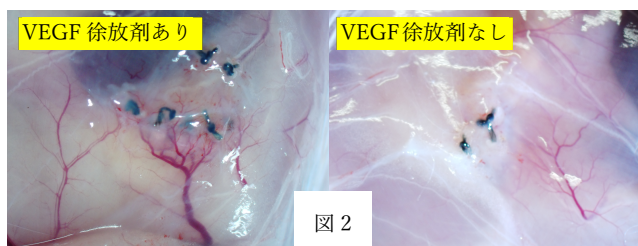
3. 研究の方法

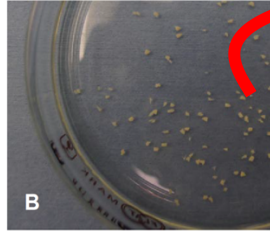
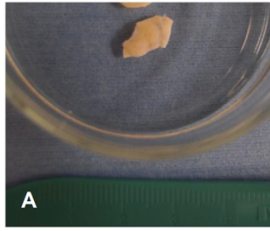
共同研究者である慶応義塾大学薬学部創薬分析化学講座の長瀬健一先生 (現在広島大学医系科学研究科医薬分子機能科学研究所教授) が PVA (polyvinyl alcohol) ファイバーシートと PLGA (poly (lactico-glycolic acid) ナノ粒子に VEGF を担持させ、VEGF 徐放ファイバーシートを作成した (<https://doi.org/10.1002/mabi.201700073>)。VEGF 徐放剤の効果を確かめるため、6~7 週マウスの卵巣組織断片を 6 分割し、VEGF 徐放シートと一緒に腹膜と筋膜の間に移植し (図 1)、13-14 日後に移植部位を回収した。コントロールとして 50ng の VEGF 溶液とともに PVP ファイバーシートのみを使用して卵巣組織片を移植した。組織はホルマリン固定し、4 μ m で薄切切片を作成して 20 μ m おきに HE 染色で組織を観察し、卵胞数を確認した。移植は 3 回行った。



4. 研究成果

予備実験で VEGF 徐放剤の効果が確認できる移植場所として、腹膜と筋膜の間に有効であった。VEGF 徐放剤を使用した場合、血管の拡張が顕著に認められた (図 2)。実験を 3 回行った結果、VEGF 溶液のみで移植した場合、平均 9.3 個の卵胞を確認できた。一方 VEGF 徐放剤を用いた場合、平均 37.7 個の卵胞を確認できた。等分散を仮定した 2 標本による t 検定では p 値は 0.024 であった (グラフ 1)。VEGF の徐放剤を用いると移植卵巣の卵胞数が増加したことから、卵巣組織切片の生着率が上昇したと考えられる。VEGF 徐放剤が卵胞活性化療法の効果を更に改善させる可能性が高く、良好成熟卵子の獲得により卵巣機能不全患者の妊娠率を向上させる可能性が示唆された。この結果は卵巣組織に限らず、他の組織の移植についても同様に移植組織の生着率を改善させる可能性がある (図 3)。





現行の IVA 療法に加えて、VEGF-PGLA ナノ粒子と卵巢皮質断片を再度卵巢に共移植する。

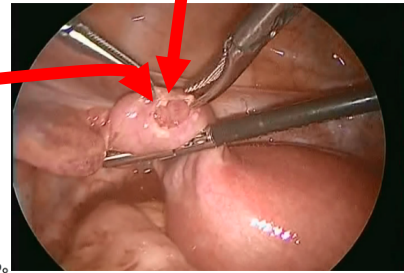


図3 卵胞活性化培養

- A, 摘出した卵巢より卵巢皮質を切離。
- B, A の卵巢片を 1-2mm 大の小片へと断片化する。
- C, セルカルチャーインサート上に B の卵巢小断片を静置し、組織が被われるほどの PTEN 抑制剤および PI3K 活性化剤を含む培養液で 48 時間培養する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	河村 和弘 (Kawamura Kazuhiro) (10344756)	国際医療福祉大学・医学部・教授 (32206)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関