

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09305

研究課題名(和文) 光干渉断層計を用いた最適組織選択による効果的卵巣組織移植法の開発

研究課題名(英文) Quantification and localization of primordial follicle using Optical Coherence Tomography intended for investigating effective ovarian tissue transplantation

研究代表者

高江 正道 (TAKAE, SEIDO)

聖マリアンナ医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00621301

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：当初予定していたLLtech社の光干渉断層計機器を使用できなかったため、研究分担者の塚田孝祐博士が主導となり、新規光干渉断層計機器の開発から研究を開始した。その研究結果、我々の既存の報告通り、光干渉断層計にて卵胞が可視化可能であることを再確認した。さらに安全性評価では、マウス卵巣撮像後の卵胞数は非撮像群と比較して有意差はなく、卵子および顆粒膜細胞の遺伝子(GDF9, FSHR, CYP19a)発現も異常を認めなかった。さらに、撮像した卵巣組織を移植に用いたが、生着率に差はなく、組織学的評価との比較により、二次卵胞ならびに胞状卵胞数測定の正確性が担保されることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年普及が進んでいる卵巣組織凍結・移植は、現時点では臨床研究段階の医療技術であり、さらなる有効性と安全性の改良が必要である。我々の着想した卵巣内の卵胞の非侵襲的可視化は、卵巣組織移植を行う際に、必要最小限の卵巣組織量を決定に有用である。それにより、無駄に卵巣組織を移植に使用することを避けるとともに、移植組織量を少なくすることによって悪性腫瘍の再発リスクを低減させる効果があると考えられ、卵巣組織移植法のテーラーメイド化に寄与し得ることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Since the originally planned optical coherence tomography equipment could not be used, the research started with the development of a new optical coherence tomography equipment led by Dr. Kosuke Tsukada, a shared researcher. As a result of the research, we reconfirmed that the follicle can be visualized by the optical coherence tomography as our existing report. Furthermore, in the safety evaluation, the number of follicles after imaging the mouse ovary was not significantly different from that in the non-imaging group, and the gene expression (GDF9, FSHR, CYP19a) of the ovum and granulosa cells was not abnormal. Furthermore, although the imaged ovarian tissue was used for transplantation, there was no difference in engraftment rate, and comparison with histological evaluation showed that the accuracy of secondary follicle and follicle number measurement was guaranteed.

研究分野：生殖医学

キーワード：卵巣組織移植 卵巣組織凍結 妊孕性温存療法

### 1. 研究開始当初の背景

第3期がん対策推進基本計画(平成30年3月9日閣議決定)によって、若年がん患者の妊孕性に関する言及がなされた後、令和3年度より、国の研究促進事業として妊孕性温存療法の公的助成金制度が開始された。女性の妊孕性温存療法には、胚(受精卵)凍結、卵子凍結、卵巢組織凍結があるが、卵巢組織凍結は小児ならびに基幹的制約の強い患者に対して適用される唯一の妊孕性温存療法である。しかしながら、卵巢組織凍結は2004年に初めての生産例が報告され、既に15年以上の歴史があるが、未だ200例程度の生産例しか報告がないことなどにより、臨床研究段階の医療技術の位置づけのままとなっている。今後、本医療技術を確立されたものとするためにも、卵巢組織凍結・移植技術の発展が望まれる。

米国生殖医学会によると、卵巢組織凍結は「ほとんど確立された医療技術」とされ、卵巢組織移植は「challengingであり、腹腔鏡下手術のエキスパートと高いレベルの培養室が必要」とされている。そのため、本医療技術の発展のためには、卵巢組織移植法の発展が必要不可欠と考えた。卵巢組織移植には、様々な論点が残されており、特に卵巢組織移植量、移植部位、移植方法などについて、特に検討の余地があると考えられる。研究代表者は、そのなかで「卵巢組織移植量」に焦点を当てて研究を開始した。

一般的に卵巢組織移植は腹腔鏡下手術で行われ、一度の卵巢組織移植で卵巢の30-50%を移植するとされているが、定まった意見はない。しかしながら、患者本人の卵巢組織内の卵胞数が少ない場合には、30-50%では不十分である可能性もある。つまり、患者本人の卵巢予備能に応じた卵巢組織移植量があると考えるのが妥当と思われる。これまで研究代表者は、この考えに基づき、光干渉断層計を用いて卵巢組織内の原始卵胞の非侵襲的可視化に注力してきた。本研究では、その知見を活かし、光干渉断層計による卵胞数カウントに基づいた卵巢組織移植法のストラテジー確立を目指した。

### 2. 研究の目的

卵巢組織移植を行う際、卵巢予備能に応じた必要最小限量の卵巢組織移植法を確立することにより、無駄のない有効な卵巢組織移植を行うことが可能となる。さらに、悪性腫瘍混入による疾患再発のリスクを最小限化することも可能となる。本研究では、光干渉断層計を用いて最適な卵巢組織移植量の決定するストラテジーを開発し、さらに効率的かつ安全性の高い卵巢組織移植法を確立することを目的とする。

### 3. 研究の方法

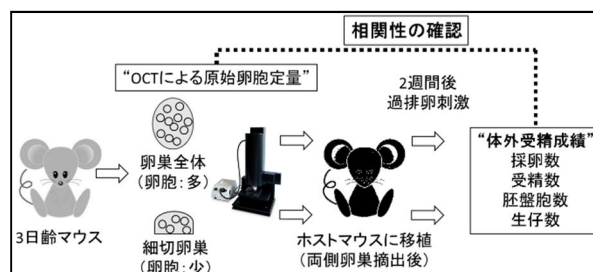
本研究を進めるにあたり、以下の点に関して証明することを目標とした。

- 1, OCTによる原始卵胞定量化の正確性
- 2, OCTの生殖細胞に対する安全性
- 3, OCTによる卵巢組織選択の有効性
- 4, OCTと他の卵巢予備能評価法との相関

当初予定していた研究計画では、これまで使用してきたLLTech社のライトスキャナーを用いる予定であったが、諸事情によって仕様が不可能となったことにより、当初の予定を変更する必要性があった。そのため、研究分担者の塚田孝祐博士の主導により、卵巢組織内の卵胞検出に特化した光干渉断層計の開発から進めることとなった。以下、本研究ではこの自作の光干渉断層計を用いて実験を行った。以下、卵巢組織撮像に適した光干渉断層計の機器開発の部分を除いた形の報告を行う。

(1) 光干渉断層計による安全性の検証として、各卵巢組織片を撮像し、各種遺伝子発現について検証した(GDF9, FSHR, CYP19a)。

(2) 光干渉断層計にて撮像した後に卵巢組織移植を行い、性周期再開および体外受精成績を比較検討した(図)。



### 4. 研究成果

(1) 撮像群と非撮像群において、GDF9, FSHR, CYP19aの遺伝子発現に関して有意な差は認めら

れなかった。

(2) 撮像群と非撮像群において、卵巢組織移植後の性周期再開ならびに体外受精成績に差は認められず、光干渉断層計撮像の影響はないことが示唆された。また、体外受精成績は光干渉断層計によって確認された卵胞数と概ね一致していた。

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	塚田 孝祐  (KOSUKE TSUKADA)  (00351883)	慶應義塾大学・理工学部(矢上)・教授    (32612)	

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