OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Effect of sustained release of basic fibroblast growth factor using biodegradable gelatin hydrogels on frozen-thawed human ovarian tissue in a xenograft model
Author(s)	田中, 絢香
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/70735
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　田中　絢香

論文審査担当者	（職）	氏名
主　査	大阪大学教授	木村　正
副　査	大阪大学教授	金田安史
副　査	大阪大学教授	大薗恵一

論文審査の結果の要旨

本研究では凍結融解卵巣組織における移植直後の虚血性障害への対策としてbasic fibroblast growth factor(bFGF)に着目した。生物学的活性が短い遊離bFGFの安定した徐放化を可能にする生体分解性ゼラチンハイドロゲルを用いて、移植した凍結融解卵巣組織への効果を検討した。ヒト凍結融解卵巣組織とともにbFGF含浸ゼラチンハイドロゲルシート(bFGF徐放シート)を免疫不全マウスに移植し、移植後の卵巣組織をHE染色及び免疫組織化学染色を用いて評価した。bFGF徐放シート投与により卵巣組織内の新生血管が増加することを証明した。さらにbFGF徐放シート投与による卵巣間質の細胞増殖能の向上と線維化領域の減少、保存卵胞密度の増加を示した。本研究は卵巣組織凍結・移植治療におけるbFGF徐放性ゼラチンハイドロゲルの血管新生促進効果と卵巣組織の栄養環境の改善、及び卵胞の生存率向上への有効性を示したものであり、学位に値すると考える。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	田中　絢香
論文題名 Title	Effect of sustained release of basic fibroblast growth factor using biodegradable gelatin hydrogels on frozen-thawed human ovarian tissue in a xenograft model （異家移植モデルにおけるヒト凍結融解卵巣組織片に対する、生体分解性ゼラチンハイドロゲルを用いた塩基性線維芽細胞増殖因子徐放の効果）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

若年がん患者のQOL向上のために妊孕性温存治療が考慮されるようになった。初経前の女児やがん治療を遅らせることができない女性にとって卵巣組織凍結は唯一の選択肢である。しかしその治療効率は未だ十分とは言えない。凍結融解した卵巣組織片の移植直後の虚血性傷害により、凍結卵巣組織片に保存された多数の卵胞が失われてしまう事が治療効率の低さの原因の一つであると考えられている。移植卵巣組織への積極的な血流改善・血管新生によって、組織生着および卵胞発育が促進され、成熟卵の効率的獲得が可能になるのではという戦略のもと、basic fibroblast growth factor(bFGF)の血管新生促進効果に注目した。しかし、bFGFの生物学的活性は非常に短く、遊離bFGFを局所で投与しても血管新生効果は得られない。そこで、生体分解性のゼラチンハイドロゲルを用いてbFGF徐放シートを作成し、これを凍結融解卵巣組織片と共に移植し、移植した卵巣組織片における活性bFGF投与の影響を検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

ヒト卵巣組織片は29-34歳(31.0±2.2歳,平均±SD)の子宮頸癌または子宮体癌の診断のもと両付属器摘除術を当科で実施した患者から、インフォームドコンセントの下提供されたものを用いた。術前の卵巣予備能の検索として血清抗ミュラー管ホルモン(AMH)値を測定し、2ng/ml以上の症例でなおかつ凍結前の卵胞密度が30/mm^{3}以上の卵巣組織をslow-freezing法にて凍結融解し、本研究に用いた。過去の報告から、移植後10日間活性型bFGFを持続供給する事ができるような条件を模索するために、ゼラチンハイドロゲルシートの条件を検討した。90wt%ゼラチンハイドロゲルシートにおいて、14日間の活性型bFGFの放出を認めたため、この条件のゼラチンハイドロゲルシート(bFGF徐放シート)を用いて検討をおこなった。陰性コントロールとしてPBS含浸ゼラチンハイドロゲルシート(PBSシート)を作成し、これらを凍結融解したヒト卵巣組織片とともに免疫不全マウスの背部皮下に移植し、比較検討を行った。

凍結融解したマウス卵巣組織片を同種のマウスに移植する系において、コントロール群と比較してbFGF徐放シート投与群(bFGF群)で血清AMH値の上昇を認めた。しかし、ヒト凍結融解卵巣組織片を免疫不全マウスに移植する系においては血清AMH値の有意な変化は認められなかった。だがbFGF群では、移植6週間後に移植卵巣組織片上や周辺に明らかな新生血管が認められた。そこで、抗CD31抗体を用いて組織学的検索を行った。bFGF群では、マウス由来およびヒト由来両方におけるCD31陽性領域が有意に上昇していた。血清AMH値に有意な変化を認めなかった事から、胞状卵胞以降の卵子の生存についてはあまり期待できなかった。過去の報告においても凍結融解の侵襲および移植後の虚血性傷害により多くの胞状卵胞以降の卵子が傷害され、残存するほとんどの卵胞が原始卵胞および1次卵胞である事が報告されている。特に原始卵胞に対しては直接的に栄養する血管はなく、卵巣間質細胞により原始卵胞は影響をうける事が報告されている。そこで、卵巣間質細胞における細胞増殖を検討するためにKi-67染色にて組織学的に検討を行った。bFGF群では、Ki-67陽性細胞の有意な増加とMasson's trichrome染色による線維化領域の有意な減少を認めた。bFGF群において原始卵胞および一次卵胞の卵胞密度の有意な増加が認められた。

〔総　括(Conclusion)〕

凍結融解卵巣組織をbFGF徐放ゼラチンハイドロゲルをともに移植することで、血管新生が誘導され移植卵巣組織片の栄養環境が改善されることが示唆された。そして、栄養環境の改善により原始卵胞および一次卵胞の生存率の有意な上昇が認められた。bFGF徐放ゼラチンハイドロゲルはすでに末梢動脈性疾患に対して臨床応用が検討されており、本研究によりゼラチンハイドロゲルが卵巣組織凍結による妊孕性温存療法の臨床研究に応用される第一歩につながればと考える。