

医原性不妊を回避する“一時的”卵巣移植

福島 貴子¹、中川 毅史¹、野口 修平¹、三原 誠¹

¹東京大学医学部形成外科・美容外科（日本）

(Received 31 December 2008; accepted 8 June 2009)

Abstract

癌患者は多くの場合、抗癌剤治療や放射線治療の副作用のため不妊症を患う。成人では、精子や卵子/受精卵または卵巣組織の凍結保存が選択肢の一つとして考えられるが、凍結による細胞傷害のため妊娠率は非常に低い。精子や卵子を性成熟前に集めることはできないため、現在、子供ではこの問題に対する治療アプローチは皆無である。我々はこの論文において、ラットモデルを用いて、卵巣組織を凍結保存せず、生きているドナーとレシピエントの間で一時的に生殖器を移植することによって、生殖器の機能を温存するという新しい移植方法を提案する。この移植方法は、切断肢の修復を目的とした形成外科技術が基礎となっている。レシピエントラットから摘出した卵巣を、一時的にレシピエントラットに移植し、その後卵巣をドナーに再移植すると、自然妊娠、出産に成功した。顕微鏡観察によって、血管吻合を施して移植した卵巣内の卵子はほとんどが生存していることがわかった。また、大腿骨骨ミネラル密度解析により卵巣摘出後よりも骨密度が増大したことを確認した。さらに一時的卵巣移植の医療分野以外への応用として、私たちは、哺乳動物が卵巣を二個保有していることから、一つは移植用として保存しておくことで、閉経後に生殖器移植することで繁殖効率を改善させることができるのではないかと考えている。

キーワード

超微小血管外科、異所性移植、回避的移植、妊孕性温存

序文

癌治療法の進歩によって、小児がん患者の生存率は、近年飛躍的に向上している。しかしながら、癌治療の副作用として癌治療後患者の生殖機能の低下は不可避である。生存率の向上に伴い、セクシャリティーに対する考えが変化し、癌治療後の悪性腫瘍患者に結婚・妊娠・出産の希望が生まれてきた。男性に関しては、治療前に精子を主とする液体窒素凍結が可能であるため、性成熟を経た男児は特に問題とならない。一方、女児は無排卵、無月経症、ホルモン欠落症状、陰閉鎖などの多様な症状を呈する¹⁻³⁾。現在この問題を解決する治療法として、卵巣凍結、卵巣移植の研究が進められている。細断した卵巣を凍結し、治療後に卵巣の正所移植または異所移植が試みられているが、移植後の卵巣の機能は数年維持するのが限度で、出産にまで至った例は数少ない^{4, 5)}。主な原因として、卵巣組織の細断による組織破壊、卵胞数の減少、卵巣凍結・解凍時の卵胞への細胞障害や、摘出から移植まで血流が通わないことによる虚血障害が考えられる。

そこで我々は、卵巣を細断せず、凍結することもなく、虚血障害を克服する卵巣移植法として、レシピエントとなる他者へ卵巣を一時的に移植し、癌治療後に患者に再移植をするという手法を提案する。この“一時的卵巣移植”というアプローチ

は、切断肢の修復を目的とした形成外科技術を基に開発した。切断肢のような重傷を負った四肢は、血流温存のため、受傷していない部位へ一時的に移植し（異所性移植）、傷の治療後に元の部位に戻す（図1）。この異所移植時には超微小血管外科技術による血管吻合を行なっている。

生きているドナーとレシピエントの間で行なう生殖器の一時的移植は、新しいコンセプトの臓器機能温存方法である。生命に危険のない生殖器機能の再建においては、妊娠や出産そして移植に関わるリスクを最小限におさえるために、移植を一時的な手段に限定することが重要である。

我々はこれまで凍結技術の開発に加え、非凍結による温存法の探索も試み、100年を越す歴史を経た移植技術の応用が1つの解決策になりうることを実感している。

卵巣移植

麻酔下でF344/jc1ラット（15週齢）の両側卵巣を腹部正中切開で摘出した。ドナーラットの卵巣動静脈を腎動脈まで剥離し、血管同定後、卵巣と子宮角の一部を一塊として両側共に採取した。卵巣採取後の臓器保存液による灌流は行なわなかった。右卵巣は廃棄し、左卵巣と血管は免疫抑制剤（シクロスポリン）を投与したレシピ

方法

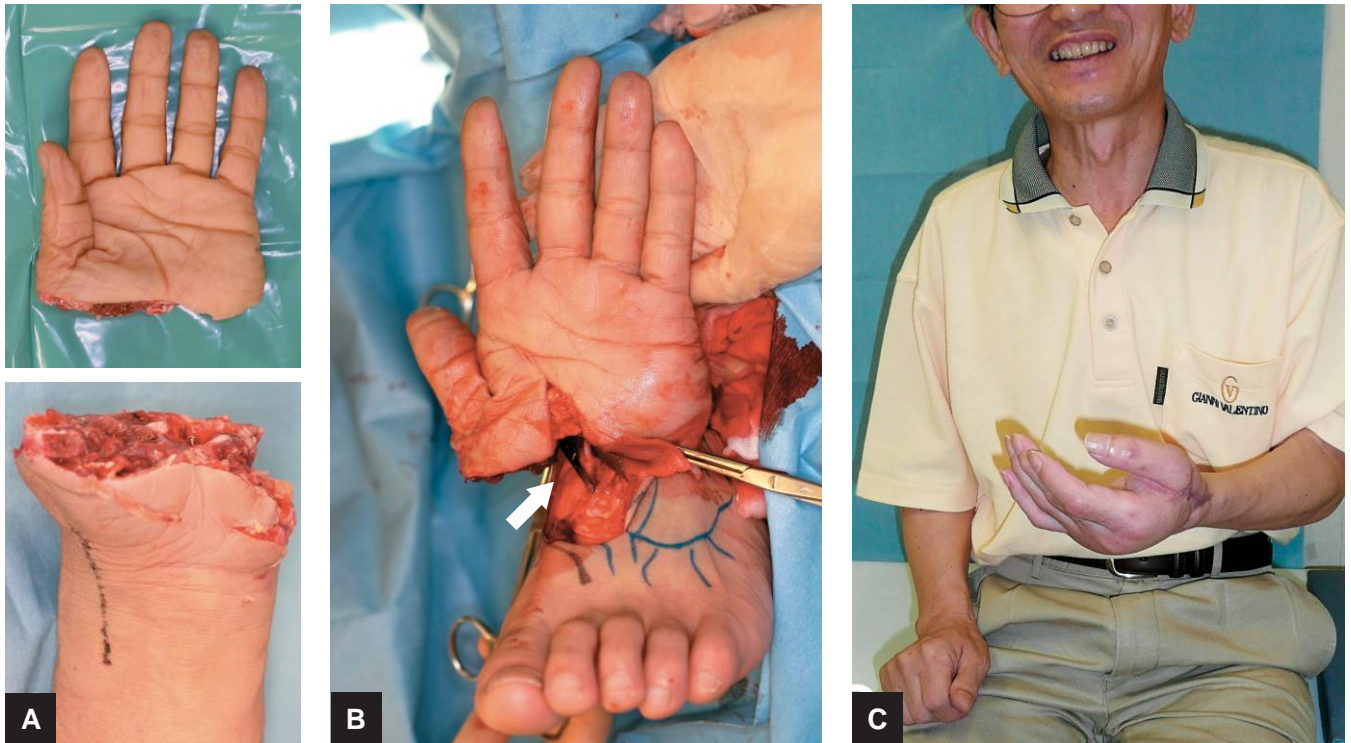


図1 一時的異所移植とは？

自己異所性移植の症例。仕事中に電気ノコギリで左手を切断した53歳の男性患者（A）。頭部打撲で意識不明だったため、受傷した左手は事故日に局所麻酔下で足背動静脈（白矢印）と一時的に血管吻合した（B）。昏睡状態から回復後、受傷14時間後に再移植を行った（C）。



図2 一時的卵巢移植後に産まれた子ラット

一時的に卵巢を移植したレシビエントラットから、卵巢をドナーラットに再移植し、雄ラットと自然交配させたところ、正常な子ラットが産まれた。レシビエントラット、ドナーラットともに健康で、一時的卵巢移植は妊孕性温存治療の選択肢の一つとなりうる。

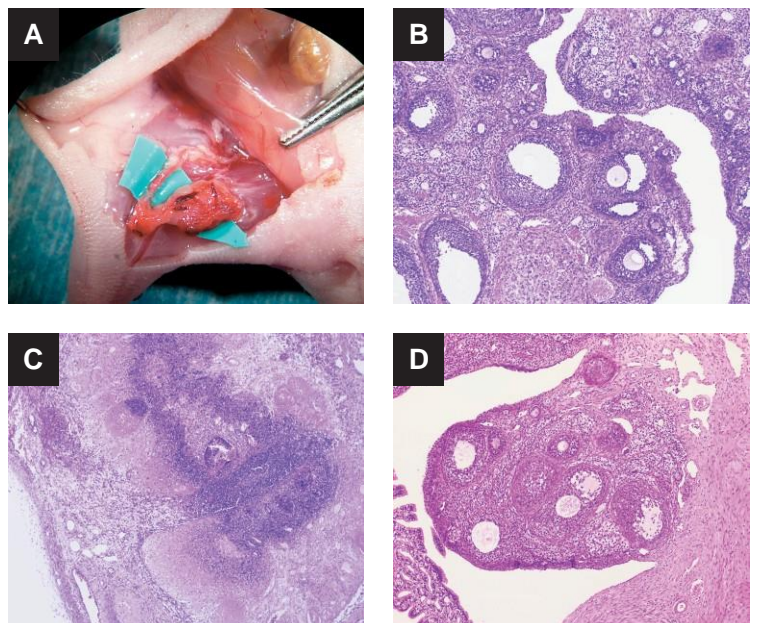


図3 血管吻合群と非血管吻合群の卵巢組織

A：ラット鼠脛部への卵巢の異所性移植を行い、卵巢動脈（0.3 mm）と静脈（0.9 mm）を体幹皮下動静脈と吻合した。血管吻合行い卵巢を移植した群と血管吻合を行わずに移植した群の卵巢をHE染色で組織学的に評価した。B：レシビエントラットに移植後、血管吻合群の卵巢はほとんど全ての卵胞が生存していることが示された（倍率、X100）。C：非血管吻合群の卵巢は中央部分が壊死しており、生存している卵胞はわずかであることが示された（倍率、X100）。D：ドナーラットに再移植後も卵胞はほとんど生存していた（倍率、X100）。

エントラットF344/jc1ラット（15週齢）に移植した。左卵巢の動静脈をレシピエントラットの大腿動静脈に吻合し、卵巢と子宮角の一部は腹腔内に留置した。移植後6ヶ月目に、移植した卵巢と子宮角の一部を血管付で摘出し、ドナーラットの大腿動静脈に端-端吻合を行なった。

組織学的評価

卵巢の卵胞発育の状態を組織学的に調べるため卵巢組織の標本を作製した。新鮮卵巢、移植卵巢の組織を10%ホルマリンで固定し、常法に従ってパラフィンブロックを作製し、4-5 μ mの厚さの連続切片を作製した。

骨ミネラル密度測定

卵巢摘出前、摘出後6ヶ月目、再移植後3ヶ月目に、ラット大腿部の骨ミネラル密度（以下、BMD）をマイクロフォーカスX線CT装置（以下マイクロCT）で測定した。

結果

生きているドナーとレシピエントの間での一時的卵巢移植には、超微小血管吻合と異所性移植技術が基礎となっており、一時的卵巢移植のラット動物モデルの開発を可能にした（図1）。

ラットの卵巢動静脈と免疫抑制剤を投与したレシピエントラットの大腿動静脈を吻合した。6ヶ月後、卵巢をドナーラットの腹部に再移植したところ、自然妊娠し、出産に成功した（図2）。産子数は4匹で、すべて正常であった。血管吻合を行わずにレシピエントラットに移植した卵巢（非血管吻合群）と、血管吻合を行って移植した卵巢（血管吻合群）と、ドナーラットに再移植した血管吻合を行なった卵巢をHE染色で組織学的に解析した。血管吻合群は卵胞も、卵胞の発育や成熟に必要な顆粒膜細胞も構造的に保たれていた。血管吻合を行わなかったグループでは卵巢の中央部分が壊死しており（図3C）、構造が崩れた、質が低いと思われる卵胞が残存するのみであった。

ドナーラットのBMDをマイクロCTで測定すると、ラット大

腿骨BMDは卵巢摘出後に減少したが、卵巢を再移植すると再び増加した（図4）。

考察

我々の研究結果から、一時的卵巢移植が卵巢に障害を与えることなく臓器を温存できる画期的な手法であることが示された。組織学的にも移植後の卵巢の構造が十分に保たれていた。これは、動物やヒトで凍結卵巢の移植が実施されているが、内分泌機能の回復や妊孕性の温存を、ごく一部に残存している卵胞に依存するという臨床応用におけるリスクを回避できるということを示している。また、細断した卵巢は通常一年以内に機能を失うため再移植が必要となるが、この手法は全卵巢を移植することが前提であり、凍結処理も不必要なため、卵巢の全機能を温存することができる。これまでも自家移植で卵巢移動術による卵巢機能の温存方法が臨床でも実施されているが⁶⁻⁸⁾、全身放射線療法による生殖機能障害は避けられない。

その一方で、卵巢を温存するためには、健康なレシピエントに免疫抑制剤を投与する必要があるという、倫理的な問題が残っている。しかしながら、移植は一時的であるため、免疫抑制剤を投与するのは短期間（2、3年間）でかまわない。また、皮下移植によって拒絶反応を引き起こしたり、免疫抑制による副作用が見られた場合、すぐに休薬のような処置を施すことができる。さらに、免疫抑制剤が出産や妊娠に与える影響について研究されており^{3、9、10)}、シクロスポリンによって重篤な合併症が起こるという証拠は出なかった¹¹⁾。また、河合らによって免疫抑制剤を必要としない移植方法が研究されている¹²⁾。自家移植のため、ドナーへの再移植には免疫抑制剤の投与は必要ない。

この手法の2番目の問題は、癌患者の組織を移植することで癌細胞も移植するかもしれないことである。この問題は、この治療法を良性再生不良貧血患者に限定し、もしくは白血病患者であれば寛解期に移植することでリスクを最小限に抑えられる。



図4 大腿骨BMT解析

卵巢移植前後の大腿骨BMTをマイクロCTで測定した。卵巢摘出により大腿骨BMTが減少し、卵巢再移植によりBMTが回復した。A：卵巢摘出前ラット。B：両側卵巢摘出後ラット。C：卵巢再移植後ラット。

結論

生きているドナーとレシピエントの間での一時的な生殖器移植というのは、臓器機能を温存するという新しいコンセプトを持った治療方法である。生命に危険のない生殖器機能の再建においては、妊娠、出産、そして移植においてリスクを最小限に抑えるために移植を一時的な手法に制限することが重要である。生きているドナーとレシピエントの間での卵巣移植は、凍結保存できる精子も卵もない性成熟前の子供たちにとっては代替可能な治療方法でもある。生殖器の一時的移植によって、移植完了後、半永久的に内分泌機能が妊孕性といった卵巣機能が温存される。従って、癌治療終了後、不妊治療やホルモンの経口投与をする必要もなくなり、患者は普通の生活を送ることを期待できる。

また、将来的には医療分野以外にも一時的卵巣移植の応用が考えられる。哺乳動物は生殖器を2個保有しており、1個は移植用に使える。そのため、閉経後も保存していた卵巣を移植することで、家畜動物や競走馬の繁殖効率率が2倍になるかもしれ

ない。つまり生殖器移植は、癌治療における新たな時代の幕開けとなるだけでなく、絶滅危惧種や優秀な家畜動物や競走馬の繁殖や種の保存といった、農学分野においても極めて効果的な技術となる可能性を持っている。

〈争点1 倫理的問題〉

健康なドナー（母親）に免疫抑制剤を投与してもいいのか？

〈争点2 副作用、免疫抑制剤による催奇形性〉

余分な卵巣を移植することでドナーに副作用はないのか？

免疫抑制剤による催奇形性の危険性はないのか？

未成熟な卵巣への影響はないのか？

〈争点3 母娘間の卵巣移植の危険性〉

ドナーとレシピエントの組織が混在している移植卵巣組織をどのようにレシピエントに再移植するのか？

レシピエントが卵巣を3個保有した時の影響は？

癌細胞も移植する危険性をどのように回避するのか？

●文献

- 1) Shalet SM : Effects of cancer chemotherapy on gonadal function of patients. Cancer Treat Rev, 1980;7 (3) :141-52.
- 2) Wallace WH, Thomson AB : Preservation of fertility in children treated for cancer. Arch Dis Child, 2003;88 (6) :493-6.
- 3) Wallace WH, Anderson RA, Irvine DS : Fertility preservation for young patients with cancer; who is at risk and what can be offered? Lancet Oncol, 2005;6 (4) :209-18.
- 4) Bedaiwy MA, El-Nashar SA, El Saman AM, et al : Reproductive outcome after transplantation of ovarian tissue: a systematic review. Hum Reprod, 2008;23 (12) :2709-17.
- 5) Demeestere I, Simon P, Emiliani S, et al : Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. Hum Reprod Update 2009.
- 6) Leporrier M, von Theobald P, Roffe JL, et al : A new technique to protect ovarian function before pelvic irradiation. Heterotopic ovarian autotransplantation. Cancer, 1987;60 (9) :2201-4.
- 7) Bisharah M, Tulandi T : Laparoscopic preservation of ovarian function; an underused procedure. Am J Obstet Gynecol, 2003;188 (2) :367-70.
- 8) Hilders CG, Baranski AG, Peters L, et al : Successful human ovarian autotransplantation to the upper arm. Cancer, 2004;101 (12) :2771-8.

- 9) Sonmezer M, Oktay K : Fertility preservation in female patients. Hum Reprod Update, 2004;10 (3) :251-66.
- 10) Brougham MF, Wallace WH : Subfertility in children and young people treated for solid and haematological malignancies. Br J Haematol, 2005;131 (2) :143-55.
- 11) Shakil T, Snell A, Whitehead SA : Effects of lipopolysaccharide and cyclosporin on the endocrine control of ovarian function. J Reprod Fertil, 1994;100 (1) :57-64.
- 12) Kawai T, Cosimi AB, Spitzer TR, et al : HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression. N Engl J Med, 2008;358 (4) :353-61.

●参考website

- ・ がんの子供を守る会
<http://www.ccaj-found.or.jp/>
- ・ 日本小児血液学会
<http://www.jsph.info/>
- ・ 東京大学学術連携研究会
<http://gakujutu.umin.jp/>
- ・ 東大医学部超微小血管外科研究室より
<http://blog.goo.ne.jp/iryokaikaku>