

学位授与番号：乙 3214 号

氏 名：鴨下 桂子

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 30 年 2 月 28 日

学位論文名：

Investigation of in vitro parameters and fertility of mouse ovary after storage on optimal temperature and duration for transportation.

（卵巣輸送の際の保存条件および至適温度における輸送時間がマウスの妊孕能に与える影響の検証）

学位論文審査委員長：教授 岡部正隆

学位論文審査委員：教授 岩楯公晴 教授 颯川晋

# 論文要旨

氏 名	鴨下 桂子	指導教授名	岡本 愛光
-----	-------	-------	-------

## 主論文

Investigation of in vitro parameters and fertility of mouse ovary after storage on optimal temperature and duration for transportation.

(卵巣輸送の際の保存条件および至適温度における輸送時間がマウスの妊孕能に与える影響の検証)

Keiko Kamoshita, Naoki Okamoto, Mariko Nakajima, Takayuki Haino, Kouhei Sugimoto, Aikou Okamoto, Yodo Sugishita, Nao Suzuki  
Human Reproduction. 2016; 31(4):774-781.

## 要旨

【背景・目的】現在発展を続けるがん・生殖医療であるが、なかでも卵巣組織凍結は、世界中で臨床応用と技術改革が行われており重要な治療法として注目されている。欧州では卵巣組織凍結の際、摘出卵巣は氷上で一晩かけて凍結可能な施設へ輸送されることが多いが、輸送の際の卵巣の保存条件が妊孕能に与える影響を評価した基礎実験の報告はない。本研究では至適温度で保存したマウス卵巣の保存時間が妊孕能に与える影響を検証した。

【方法】4週齢の C57BL/6J マウスから摘出した卵巣を、先行実験にて分かった至適保存温度（4℃）条件下にて、保存時間を 0 時間（コントロール）、4 時間、8 時間、24 時間の 4 群に分けて組織学的評価を行った。評価方法としては HE 染色、タネル法、Ki67 染色、電子顕微鏡検査と卵胞カウントを用いた。さらに保存後のそれぞれの卵巣を 6 週齢の C57BL/6J マウスに同所移植し、体外受精胚移植法にて妊孕能の評価を行った。妊孕能は MII 卵獲得数、受精率、胚発生率、着床率、産仔獲得率を用いて評価し、摘出直後の卵巣と各群を比較した。

【結果】4℃条件では MII 卵獲得数、受精率、胚盤胞到達率は保存時間の延長に伴う有意な差を認めなかった。着床率は、コントロール群で 82.7 (±17.3) %、4 時間群は 82.2 (±7.7) %、8 時間群は 14.6% (±14.6)、24 時間群は 4.4 (±4.4) %であった。なお 8 時間群と 24 時間群はコントロール群と比較して着床率は有意に低下した（ $p < 0.05$ ）。一方産仔獲得率は、コントロール群で 24.8 (±13.2) %、4 時間群は 23.9 (±6.6) %、8 時間群は 4.2 (±4.2) %、24 時間群は 4.4 (±4.4) %であった。8 時間群と 24 時間群はコントロール群と比較して産仔獲得率は有意に低下した（ $p < 0.05$ ）。

【結論】マウスにおいて卵巣組織の保存時間の延長は妊孕能を低下させることが証明された。つまり卵巣組織凍結の際は、卵巣摘出直後に同じ施設で凍結するか、あるいは卵巣の輸送時間を極力短時間とすることが望ましい。

## 学位論文審査結果の要旨

鴨下氏の学位申請論文は、主論文1編からなり、主論文は「Investigation of in vitro parameters and fertility of mouse ovary after storage on optimal temperature and duration for transportation」という題名の英文論文で、岡本愛光教授の指導のもとに作成され、2016年に[Human Reproduction](#)誌（IF= 5.002）に発表されました。テーシスの日本語での題名は「卵巣輸送の際の保存条件および至適温度における輸送時間がマウスの妊孕能に与える影響の検証」であります。以下、主論文の要旨と審査委員会の審査結果をご報告いたします。

去る平成30年2月13日、岩楯公晴教授、潁川晋教授のご臨席のもと、公開学位審査会を開催し、鴨下氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を行った。席上、

- ・低温での保存に関して、水産技術における鮮度保持の方法論の応用は考えなかったのか？
- ・至適温度の検証は4度周辺で1度刻みに検証すべきではなかったか？
- ・卵巣摘出後に十分な脱血を行った方が効果的ではなかったか？
- ・摘出卵巣の保存液の組成に関しては他にも検討したのか？
- ・卵巣の異所移植を行うとどのような病理的変化が生じるのか？
- ・卵巣の異所移植による性周期の回復率はどのくらいか？
- ・抗がん剤が卵胞にもたらす影響はどのようなものか？
- ・アポトーシスや細胞増殖以外に、低酸素や低栄養の指標は検討しなかったのか？
- ・マウスの原始卵胞が成熟する期間はどのくらいか？
- ・なぜ卵巣の皮質だけを剥離して培養しなかったのか？
- ・胚盤胞達成率と着床率や産仔獲得率が乖離した原因はどのようなことが考えられるのか？
- ・マウス血清の中に原始卵胞の老化を防ぐ因子がある可能性は？

など多くの質問があったが、鴨下氏はいずれの質問に対しても、主論文に記載しなかった観察結果や過去の文献での記載を引用しながら回答した。

その後、岩楯公晴教授、潁川晋教授と慎重に審議した結果、本研究は、卵巣輸送の際の保存至適温度の検証と、至適温度で保存したマウス卵巣の保存時間が妊孕能に与える影響を検証し、今後のがん・生殖医療の発展に大きく寄与するものとして、学位申請論文として十分価値あるものと認めた次第である。