

## 卵巣組織凍結方法の新たな展開 —ガラス化法—

近年、ヒト卵巣組織におけるガラス化法による基礎的研究報告も散見されている。Hovattaらは、ヒト卵巣組織(帝王切開時に提供：n=20)を緩慢凍結法(プロパンジオール、エチレングリコールの2群)あるいはガラス化法(プロパンジオール、エチレングリコールの2群で凍結保護剤への浸漬を5分、10分)で凍結した後、1~15週間後に融解した各群で卵子、顆粒膜細胞、間質細胞の形態学的変化を光学顕微鏡、電子顕微鏡を用いて評価している<sup>10)</sup>。その結果、ガラス化法と緩慢凍結法の比較では卵胞への影響に差が認められなかった一方、ガラス化法で間質の形態が有意に良好であったと報告している。さらに近年 Amorimらも、ヒト卵巣組織を用いたガラス化法[エチレングリコールとトレハロースとウシ胎仔血清(FBS)を用いた溶液]を組織学的に評価しており、長年緩慢凍結法による卵巣組織凍結を行ってきた Donnezらのグループもガラス化法の臨床への応用を模索している<sup>7)</sup>。具体的には、22~35歳までのヒト卵巣組織を用いて(n=9)、ジメチルスルホキシド(DMSO)+スクロース、エチレングリコール+DMSO、そしてエチレングリコール+トレハロースの3群で非凍結卵巣組織の対照群と組織学的手法を用いて比較検討を行っている。その結果、エチレングリコール+トレハロース群が最も組織学的に対象群と同等であったという。なお、凍結デバイスは閉鎖式と開放式で比較した結果、開放式でよりよい結果が得られている。さらに、Amorimらは30~41歳までのヒト卵巣組織を緩慢凍結法ならびに2種類のガラス化法[エチレングリコール+DMSO、エチレングリコール+DMSO+ポリビニルピロリドン(PVP)+スクロース]により凍結後、ヌードマウスに異種移植

し1週間後にTUNEL法にてヒト前胞状卵胞のアポトーシスで凍結法を評価している<sup>11)</sup>。その結果、卵胞の形態は高い確率(約60%)で保たれており、3群間で差が認められなかったが、TUNEL法による解析の結果、卵胞のアポトーシスはガラス化法で有意に低い傾向が認められたという(特にエチレングリコール+DMSO+PVP+スクロース)。一方、間質には線維化が認められたが各群間で差はなく、さらにTUNEL解析においても各群間の差が間質では認められなかった。

その他、ガラス化法が卵子の生存率も高く(緩慢凍結法42% vs ガラス化法89%)<sup>12)</sup>、ラットの実験モデルにおいて単位面積あたりの卵胞数が多いという結果であったものの(ガラス化法：DMSO)<sup>13)</sup>、臨床における優位性はまだ証明されていない。そこで、われわれの研究グループ(IVFなんばクリニック：森本義晴、橋本 周、矢持隆之、近畿大学生物理工学部遺伝子工学科：細井美彦、イブバイオサイエンス研究所：竹之下誠、聖マリアンナ医科大学産婦人科学：石塚文平、五十嵐豪、洞下由記、高江正道、杉下陽堂、星名真理子)は2006年以降霊長類であるカニクイザルを用いた前臨床試験(ガラス化法による新しい卵巣組織凍結方法の開発)を開始し、新デバイスであるクライオサポートを用いたガラス化法を開発し、霊長類ではじめてガラス化法(エチレングリコール+PVP+スクロースを用いた溶液)を用いた自家移植卵巣組織から質の高い卵子の採取と、顕微授精による受精卵の獲得に成功している<sup>14)-16)</sup>。なお、エチレングリコールは最も一般的に使用される浸透性の耐凍剤で、細胞毒性が低く、浸透も速いとされている。また、非浸透性耐凍剤であるPVPや糖類(スクロース)などの高分子物質は、細胞を効果的に脱水させ、耐凍剤による曝露時間を減少させると考えられており、耐凍剤による曝露時間の減少は卵巣組織内の卵母細胞の生存能力を支えるために不可欠となってくる。以上より、われわ

表2 ガラス化法溶液の組成内容比較

Hashimoto ら <sup>14)</sup>	5.64M(35% v/v)EG+ 5 % PVP+0.5M スクロース 平衡時間：5分
Hovatta ら <sup>10)</sup>	0.38M EG+0.35M DMSO+0.38M PrOH 0.75M EG+0.7M DMSO+0.75M PrOH 1.5M EG+1.4M DMSO+1.5M PrOH 平衡時間：5分あるいは10分
Amorim ら <sup>11)</sup>	26% EG+10% DMSO+2.5% PVP+ 1 M スクロース 平衡時間：11分

EG：エチレングリコール、PrOH：プロパンジオール

これは表2に示すガラス化法溶液を用いて卵巣組織凍結を行っている。

現在、聖マリアンナ医科大学倫理委員会によって承認された臨床試験「若年女性がんおよび免疫疾患患者のQOL向上を志向した卵巣組織凍結ならびに自家移植」を進め、本邦ではじめて臨床応用を開始し、2013年3月現在、57症例(早発卵巣機能不全症例も含む)に対して卵巣組織凍結を施行している。将来ガラス化卵巣を用いた妊孕性温存療法によって生児が獲得された暁には、本技術の評価が卵巣組織凍結という妊孕性温存療法の再評価として重要となる。

### 卵巣組織凍結に関する指針

欧米では、腫瘍医と産婦人科医、そして患者間におけるがん・生殖医療(oncofertility treatment)に関する情報共有のネットワークがすでに2006年以降構築されている。一方、本技術の臨床応用への成功を機に、International Society for Fertility Preservation (ISFP：初代ISFP会長Donnez)による第1回会議(World Congress on Fertility Preservation)が2009年にベルギーで開催され、2年に1度世界中の研究者が集まり議論を展開している。そして、ISFPの2代目会長のKimらにより「若年がん患者に対する妊孕性温存

療法の推奨」が2012年6月に「Journal of Assisted Reproduction and Genetics」誌に掲載され、本推奨が若年がん患者の妊孕性温存療法に関する最新の指針となっている<sup>17)</sup>。ISFP推奨の適応疾患(がん)はリンパ腫と乳がんとなっており、一方白血病は卵巣内におけるがん細胞の存在の可能性によって適応から除外されている。しかし、リンパ腫に対する標準的化学療法であるABVD療法(アドリアマイシン、ブレオマイシン、ビンブラスチン、ダカルバジン)は卵巣機能不全に対してリスクの低い治療法であることから、リンパ腫は骨髄移植/造血幹細胞移植施行症例かあるいは緊急的な妊孕性温存療法として行う場合にはオプションとして卵巣組織凍結が適応となるとしている。一方、卵巣機能不全のリスクが高い治療法を受ける思春期前のリンパ腫患者に対しては卵巣組織凍結が唯一の妊孕性温存療法となる。

一方、2006年に米国臨床腫瘍学会(The American Society of Clinical Oncology：ASCO)は、がん患者における妊孕性温存に関する指針を示している<sup>18)</sup>。そのなかですでに確立された治療法として胚凍結、放射線療法時の卵巣遮蔽、卵巣位置移動術などが記されており、卵凍結や卵巣組織凍結、GnRHアナログやアンタゴニストによる卵巣機能の保護は臨床試験の段階の技術として記されている<sup>18)</sup>。ASCOのがん患者における妊孕性温存

に関するガイドラインは近日中に見直しが計画されているが(Oktay 私信), しかし oncofertility という概念の生みの親でもある米国の Woodruff が構築した Oncofertility コンソーシアムにおいても, 卵巣組織凍結は研究的技術ではあるが早急に妊孕性温存を考慮する際の最高のオプションとなりうると推奨されている。Oncofertility コンソーシアムにおける卵巣組織凍結の適応外疾患は白血病, リンパ腫そして卵巣がんとなっている<sup>19)</sup>。一方, 2006年に世界ではじめてのがん患者の妊孕性温存ネットワークとして構築されたドイツ語圏を中心とした FertiPROTEKT<sup>20)</sup>でも, 卵巣組織凍結の適応外疾患として白血病と卵巣がんを挙げている。凍結卵巣を移植する際には卵巣組織内の微小残存がん病巣(minimal residual disease: MRD)が問題となることから適応疾患を慎重に選択すべきであり, 白血病では組織所見ならびに免疫組織化学染色で MRD が認められなかった症例の75%で染色体異常が PCR 法にて検出されたとの報告もあることから<sup>21)</sup>, これまで述べてきたように白血病は卵巣組織凍結の適応とはならない。また Andersen らによる同様の報告も存在し, 免疫組織染色にて残存腫瘍細胞が陰性であった組織に対して real time qPCR を施行した結果, 7例中4例が陽性であったという<sup>22)</sup>。しかしこれらの組織をヌードマウスに移植し, 5ヵ月後のがん細胞の再発について検索を行ったが, real time qPCR では再発を確認できなかったことから, ニューマウスへの移植によって悪性腫瘍の発生の有無を確認する実験系の限界が示唆されている<sup>23)</sup>。

乳がんに関しては, 初期の乳がん患者51症例の HE ならびに WT-1 を用いた免疫組織化学染色による報告では, 卵巣組織に転移は認められなかったという結果もある<sup>23)</sup>。現在, 欧米においては進行乳がん患者が妊孕性温存療法の適応とならないことから, 卵巣組織凍結適応となる乳がん患

者は卵巣への転移に関して安全であるとされており, 乳がん患者が卵巣組織凍結保存の適応疾患の上位となっている。

### おわりに —がん・生殖医療における 卵巣組織凍結・移植の実践—

Donnez による, はじめての卵巣組織凍結施行の報告から15年が経過し, はじめての生児獲得の報告から9年が経過した現在, 欧米では本技術はすべての若年女性がん患者への選択肢として提供すべき医療行為となっている。そして, 卵巣組織凍結が可能な施設が本邦でも増えつつある。最新の指針である世界の21の主要がんセンターの NPO 団体である National Comprehensive Cancer Network (NCCN) の Adolescent and Young Adult (AYA: 思春期・若年成人, 15~39歳が対象) Oncology ガイドライン(2012年版, 患者向けは2013年版<sup>24)</sup>)では, 卵巣組織凍結は卵子凍結と GnRH アナログによる卵巣保護と同様に, 依然として本法は実験的段階の診療であると記されている。しかし, 卵巣組織凍結保存はより多くの卵子を保存できるだけでなくエストロゲン分泌によるホルモン補充ができるというメリットがあり, 妊孕性の温存だけでなく卵巣欠落症状の改善やエストロゲン低下による心血管系障害の予防や骨密度低下を緩和することができる可能性も有している。さらに, 卵巣組織凍結による妊孕性温存療法は, 目の前の恐怖と不安のなかでがん治療に臨む若年がん患者の精神的支えとなる可能性もある。今後, より至適な卵巣組織凍結法が開発され, 一方でその技術が高い倫理観をもって臨床応用される考え方が, 医師のみならず患者にも浸透することが望まれる。

## 文 献

- 1) Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, et al : Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* **364** : 1405-1410, 2004
- 2) Donnez J, Silber S, Andersen CY, et al : Children born after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue. A review of 13 live births. *Ann Med* **43** : 437-450, 2011
- 3) Dolmans MM, Donnez J, Camboni A, et al : IVF outcome in patients with orthotopically transplanted ovarian tissue. *Hum Reprod* **24** : 2778-2787, 2009
- 4) Greve T, Schmidt KT, Kristensen SG, et al : Evaluation of the ovarian reserve in women transplanted with frozen and thawed ovarian cortical tissue. *Fertil Steril* **97** : 1394-1398, 2012
- 5) Schmidt KT, Rosendahl M, Ernst E, et al : Autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue in 12 women with chemotherapy-induced premature ovarian failure ; the Danish experience. *Fertil Steril* **95** : 695-701, 2011
- 6) Nottola SA, Camboni A, Van Langendonck A, et al : Cryopreservation and xenotransplantation of human ovarian tissue : an ultrastructural study. *Fertil Steril* **90** : 23-32, 2008
- 7) Amorim CA, David A, Van Langendonck A, et al : Vitrification of human ovarian tissue : effect of different solutions and procedures. *Fertil Steril* **95** : 1094-1097, 2011
- 8) Donnez J, Jadoul P, Pirard C, et al : Live birth after transplantation of frozen-thawed ovarian tissue after bilateral oophorectomy for benign disease. *Fertil Steril* **98** : 720-725, 2012
- 9) Van Eyck AS, Bouzin C, Feron O, et al : Both host and graft vessels contribute to revascularization of xenografted human ovarian tissue in a murine model. *Fertil Steril* **93** : 1676-1685, 2010
- 10) Keros V, Xella S, Hultenby K, et al : Vitrification versus controlled-rate freezing in cryopreservation of human ovarian tissue. *Hum Reprod* **24** : 1670-1683, 2009
- 11) Amorim CA, Dolmans MM, David A, et al : Vitrification and xenografting of human ovarian tissue. *Fertil Steril* **98** : 1291-1298, 2012
- 12) Silber S, Kagawa N, Kuwayama M, et al : Duration of fertility after fresh and frozen ovary transplantation. *Fertil Steril* **94** : 2191-2196, 2010
- 13) Milenkovic M, Diaz-Garcia C, Wallin A, et al : Viability and function of the cryopreserved whole rat ovary : comparison between slow-freezing and vitrification. *Fertil Steril* **97** : 1176-1182, 2012
- 14) Igarashi S, Suzuki N, Hashimoto S, et al : Heterotopic autotransplantation of ovarian cortex in cynomolgus monkeys. *Hum Cell* **23** : 26-34, 2010
- 15) Hashimoto S, Suzuki N, Yamanaka M, et al : Effects of vitrification solutions and equilibration times on the morphology of cynomolgus ovarian tissues vitrified ultra-rapidly by direct plunging into liquid nitrogen. *Reprod Biomed Online* **21** : 501-509, 2010
- 16) Suzuki N, Hashimoto S, Igarashi S, et al : Assessment of long-term function of heterotopic transplants of vitrified ovarian tissue in cynomolgus monkeys. *Hum Reprod* **27** : 2420-2429, 2012
- 17) ISFP Practice Committee : Kim SS, Donnez J, BarriP, et al : Recommendations for fertility preservation in patients with lymphoma, leukemia, and breast cancer. *J Assist Reprod Genet* **29** : 465-468, 2012
- 18) Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, et al : American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol* **24** : 2917-2931, 2006
- 19) Oncofertility Consortium ウェブサイト (<http://oncofertility.northwestern.edu/>)
- 20) FertiPROTEKT ウェブサイト (<http://www.fertiprotekt.de/>)
- 21) Ajala T, Rafi J, Larsen-Disney P, et al : Fertility preservation for cancer patients ; a review. *Obstet Gynecol Int* **2010** : 160386, 2010
- 22) Greve T, Clasen-Linde E, Andersen MT, et al : Cryopreserved ovarian cortex from patients with leukemia in complete remission contains

- no apparent viable malignant cells. *Blood* **120** : 4311-4316, 2012
- 23) Rosendahl M, Timmermans Wielenga V, Nedergaard L. et al : Cryopreservation of ovarian tissue for fertility preservation : no evidence of malignant cell contamination in ovarian tissue from patients with breast cancer. *Fertil Steril* **95** : 2158-2161, 2011
- 24) NCCN Guidelines for Patients<sup>®</sup> ; Caring for Adolescents and Young Adults ([http://www.nccn.org/patients/patient\\_guidelines/aya/](http://www.nccn.org/patients/patient_guidelines/aya/))

# 若年女性がん患者に対する 妊孕性温存治療のトピックス

卵巣組織凍結・移植

杉下 陽堂 鈴木 直

## はじめに

若年がん患者の罹患率は近年増加傾向を示しているが、手術療法、化学療法そして放射線療法などを中心とした集学的治療や診断方法の進歩などに伴い、その治療成績は向上してきており、多くのがん患者の生存率が改善してきている<sup>1)</sup>。しかし一部の若年女性がん患者は治療によって原疾患が寛解するものの、後に閉経の早期発来や妊孕性消失など、女性としてのQOLの低下といった問題を抱える<sup>2)</sup>。女性がん患者の8%が40歳以下の若年女性であるという報告があり<sup>3)</sup>、若年女性がん患者は化学療法や放射線療法によって卵巣機能不全に陥る可能性がある。

そこで若年女性がん患者において化学療法や放射線治療前に卵子や卵巣を体外に取り出し、その影響を回避する方法が検討されてきた。体外授精技術が進んだことで、受精卵を凍結することは今では問題なく実施されており、がんに対する集学的治療の影響を回避するための妊孕性温存治療として受精卵凍結が実施されている。しかし若年女性がん患者が必ずしも既婚者とは限らず、未婚女性に対しては卵子凍結を実施せざるを得ない。成熟卵子は細胞体積が大きく球形であるため、単位体積あたりの表面積が最小となり、浸透圧変化による物理的影響を受けやすく、原形質膜透過性が低いことや染色体

の異常をきたしやすいために卵子凍結による出産成功例がきわめて少ないとされてきた<sup>4)</sup>。ここ最近の報告では卵子凍結融解後の妊娠、分娩は受精卵凍結後の妊娠率と比較すれば低いものの、以前に報告されていた数パーセントという数値ではなくなりつつあり、具体的にはRienziら<sup>5)</sup>は15.8%と報告している。がん患者に対して胚凍結ならびに卵子凍結を施行する際、ほとんどの場合化学療法が導入されるまでの期間が短期間であることから、1周期もしくは2周期で得られる卵の数で、将来の妊孕性を確実に温存できるかどうかの問題となってくる。

一方、2004年にDonnezら<sup>6)</sup>によってヒトで初めて卵巣組織凍結後、自家移植により生児を獲得したという報告がなされた。現在まで9年の歳月が経過し、論文として公表されている生児は約20名である。卵巣組織凍結では卵巣皮質を凍結保存するため、通常の卵子凍結と比較するとはるかに多い卵子数を確保できることとなる。しかし実際に卵巣組織を移植し、生着後月経周期が再開し、排卵を開始するかどうか大きな問題となってくる。

本稿では、若年女性がん患者に対する妊孕性温存治療に関する最近のトピックスを概説する。

## 妊孕性温存治療に関する世界の現状

現在、妊孕性温存に向けたルール作りを考え

すぎたようどう、すずきなお：聖マリアンナ医科大学産婦人科学（〒216-8511 神奈川県川崎市宮前区菅生2-16-1）

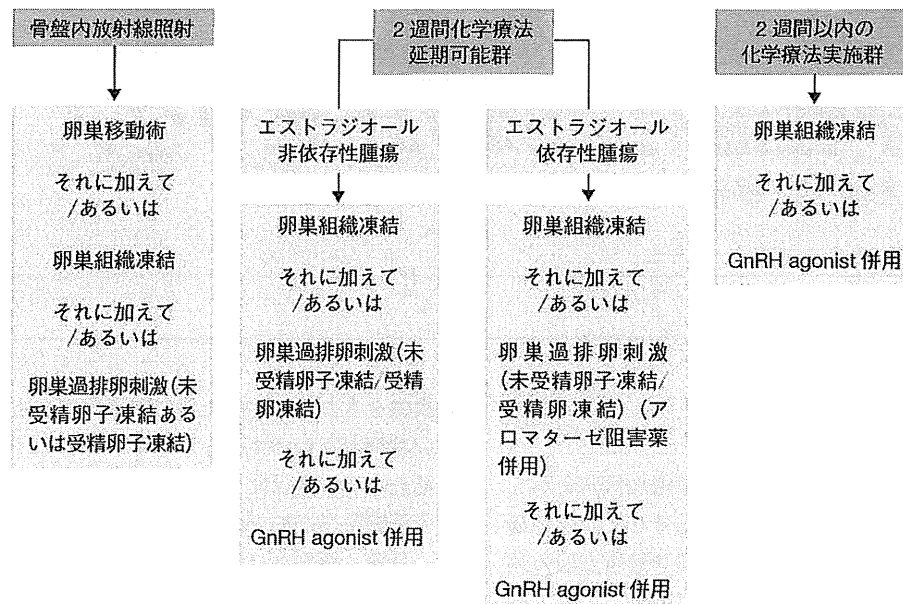


図1 妊孕性温存治療の指針

(文献9より引用改変)

ている団体が、少なくとも世界に3団体存在している。初代代表 Donnez らによって設立された ISFP (International Society for Fertility Preservation) は、現在 Barri Pedro 代表を中心として世界中の著名な研究者を主に構成され、2年に1回のシンポジウム (World Congress of Fertility Preservation: 第3回 WCFP は2013年11月スペイン、バレンシアにて) を開催し、活発な議論を展開している。ISFPでは2012年5月に『リンパ腫、白血病、乳癌患者における妊孕性温存のための指針』<sup>7)</sup>としてガイドラインを提唱している。一方、アメリカの4つの大学 (ノースウエスタン大学、カルフォルニア大学サンディエゴ校、ペンシルベニア大学、オレゴン大学) を中心とし、Woodruffらが the Oncofertility Consortium という若年がん患者の妊孕性温存に取り組むための団体を立ち上げ、患者取り扱いについて『Oncofertility Medical Practice』というガイドラインを出版している<sup>8)</sup>。またドイツ、スイス、オーストリアのおよそ70施設を中心に Wolff らが FertiPROTEKT

という妊孕性温存に取り組むための団体を世界に先駆けて設立し、2011年3月にガイドライン『Fertility preservation in women』<sup>9)</sup>を発表している。若年がん患者に対する至適な妊孕性温存療法に関する指針作りが、世界中で議論されている現在、本稿では FertiPROTEKT のガイドラインを紹介する。

## FertiPROTEKT ガイドライン

2011年3月に提唱されたこのガイドラインの対象疾患は、乳癌、ホジキンリンパ腫、境界悪性卵巣腫瘍となっている。妊孕性温存治療を行う対象患者の年齢は、14~40歳と規定し、化学療法により重篤な卵巣機能不全を引き起こす可能性があると考えられ、かつ腫瘍専門医の同意が得られた患者にのみ実施されるとしている。さらに、妊孕性温存治療施行のための原疾患の治療の延期は禁じている。図1に妊孕性温存治療の指針を記す。本ガイドラインでは、妊孕性温存治療の対象すべてにおいて卵巣組織

	術後補助療法 手術後、化学療法前		術前補助療法 化学療法前、手術前	
	ホルモン レセプター陰性	ホルモン レセプター陽性	ホルモン レセプター陰性	ホルモン レセプター陽性
卵巣過排卵刺激 受精卵/未受精卵凍結	+	(+) (± レトロゾール)	(+) (± レトロゾール)	-
卵巣組織凍結	+	+	+	+
卵巣組織凍結 + 卵巣過排卵刺激 受精卵/未受精卵凍結	+	(+) (± レトロゾール)	(+) (± レトロゾール)	-
GnRH agonist 併用	+	(-)	+	(-)

図2 若年女性乳癌患者に対する妊孕性温存治療の指針

(文献9より)

凍結が推奨される治療として明記されており、特に緊急に化学療法を導入せざるを得ない状況下では、卵巣組織凍結が唯一の妊孕性温存治療となる。また特に罹患率の高い乳癌においては若年患者も少なくないことから、乳癌に対する詳細な指針が提示されている(図2)。

### ホルモン依存性疾患と微小残存癌病巣

妊孕性温存治療において、十分に注意し考慮しなければならない問題が2つある。すなわち、①ホルモン依存性腫瘍に対するARTの問題と、②卵巣への転移が予想される悪性疾患に対する卵巣組織凍結・移植の問題である。

### ホルモン依存性悪性疾患に対するARTの問題

乳癌などのホルモン依存性腫瘍に対して妊孕性温存療法(未受精卵、胚凍結)を実施する場合、FSH製剤による過排卵刺激を行うことで血中の女性ホルモン値(エストラジオール)が上昇し(ホルモン負荷)、その結果原疾患を悪化させてしまう懸念がある。しかし、卵巣組織凍結はホルモン負荷を実施せず組織凍結が行わ

れるため、エストラジオールが上昇し原疾患に影響を及ぼす可能性はない。FSH製剤による過排卵刺激を行うことでエストラジオール値が上昇することによって、どの程度原疾患に悪影響を及ぼすか否かに関する詳細なデータは存在していない現状、慎重な対応が望まれる。

採卵を行う際に実臨床の現場では、原疾患の診断の後、化学療法が導入されるまでの期間が短いことから、患者の月経周期のタイミングによっては1周期のみでしか妊孕性温存療法(未受精卵、胚凍結)を実施することができないケースが少なくない。この1度の採卵で得られた卵を利用し、妊娠をめざすこととなる。Mcavayら<sup>10)</sup>の報告によれば、737周期の体外授精周期を確認し、5個以下の卵子を獲得した場合と6~10個獲得した場合では、6~10個卵子を獲得した場合が有意に挙児を得られるという。また11個以上卵子を獲得した場合は6~10個卵子を獲得した場合と有意な差は認められていないと報告している。つまり妊孕性温存治療としての卵子獲得数は、10個を目指して獲得する必要がある。しかし、治療開始前に多くの卵子を獲得するために、原疾患の治療を不必要に遅らせることは禁忌であり、優先す



べきはがん治療であることを忘れてはならない。

次に、ホルモン依存性腫瘍に対する過排卵刺激の工夫に関して記す。FertiPROTEKTでは乳癌などホルモンレセプター陽性の場合には、術前化学療法前に過排卵刺激を実施し、卵子を獲得すべきではないと規定している。手術先行の術後化学療法の場合には過排卵刺激を実施可能としており、アロマトラーゼ阻害薬を使用しても良いとしている。現在、ホルモンレセプター陽性患者に対する卵子凍結時の過排卵刺激方法は、①通常の過排卵刺激を実施する<sup>11,12)</sup>、②アロマトラーゼ阻害薬を併用し過排卵刺激を実施する（エストラジオールが低値のまま採卵）<sup>13,14)</sup>、③アロマトラーゼ阻害薬を併用せず、エストラジオールが低値のまま実施する（未熟卵の状態で採卵を実施し、IVM-IVFを実施する）<sup>15,16)</sup>がある。アロマトラーゼ阻害薬併用過排卵刺激法は、IVFにおけるPoor Responder症例に対して応用する数日投与（3～5日間）する方法と、Oktayらが提唱する月経開始時より内服を開始し採卵直後まで継続投与することで、血中エストラジオール値を明らかに低値に押さえることができる方法がある<sup>13)</sup>。エストラジオール低値で採卵した場合MII卵子は得られるが、その卵を授精、胚発育させた時、成熟率、妊娠率や分娩率にどのように影響するのか、まだ報告はなされていない。またアロマトラーゼ阻害薬は問題が提起されているため慎重な対応が必要である。2005年Fertility and Sterility/the Conjoint Annual Meetingにて、Biljanらが過排卵刺激としてアロマトラーゼ阻害薬（レトロゾール）を用いた使用群では、運動神経ならび心奇形が有意に発現すると発表している<sup>17)</sup>。一方、Badwayらはアロマトラーゼ阻害薬（レトロゾール）は催奇形性を有しておらず、安全であると報告している<sup>18)</sup>。アロマトラーゼ阻害薬（レトロゾール）の血中薬物動態は2.5 mg投与した場合、内服後114時間経過することで血中半減期を迎え、336時間後には体内より消失する

と報告されている<sup>19)</sup>。一方、カナダでのPrescribing Information（2012年1月）のRevision dataでは、月経周期のある女性、妊婦、授乳期の女性に対し、催奇形性の可能性があるために使用すべきではないと改めて勧告している<sup>20)</sup>。アロマトラーゼ阻害薬による過排卵刺激を報告しているOktayらも短期的には安全であると、あえて「短期的」という言葉を用いている<sup>13)</sup>。アロマトラーゼ阻害薬を通常の認可薬同様に使用するにはまだ時期尚早であり、十分な検討が必要であり慎重に対応すべきである。

#### 卵巣への転移が予想される悪性疾患に対する卵巣組織凍結・移植の問題

卵巣組織に早期に癌細胞が転移していた場合、卵巣組織を融解・移植する際に悪性腫瘍を体内に再移入させてしまう危険性が考えられる。この状態を微小残存癌病巣（Minimal Residual Disease: MRD）と呼ぶ。Dolmansらは卵巣組織凍結を実施した6例のCMLおよび12例のALL患者の卵巣切片の一部に対し、組織学的検査、RT-PCRそしてSCIDマウスにその組織片を移植した結果、組織学的検査に病巣がないと判断したが、6例中2例にCMLの、10例中7例にALLの疾患遺伝子が検出され、その全例よりSCIDマウス移植組織より病巣を確認することができたと報告している<sup>21)</sup>。また一方で、Greveらは25名の白血病患者の卵巣組織切片を20週間SCIDマウスに移植し、うち7例はマーカーが陽性であり、7片のうち4片は組織切片がRT-PCR検査にて陽性組織であった。しかし25名の移植卵巣組織は移植後白血病病変をどの組織片も認めることはなかったと報告している<sup>22)</sup>。この結果だけでは組織病変のRT-PCRの信憑性について結論をづけることは困難であり、組織移植病変内のMRDは今後も検討が必要である。

## その他の疾患に対する妊孕性温存治療としての卵巣組織凍結

FertiPROTEKTではSLEに対しても妊孕性温存治療の必要性について説明し、63例が卵巣組織凍結を実施(2007~2011年)、3例は卵子凍結保存を実施したと報告している<sup>23)</sup>。またDonneyらによれば悪性疾患ではなく、良性疾患としての卵巣組織凍結を良性卵巣腫瘍、重症子宮内膜症、BRCA1もしくはBRCA2 mutation carriers、ターナー症候群、家族歴、化学療法が必要な良性疾患(SLE、リウマチ、Behçet's disease、ウェゲナー肉芽腫)、そして骨髄移植疾患(サラセミア、鎌形赤血球症、再生不良性貧血)等の疾患について実施を提案している<sup>24)</sup>。

## がん患者に対する妊孕性温存治療における国際カンファレンス2013 in 香港

2013年2月1~3日に香港にて、「がん患者に対する妊孕性温存治療における国際カンファレンス2013」が、本領域における国際的権威でもある香港のMiltonと米国のSilberによって開催された。3日間で計33講演に加え、発表演題ならびにポスター演題があり、アジアを中心に約400名ほどの参加者のもと熱い議論が交わされた。ここにいくつかのトピックスを記す。

イスラエルのMeirow(テルアビブ大学産婦人科)は、アルキル化剤によってある分子カスケードが動くことで原始卵胞の発育が促され、一方2次卵胞はアルキル化剤によるアポトーシスでダメージを受けることで、AMHによる卵胞発育の抑制が解除されるため、最終的に原始卵胞が枯渇するという「Burn Outメカニズム」を提唱した。一方、アルキル化剤によって動く分子カスケードを抑制することができるAS101を投与することで、卵巣機能保護に成功したという(マウス:未発表)。なお、

MeirowらはAS101によるマウス精巣保護に関する報告を2009年に発表している<sup>25)</sup>。次に、イスラエルのArav(Fertile SafeのCEO)は、未来の妊孕性温存方法としてDry-Bankingを発表した。Dry Bankingとは、組織を脱水させることによって乾燥状態にしつつ、組織の機能を残す技術(Lyophilization)である。本技術は宇宙食に応用されている技術である。つまり卵子を乾燥させることで脱水し、その後水分を戻すことで元の卵子になるという。すでにAravらはマウスで実験に成功しており、乾燥状態になった卵子を常温で保存することが可能になる技術である。Aravいわく、「細胞機能や染色体のダメージという問題がまだ解決していないために、すぐには臨床応用できない」としているが、液体窒素ではなく乾燥状態での将来の卵子保存の可能性を示唆した。

## 本邦における卵巣組織凍結・移植技術の現状

本邦では、確認できる範囲内で2013年8月現在卵巣組織凍結を実施している施設は、聖路加国際病院(緩慢凍結法)、順天堂大学病院(ガラス化法)、札幌医科大学病院(ガラス化法)、岐阜大学病院(ガラス化法)、滋賀医科大学病院(ガラス化法)そしてわれわれの施設(聖マリアンナ医科大学病院:ガラス化法)となっている。また、凍結卵巣を移植した施設は、順天堂大学病院と聖マリアンナ医科大学病院の2施設となっている。

1998年に初めてベルギーで卵巣組織凍結が開始され、2004年に初めて生児がベルギーで獲得されたが、すでに1,000例を超える卵巣組織凍結が海外では行われている。しかし、その登録や本技術の解析などがおろそかにされてきた経緯がある。ISFPでは近い将来卵巣組織凍結症例の登録を開始する予定であるという。一方、本邦では2012年11月3日に日本がん・生殖医療研究会(Japan Society for Fertility

Preservation : JSFP) が設立されたが, JSFP が中心となって, 世界に遅ればせながら本邦でも開始された卵巣組織凍結の症例登録・追跡調査を行い, 本技術の安全性や有効性を検討していく。

がん治療を最優先としつつ, 卵巣組織凍結技術の適応疾患を十分に検討することで, 緊急対応も可能である本技術は若年女性がん患者の福音となるものと期待する。

#### ● 文献

- 1) Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, et al : American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol* 24 : 2917-2931, 2006
- 2) Lutchman Sigh L, Davies M, Chatterjee R, et al : Fertility in female cancer survivors : pathophysiology, preservation and the role of ovarian reserve testing. *Human Reprod Update* 11 : 69-89, 2005
- 3) Donnez J, Martinez-Madrid B, Jadoul P, et al : Ovarian tissue cryopreservation and transplantation : a review. *Human Reprod Update* 12 : 519-535, 2006
- 4) Tham YL, Sexton K, Kramer R, et al : The rates of chemotherapy-induced amenorrhea in patients treated with adjuvant doxorubicin and cyclophosphamide followed by a taxane. *American Journal of Clinical Oncology* 30 : 126-132, 2007
- 5) Rienzi L, Cobo A, Ubaldi FM, et al : Consistent and predictable delivery rates after oocyte vitrification : an observational longitudinal cohort multicentric study. *Hum Reprod* 6 : 1606-1612, 2012
- 6) Donnez J, Silber S, Andersen C, et al : Children born after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue. A review of 13 live births. *Annals of Medicine* 43 : 437-450, 2011
- 7) JSFP practice Committee : Recommendations for fertility preservation in patients with lymphoma, leukemia, and breast cancer : *J Assist Reprod Genet* 29 : 465-468, 2012
- 8) Gracia C, Woodruff T (eds) : *Oncofertility Medical Practice*. Springer, 2012
- 9) von Wolff M, Montag M, Laurenz B, et al : Fertility preservation in women- a practical guide to preservation techniques and therapeutic strategies in breast cancer, Hodgkin's lymphoma and borderline ovarian tumours by the fertility preservation network FertiPROTEKT. *Arch Gynecol Obstet* 284 : 427-435, 2011
- 10) McAvey B, Zapantis A, Polotsky J, et al : How many eggs are needed to produce an assisted reproductive technology baby : is more always better? *Fertil Steril* 96 : 332-335, 2011
- 11) Knopman JM, Noyes N, Licciardi F, et al : Women with cancer undergoing ART for fertility preservation : a cohort study of their response to exogenous gonadotropin. *Fertil Steril* 91 : 1476-1478, 2009
- 12) Friedler S, Koc O, Ron-El R, et al : Ovarian response to stimulation for fertility preservation in women with malignant disease : a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 97 : 126-133, 2012
- 13) Reddy J, Oktay K : Ovarian stimulation and fertility preservation with the use of aromatase inhibitors in women with breast cancer. *Fertil Steril* 98 : 1363-1369, 2012
- 14) Domingo J, Guillen V, Garcia-Belasco A, et al : Ovarian response to controlled ovarian hyperstimulation in cancer patients is diminished even before oncological treatment. *Fertil Steril* 97 : 930-934, 2012
- 15) Das M, Shehata F, Holzer H, et al : Ovarian reserve and response to IVF and in vitro maturation treatment following chemotherapy. *Hum Reprod* 27 : 2509-2514, 2012
- 16) Shalom-Paz E, Almog B, Tan S, et al : Fertility preservation for breast-cancer patients using IVM followed by oocyte or embryo vitrification. *Repro BioMed Online* 21 : 566-571, 2010
- 17) Bilişan MM, Hemmings R, Brassard N, et al : The Outcome of 150 Babies Following the Treatment With Letrozole or Letrozole and Gonadotropins
- 18) Badway A, Aal IA, Abulatta M : Clomiphene citrate or letrozole for ovulation induction in women with polycystic ovarian syndrome. *Fert Steril* 92 : 849-852, 2009
- 19) フェマラ錠, 医薬品インタビューフォーム2010年1月
- 20) Prescribing Information『Femara』(letrozole tablets) Data of Revision : January 23, 2012 In Canada
- 21) Dolmans M, Marinescu C, Donnez J, et al : Reimplantation of Cryopreserved ovarian tissue from patients with acute lymphoblastic leukemia is potentially unsafe. *Blood* 116 : 2908-2912, 2010
- 22) Greve T, Clasen-Linde E, Andersen CY, et al : Cryopreserved ovarian cortex from patients with leukemia in complete remission contains no apparent viable malignant cells. *Blood* 122 : 4311-4316, 2012
- 23) Henes M, Henes JC, Laurenz B, et al : Fertility Preservation methods in young women with systemic lupus erythematosus prior to cytotoxic therapy : experienced from the FertiPROTEKT network. *Lupus* 21 : 953-958, 2012
- 24) Donnez J, Jadoul P, Dolmans MM, et al : Live birth after autotransplantation of frozen-thawed ovarian tissue after bilateral oophorectomy for benign disease. *Fertil Steril* 98 : 720-725, 2012
- 25) Carmely A, Meirou D, Sredni B, et al : Protective effect of the immunomodulator AS101 against cyclophosphamide-induced testicular damage in mice. *Hum Reprod* 24 : 1322-1329, 2009

## 5. がん・生殖医療 (Oncofertility)

吉岡伸人\* 高江正道\* 鈴木 直\*

近年、がん医療の進歩によって、がんを克服する患者 (cancer survivor) が増加する一方で、がん治療後の妊孕性の消失が問題となっている。若年がん患者に対する妊孕性温存に関する的確かつ迅速な情報提供ならびに診療提供が十分なされているとはいえ、温存できる妊孕性が消失しまっているケースや、最優先されるべき原疾患への治療がおろそかになっているケースが存在している可能性が示唆される。若年がん患者にとっては、がんの診断から治療開始までのごく限られた時間内で、妊孕性温存に対する意思決定が迫られることになる。このようながん患者を取り巻く医療環境をより良いものとするためにも、わが国におけるがん・生殖医療の医療連携ネットワークの構築が急務である。

### はじめに

1980年代以降、わが国において悪性新生物は死因の第一位であり、2009年がん死亡は244,105例を数える。近年、若年がん患者の罹患率増加に加え、がん医療全般における診断法、ならびに治療法の着実な進歩によって、がんを克服する患者 (cancer survivor) が増加している。しかし、小児を含む若年の患者に対するがん医療は、性腺機能不全、妊孕性の消失そして早期閉経などを引き起こすこととなり、女性として、あるいは男性としても生活の質 (QOL) が低下し、特に生殖にかかわる諸問題を抱えることになる<sup>1)</sup>。これらの問題に対し、2006年に Woodruffらは腫瘍学 (oncology) と生殖医学 (fertility) を組み合わせた、がん・生殖医療 (oncofertility) という概念を提唱した。1970年代以降、着実な進歩を遂げ続けてきた両者を結びつけることで、これまで顧みられることが少なかった『妊孕性の温存』という問題に着目し、原疾患の治療を妨げるような、もしくはエビデンスが不足した妊孕性温存治療に対して警鐘を鳴らした。海外では米国臨床腫瘍学会 (American Society of Clinical Oncology ; ASCO) が2006

年に初めて妊孕性温存に関する指針を発表し、ドイツの FertiPROTEKT (2006年, <http://www.fertiprotekt.de>) や米国で Oncofertility コンソーシアム (2007年, <http://oncofertility.northwestern.edu>) が、患者に対して基礎的な知識を啓発し、医療従事者に対してはがん・生殖医療の連携システムを構築している。また、妊孕性温存に関する国際機関として ISFP (International Society for Fertility Preservation) が2009年に設立され、妊孕性温存に関する指針を同様に作成している。欧米ではがん・生殖医療 (oncofertility) の領域が確立され始め、妊孕性温存の診療形態が見直されている。本稿では、がん・生殖医療の現状について、最近改訂された ASCO 2013の指針の情報も加えて概説する。

### 1. がん治療による妊孕性低下

若年がん患者や免疫疾患患者は、治療に使用する抗がん剤や放射線照射によって非可逆的な生殖機能障害を受ける可能性がある。抗がん剤は卵巣の委縮および原始卵胞数の減少を起こすとされている。この機序について、Wallaceらは卵胞顆粒膜細胞および卵胞周囲の毛細血管の

\* Nobuhito Yoshioka, Seido Takae, Nao Suzuki 聖マリアンナ医科大学産婦人科学

表1 抗がん剤の卵巣機能障害リスク

高度	シクロホスファミド イホスファミド ダカルバジン
中等度	シスプラチン カルボプラチン ドキソルビシン エトポシド
軽度または発生しない	アクチノマイシンD ビンクリスチン メトトレキサート フルオロウラシル プレオマイシン
データなし	パクリタキセル ドセタキセル ゲムシタピン イリノテカン

障害、卵巣実質の線維化を引き起こすことや、原始卵胞の発育抑制因子の減少により、原始卵胞のリクルートと枯渇が促進されるとしている<sup>2)</sup>。化学療法誘発性無月経(chemotherapy related amenorrhea)は、化学療法後1年以内に生じる3カ月以上の無月経と定義され、早発閉経となる場合もある。その発生頻度は患者の年齢、抗がん剤の種類、抗がん剤の投与量、治療前の卵巣予備能に依存すると考えられている<sup>3)</sup>。治療法別の性腺機能不全のリスクについてはASCOから報告されていて<sup>4)</sup>、同一レジメンであっても、当然年齢が上昇するほど卵巣機能不全を呈するリスクは高まる。臨床においては年齢に加え、卵巣予備能をふまえた上で卵巣機能への影響を予測する必要があるため、正確な評価は困難である。単剤でのリスクについては表1のように報告されている<sup>5)</sup>。特にアルキル化剤は強い卵巣毒性を有し、長期化しやすく、容量依存性であることが知られている。アルキル化剤はDNAに結合し、その修復機構を阻害することにより性腺を不可逆的に障害する。一方、放射線照射によって発生するラジカルは細胞のDNAを損傷させ、アポトーシスやネクロトーシスによる細胞死を引き起こす。細胞分

裂が盛んな卵巣は恒常的細胞再生系の組織であり、特に卵細胞は極めて高い放射線感受性を持つ。未熟卵胞内の卵細胞は、2 Gyの照射により卵胞発育が障害され、月経の一時的な停止が起こる。そして、4~5 Gyの1回照射もしくは合計5~20 Gyの複数回照射によって永続的な卵巣機能不全が引き起こされる<sup>6)</sup>。米国で行われた大規模疫学調査であるThe Childhood Cancer Survivor Study (CCSS)の報告では、思春期小児女性がん生存患者の生涯にわたる妊娠の可能性は、①視床下部/下垂体照射30 Gy以上で有意に49%低下し(RR 0.61, 95%CI: 0.44-0.83,  $p < 0.01$ )、②卵巣/子宮照射5~10 Gy以上では有意に41%低下し(RR 0.56, 95%CI: 0.37-0.85,  $p < 0.01$ )、10 Gy以上では82%も有意に低下する(RR 0.18, 95%CI: 0.13-0.26,  $p < 0.01$ )<sup>7)</sup>。Greenらは、さらにCCSSの視床下部・下垂体照射に関するデータを追跡し解析した結果、当初は30 Gy以上で思春期小児女性がん生存患者の生涯にわたる妊娠の可能性が有意に低下するとしていたが、22 Gy以上(22~27 Gy)で妊孕性消失のリスクが上昇すると新たに報告している<sup>8)</sup>。

## 2. 女性がん患者と妊孕性温存

### ■ 受精卵凍結

がん治療前の女性に体外受精により受精卵を凍結保存し、後日胚移植を行う方法は現時点で最も確立した妊孕性温存方法である。しかしながら、体外受精による受精卵凍結はわが国において既婚者のみで可能な方法であり、未婚や小児患者は対応外となる。また、採卵までに通常2~4週間の期間を要することから、治療開始まで時間的猶予のない患者には過排卵刺激方法の工夫が必要である。ホルモンレセプター陽性乳癌など過排卵刺激に関して慎重な対応を有する疾患もある。化学療法開始後の体外受精は、獲得卵子数の低下や、薬剤による先天異常発生のリスクの観点から推奨されていない。

### ■ 卵子凍結

卵子は凍結保護剤の浸透性の低さから、凍

結・融解のステップで障害を受けやすく、卵子凍結後の妊娠率は24%と低いとされ<sup>9)</sup>、2006年のASCOのガイドラインでは試験段階の技術とされていた。しかしながら受精卵凍結と比べ、廃棄される可能性(夫の離婚、死別後は廃棄が原則)、廃棄に伴う倫理的問題が少ない方法である。1986年に凍結卵子後の最初の出産例以来、これまでに1,000件以上の出産例が報告され、近年では卵子あたりの着床率が4~12%と考えられており、その成績は顕著に向上している。2012年のASRMの見解では『もはや試験的ではない技術』となり、2013年5月ASCOでも同様の見解が示されている。しかし、がん治療開始まで時間的猶予のない患者には過排卵刺激方法の工夫が必要である。また、経陰的操作が必要となるため小児がん患者には適応とはならない。

### ■ 卵巣組織凍結・移植

卵巣組織凍結保存後の出産は、2004年にベルギーのDonnezらの報告以来、20人強の出産例が報告されており、欧米では卵巣組織凍結・移植は新しい技術ではあるが、すでに臨床応用されるべき一般的な技術の1つであると認識されている<sup>10)</sup>。Donnezは「卵巣組織凍結は、早期閉経発来や緊急体外受精を施行しなければならない卵巣毒性を有する治療を受けるすべての若年女性がん患者に、選択肢として提供すべき医療行為である」と述べている<sup>11)</sup>。卵巣組織凍結保存は、より多くの卵子を保存できるだけでなくエストロゲン分泌によるホルモン補充ができるというメリットがあり、妊孕性の温存だけでなく卵巣欠落症状の改善やエストロゲン低下による心血管系障害の予防や骨密度低下を緩和することができる可能性も有している。

卵巣組織凍結保存に関して、凍結方法(緩慢凍結法またはガラス化法)や凍結組織片の大きさ、移植部位など各施設独自のプロトコルで行われており、優劣については、いまだ不明な点が多い。現在の標準的な凍結方法は緩慢凍結法であり、これまで卵巣組織凍結によって得られた生児は、すべて緩慢凍結法によるものであ

る。しかし、緩慢凍結法によって移植後の内分泌機能がどの程度維持されるかに関してはまだ十分に検証されておらず、採卵時のempty follicle増加や卵子の発育能の低下も明らかにされている<sup>12)</sup>。緩慢凍結法は、細胞外に形成される氷晶による細胞への物理的障害が予想されることから、融解後の卵胞発育過程における卵母細胞の発育と顆粒膜細胞の成熟のバランスが損なわれていると考えられている。以上より、緩慢凍結法による卵巣組織凍結・移植の成功率向上には限界がある一方で、欧米では緩慢凍結法によって数多くの卵巣組織凍結を行ってきた現状がある。

近年、ヒト卵巣組織におけるガラス化法による基礎的研究報告も散見される。Hovattaらは、ヒト卵巣組織を緩慢凍結法あるいはガラス化法で凍結・融解した後に形態学的評価を行っている。その結果、ガラス化と緩慢凍結法の比較では卵胞への影響に差が認められなかった一方、ガラス化法で間質の形態が有意に良好であったと報告している<sup>13)</sup>。AmoriumらはTUNEL法にて卵巣組織内のアポトーシスを解析し凍結法を評価している。その結果、卵胞の形態は両凍結方法ともに高い確率(約60%)で保たれており差が認められなかったが、卵胞のアポトーシスはガラス化で有意に低い傾向が認められたと報告している<sup>14)</sup>。一方、Donnezらは卵巣組織内の原始卵胞への凍結によるダメージの回避、すなわち卵巣組織凍結方法の改善も重要ではあるが、移植部位の選定も重要であると述べている。移植された卵巣組織の機能回復(再酸素化)には通常4~5日必要であると考えられており<sup>15)</sup>、再酸素化に重要な因子としては卵巣組織と移植部位による血管新生と血管網の存在である。現在、残存卵巣が存在する場合には、原則として同所性移植(残存卵巣)が選択される。一方異所性移植(腹膜など)が選択される場合には、一度移植予定の腹膜を切開し、わずかな卵巣組織片を移植した後に、再度実際の卵巣組織片を移植する2段階移植法が移植卵巣組織片の血管新生をより促進し、より良い再酸素化を作

り出す可能性があると考えられている<sup>16)</sup>。わが国においては、2013年5月の時点で7施設において卵巣組織凍結が各施設のIRB承認の下行われている。

### 3. 若年男性がん患者と妊孕性温存

生殖年齢にある若年男性がん患者に治療を行う際、性腺毒性を避けるため治療前に精子凍結施行を考慮すべきである。しかし現状は、①がん治療後に不妊症となる危険性について、②精子(場合により精巣組織)凍結保存による妊孕性温存について、③顕微授精を用いたがん治療後の妊娠方法など、に関する正確なインフォームドコンセントが行われない事例が多数存在している。ほとんどの男性がん患者は精子の凍結保存が可能であるが、実際には一部の患者しか治療前に精子が凍結保存されていない<sup>17)</sup>。これは、患者あるいは医療者の精子凍結保存に関する認識不足を反映しており、またがん治療開始前に相談することが可能な男性専門の生殖医学研究施設が不足している点もその要因の1つである。米国における小児がん専門医に対する調査によると、80%の専門医が治療後の男性不妊を問題視し、さらに86%の専門医が妊孕性温存に関する検討を行うべきであると考えているにもかかわらず、実際にはわずか46%の専門医のみしか生殖医に治療前に相談を行っていない事実がある<sup>18)</sup>。治療後の男性不妊に関する問題についての比較的高い認識と、一方で生殖医療専門医への実際の相談不足は、若年男性がん患者の妊孕性を保つ際の最も大きな障害となっている。抗がん剤による性腺毒性は種類や量、また投与期間によって様々であるが、重度の場合は永続的に無精子症となる。男性においても性腺機能障害を起こす薬剤を表2に示す<sup>19)</sup>。抗がん剤は多剤併用されることが多く、最も影響が強いものはアルキル化剤を含むレジメンであり、90~100%で一時的もしくは永続的な無精子症を引き起こすとされる。なお非アルキル化剤では約1/3程度が無精子症となる

が、ほぼ全例で回復する<sup>20)</sup>。一般的に精子形成は約64日間を要し、抗がん剤による障害を精祖細胞が最も受けやすい<sup>21)</sup>。そのため治療から約2~3カ月経過すると精子濃度、運動率、正常形態率は減少するが、精漿分泌量は変化しないため精液量は減少しない。前述のように、造精機能低下の程度は様々であり、精祖細胞の障害が軽度であれば、生殖機能は1~3年かけて回復することとなる<sup>22)</sup>。しかし、精子濃度の低下が大きい症例ほどその回復には時間がかかり、高用量のアルキル化剤を含むレジメンでは無精子症のまま改善しない場合もある。化学療法後の無精子症に対して、MD-TESE(顕微鏡下精巣内精子回収法)によって約4割で精子回収が可能となり、出産例の報告もある<sup>23)</sup>。しかしながら、抗がん剤は精細胞のDNA損傷、染色体不分離などを起こすことで、子孫への遺伝子病を起こす可能性が否定はできない。化学療法施行後精子を利用した生殖補助医療に関するデータは不十分であるが、精子凍結保存は最も非侵襲的かつ妊娠率を下げない方法であることから、思春期以降の若年男性がん患者には精子凍結を全例で勧めることが肝要であると考えられる。臨床現場では思春期前で射出精子からの精子凍結ができない症例にも多く遭遇する。思春期前における化学療法の性腺毒性は思春期後よりも低いと考えられていたが、それを否定し前後に影響差がないとする報告もある<sup>21)</sup>。若年であっても親を交えてよく説明をし、可能な限り治療前に精子凍結を行うべきであると考えられる。射精自体が困難な年代の症例に対しては、精巣組織を凍結保存し異所性に移植後、成熟した精子を幹細胞から獲得する技術の開発に関する前臨床試験の報告もある<sup>24)</sup>。放射線照射についても同様に妊孕性温存を検討されるべきであり、幹細胞や精原細胞は卵細胞と同様の感受性を有し、精巣への2.5~8 Gy以上の放射線照射により永続的な無精子症となる<sup>19)</sup>。一方でセルトリ細胞は放射線感受性が高くないため男性ホルモンレベルは保たれることが多く、小児期男児が高線量の照射を受けても二次性徴は保たれることになる。

表2 造精機能障害リスク

遅延性無精子症	精巣への放射線照射 (2.5 Gy) クロラムブシル (1.4 g/m <sup>2</sup> ) シクロホスファミド (19 g/m <sup>2</sup> ) プロカルバジン (4 g/m <sup>2</sup> ) メルファラン (140 mg/m <sup>2</sup> ) シスプラチン (500 mg/m <sup>2</sup> ) カルボプラチン (2 g/m <sup>2</sup> )
思春期前治療による成人期の無精子症	BCNU (1 g/m <sup>2</sup> ) CCNU (500 mg/m <sup>2</sup> )
無精子症の可能性あり	ブスルファン (600 mg/kg) BCNU (300 mg/m <sup>2</sup> ) ナイトロジェンマスタード アクチノマイシンD
一時的な乏精子症	ドキシソルビシン (770 mg/m <sup>2</sup> ) シトシナラピノシド, ビンブラスチン ビンクリスチン, フルオロウラシル メソトレキサート, プレオマイシン エトポシド, ダカルバジン
造精機能障害少ない	プレドニン
造精機能障害なし	インターフェロン
不明	オキサリプラチン, イリノテカン モノクローナル抗体, タキサン系 チロシンキナーゼ阻害剤

#### 4. 海外での動向—がん・生殖医療に関する医療連携ネットワーク

海外では、2006年に世界で初めてのがん・生殖医療に関する医療連携ネットワークとして構築されたドイツ語圏を中心としたFertiPROTEKTや、oncofertilityという概念を作った米国のWoodruffが2007年に構築したOncofertilityコンソーシアムが、患者に対して基礎的な知識を啓発し、医療従事者に対してはがん・生殖医療の医療連携システムを構築している。Oncofertilityコンソーシアムにおいても、卵巣組織凍結は研究的技術ではあるが、早急に妊孕性温存を考慮する際の最高のオプションとなりうると推奨されている。一方、妊孕性温存に関する国際研究機関としてISFPによる第1回会議が2009年にベルギーで開催され(World Con-

gress of Fertility Preservation), 2年に1度世界中の研究者が集まり議論を展開している。ISFPによる「若年がん患者に対する妊孕性温存療法の推奨」が2012年6月にJARG(Journal of Assited Reproduction and Genetics)誌に掲載された。ISFP推奨の卵巣組織凍結適応癌腫はリンパ腫と乳癌となっており、一方、白血病は卵巣内における癌細胞の存在の可能性によって適応から除外されている。Dolmansらは悪性腫瘍の卵巣への転移率について表3のように報告している<sup>25)</sup>。

また、2006年にASCOはAmerican Society for Reproductive Medicine(米国生殖医学会: ASRM)と協同して委員を選抜し、がん治療医を対象とした『がん患者の妊孕性温存療法に関する指針』を示しており、前述したように2013年に一部内容が改訂された。2006年から2013



表3 悪性腫瘍による卵巣転移の危険性

High risk	Moderate risk	Low risk
白血病 神経芽細胞腫 パーキットリンパ腫	乳癌 Stage IV 浸潤性小葉腺癌 結腸癌 子宮頸部腺癌 非ホジキンリンパ腫 ユーイング肉腫	乳癌 Stage I, II 浸潤性乳管癌 子宮頸部扁平上皮癌 ホジキンリンパ腫 骨肉腫 非生殖器横紋筋肉腫 ウィルムス腫瘍

表4 ASCO 2013 指針の要点

要点
◆オンコロジストの文言→削除
◆新たにヘルスケアプロバイダーの文言を採用
◆ヘルスケアプロバイダー：腫瘍内科医，放射線腫瘍医，婦人科腫瘍医，泌尿器科医，血液腫瘍医，小児腫瘍医，外科医，看護師，ソーシャルワーカー，精神科医，その他の医師以外のプロバイダー
◆卵子凍結は，もはや試験的診療ではない
◆アバスチン(ベバシズマブ)→卵巣毒性あり
“The Update Panel concluded that no major, substantive revisions to the 2006 ASCO recommendations were warranted, but clarifications were added.”

年までに報告された 222 論文を検証した結果，“The update Panel concluded that no major, substantive revisions to the 2006 ASCO recommendations were warranted, but clarifications were added.”と結論づけている。すなわち，大幅な改訂は行われていないが，男女若年がん患者に対する性腺機能不全に対するリスク分類は ASCO 2006 と比較してより詳細に分類されている。要点と妊孕性温存のアセスメントとアルゴリズムを表4と図1に示す。ASCO はこれまでの妊孕性に関する報告について，「月経周期の継続あるいは再開が保たれたとしても，妊孕性が保持されているとは限らない」，「月経周期が整であったとしても，卵巣予備能の低下によって妊娠の可能性が低下しあるいは早期閉経発来となる可能性もある」，「がん治療の後に妊娠可能な状態となっても，妊娠可能な時期は限られている可能性がある」と指摘している。がん治療医は，治療開始前に患者に対して，① 不妊となる可能性に関する情報の提供，

② 考えられる限りの妊孕性温存療法に関する検討，③ 適応を有しかつ希望のある患者に対して生殖医療専門医を紹介すべきとし，可能な限り早期に，患者と将来の妊孕性に関する話し合いの場を作るべきであると述べている。

おわりに

がん生殖医療における妊孕性温存の診療は，そのアウトカムが詳細に検討されていないことなどから現時点で医学的根拠が乏しいと言わざるをえない状況であり，そのため施設間での方針の相違や未解決の課題も少なくない。がん・生殖医療の対象者は生命と妊孕性消失の危機を突然に同時に経験することとなる。がんに対する治療開始までの限られた時間内に妊孕性温存の意思決定が迫られるなかで，一方パートナーが存在しない場合や，妊娠を望んでいない場合や，妊孕性が理解できない小児でさえその対象となる。安全面や倫理面を考慮しながらデータ

カレントトピックス

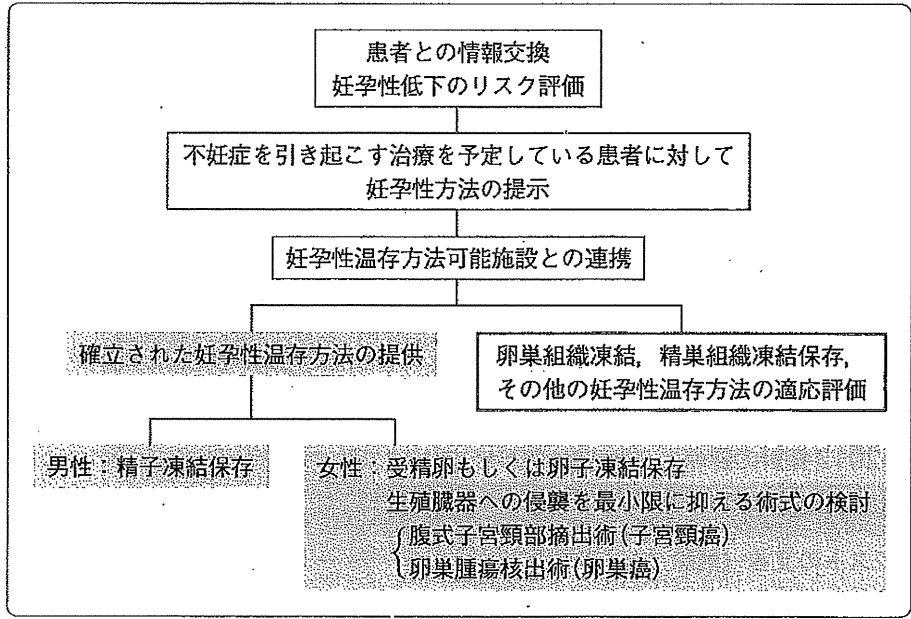


図1 妊孕性温存のアセスメントとアルゴリズム(ASCO 2013)

を蓄積し、がん・生殖医療の指針を作成していくべきであると考えます。

… 文 献 ……………

- 1) Lutchman Sigh L et al : Pathophysiology, preservation and the role of ovarian reserve testing. Human Reprod Update 11 : 69-89, 2005
- 2) Wallace WHB et al : The Effect of Chemotherapy and Radiotherapy on the Human Reproductive system. Principles and Practice of Fertility Preservation. Cambridge University Press, 2011
- 3) Gadducci A et al : Ovarian function and childbearing issues in breast cancer survivors. Gynecol Endocrinol 23 : 625-631, 2007
- 4) Lee SJ et al : American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. J Clin Oncol 24 : 2917-2931, 2006
- 5) Donnez J et al : Ovarian tissue cryopreservation and transplantation. Human Reprod Update 12 : 519-535, 2006
- 6) 三橋紀夫ほか : 放射線治療の有害事象—がん・放射線療法. 篠原出版新社 93-108, 2010
- 7) Green DM et al : Fertility of female survivors of childhood cancer. J Clin Oncol 27 : 2677-2685, 2009
- 8) Green DM et al : Decreased fertility among female childhood cancer survivors who

- received 22-27 Gy hypothalamic/pituitary irradiation : a report from the Childhood Cancer Survivor study. Fertility Steril 95 : 1922-1927, 2011
- 9) Elst JV et al : Oocyte freezing : here to stay? Hum Reprod Update 9 : 463-470, 2003
- 10) von Wolf et al : Cryopreservation and autotransplantation of human ovarian tissue prior to cytotoxic therapy : a technique in its infancy but already successful in fertility preservation. E J Cancer 45 : 1547-1553, 2009
- 11) Donnez J et al : Children born after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue : a review of 13 live births. Annal Med 43 : 437-450, 2011
- 12) Dolmans MM et al : IVF outcomes in patients with orthotopically transplanted ovarian tissue. Hum Reprod 24 : 2778-2787, 2009
- 13) Keros V et al : Vitrification versus controlled-rate freezing in cryopreservation of human ovarian tissue. Human Reprod 24 : 1670-1683, 2009
- 14) Amorium CA et al : Vitrification and xenografting of human ovarian tissue. Fertil Steril 98 : 1291-1298, 2012
- 15) VanEyck AS et al : Both host and graft vessels contribute to revascularization of xenografted human ovarian tissue in a murine model. Fertile Steril 93 : 1676-1685, 2010
- 16) Donnez J et al : Live birth after transplanta-

- tion of frozen-thawed ovarian tissue after bilateral oophorectomy for benign disease. *Fertil Steril* 98 : 720-7259, 2012
- 17) Woodruff.TK et al : The Oncofertility Consortium : addressing fertility in young people with cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 7 : 466-475, 2010
  - 18) Köhler TS et al : Results from the survey for preservation of adolescent reproduction (SPARE) study : gender disparity in delivery of fertility preservation message to adolescents with cancer. *J Assist Reprod Genet* 28 : 269-277, 2010
  - 19) Lee SJ et al : Cancer statistics, 2010. *Cancer J Clin* 60 : 277-300, 2010
  - 20) Marleen AE et al : Fertility preservation after chemotherapy for Hodgkin lymphoma. *Hematol Oncol* 28 : 168-179, 2010
  - 21) Marvi L et al : Male gonadal toxicity. *Pediatr Blood Cancer* 53 : 261-266, 2009
  - 22) Gandini L et al : Effect of chemo- or radiotherapy on sperm parameters of testicular cancer patients. *Hum Reprod* 21 : 2882-2889, 2006
  - 23) Hibi H et al : Testicular sperm extraction and ICSI in patients with post-chemotherapy non-obstructive azoospermia. *Arch Androl* 53 : 63-65, 2007
  - 24) Curaba M et al : Can prepubertal human testicular tissue be cryopreserved by vitrification? *Fertil Steril* 95 : 2123. e9-12, 2011
  - 25) Dolmans MM et al : Risk of transferring malignant cells with transplanted frozen-thawed ovarian tissue. *Fertil Steril* 99 : 1514-1522, 2013

ARTにおける新技術

## 卵巣組織凍結

吉岡 伸人 鈴木 直

- 卵巣組織凍結・自家移植により、これまでに30名を超える児が誕生している。
- 至適な卵巣組織凍結・移植方法、MRD等の安全面への配慮など、検討すべき項目も多く残されている。
- 卵巣組織凍結・自家移植は、妊孕性温存方法の主翼となりうる方法であり、早急な普及が望まれる。

### はじめに

近年、がん治療後の生存者の増加により、がん治療後のQOL (quality of life) に対する関心が高まっている。特に生殖年齢がん患者の妊孕性温存に関する議論が各国で展開されており、技術の向上や方法の統一化などが徐々に確立されつつある。2013年にASCO (American Society of Clinical Oncology: 米国臨床腫瘍学会) で提唱された妊孕性温存のアルゴリズム (ASCO2013 指針) を図1に示す。「卵巣組織凍結・自家移植は、いまだ確立されていない技術とされている」と記されているが<sup>1)</sup>、これまでに30名を超える児が誕生しており、欧米では卵巣毒性を有する治療を受けるすべての若年女性がん患者に選択肢として提供されるべき医療行為であると認識されている。しかし、至適な凍結方法、移植部位、がん細胞の再移入の可能性や安全性に関してなど検討されるべき課題も多く、慎重な対応が必要である。

### 卵巣組織凍結の現状

卵巣組織の凍結保存は、受精卵凍結や卵子凍結と比べ、①卵子を多く保存できる、②