

表 1. 先行研究の概要

	著者	発表	雑誌	コホート名	デザイン	治療	診断時期	対象集団	アウトカム	人数	主たる結果	解析方法
C1	Signorello LB	2012	JCO	CCSS	後ろ向きコホート +質問紙前向き追跡	AA, 照射	1970-86	CCSとその子	CCSの子の先天異常、遺伝子異常	2755,4699	先天的な異常は女性約3%、男性約2%、AAも照射も有無で差なし。	ロジスティック解析
C2	Signorello LB	2010	Lancet	CCSS	後ろ向きコホート +質問紙	AA, 照射	1970-86	男性CCS、女性CCS	死産と新生児死亡	1148, 1657	子宮照射>10Gy、初潮前照射>1Gyはリスク因子。	ポアソン回帰
C3	Green DM	2009	JCO	CCSS	後ろ向きコホート	AA, 照射		15-44歳の女性CCS 同胞	治療中閉経(AOF) 早期閉経(PM)	3390 2819,1065	6%がAOF、照射線量、プロカバジン、シクロホスファミド、高年齢がリスク因子。8%が早期閉経で同胞の10倍、到達年齢、照射、アルキル化剤量、ホジキンリンパ腫がリスク因子。子の先天異常は同胞と変わらない。	ポアソン回帰
C4	Green DM	2010	JCO	CCSS	後ろ向きコホート +質問紙	化学療法、照射	1970-86	15-44歳の男性CCS	パートナーの妊娠	6224,1390	同胞に比べ妊娠率は0.56倍。CCS内ではAAD量、シクロホスファミド、プロカバジン、骨盤内照射>7.5Gyがリスク因子。AAD/照射なしだと同胞の0.9倍。	修正Cox 回帰,ロバスト分散、Multiple imputation.
C5	Green DM	2009	JCO	CCSS	後ろ向きコホート +質問紙	化学療法、照射	1970-86	15-55歳の女性CCSと同胞	妊娠	5149, 1441	同胞に比べ妊娠率は0.8倍。視床下部/下垂体照射、骨盤内照射>5Gy、AAD高スコア、CCNU、シクロホスファミドがリスク因子。	修正Cox 回帰,ロバスト分散、Multiple imputation.
P1	Green DM	2014	Lancet Oncol	SJLIFE	後ろ向きコホート	AA, 照射	1970-2002	放射線治療を受けた成人男性CCS	精子数、無精子症など	214	無精子症53 (25%)、乏精子症59 (28%)、CEDは精子濃度と負の相関。	ロジスティック解析
P2	van den Berg M	2014	Reprod Biomed Online	DCOG LATER-VEVO Study	後ろ向きコホート				姉妹と一般集団それぞれコントロールとしたときの特徴。姉妹の方が3倍参加しやすく若く一般集団の方が学歴が高いが妊孕性に関連する項目はかわらない			
P3	Barton SE	2013	Lancet Oncol.	CCSS	後ろ向きコホート +質問紙		1970-86	女性CCSと同胞	臨床的不妊および受療状況	3531, 1366	CCSは同胞と同程度受診しているが、薬剤が処方されていない。照射とAADは不妊のリスク。	修正ポアソン回帰 Time to 1st PregにKM法(不適切)
P4	van Dorp Q	2013	Eur J Endocrinol	-	後ろ向きコホート(1施設)				肥満と血清インスリンのAMHとの相関を調べた。肥満、空腹時インスリンが高い、脂肪量が高いとAMHが低かった。AMHや卵胞数の目安になる。AMHがCCSにとって妊孕性の指標になるとは限らない			
P5	Green DM	2013	JCO	SJLIFE	-				無精子症を予測するinhibin BとFSHのカットオフ値の探索			
P6	Overbeek A	2012		DCOG LATER-VEVO study	後ろ向きコホート				自己報告が国のデータベースと一致している。CCSの方がより正確に回答する			
P7	Thomas-Teinturier C	2013	Human reproduction	Euro 2K cohort	後ろ向きコホート +質問紙	AA, 照射	1945-85	女性CCS in French	早期閉経など	706	思春期AA、子宮照射、シクロホスファミドが早期閉経のリスク因子。	コックス回帰、診断時代で調整
P8	Green DM	2011	Fertil Steril	CCSS	後ろ向きコホート	AA, 照射		女性CCSと同胞	妊娠	3619,2081	CCSと同胞の妊娠率は同じ、下垂体/視床下部の高用量の照射、診断時年齢、CCNU 使用がリスク因子。	修正Cox 回帰
P9	Byrne J	2004	Pediatr Blood Cancer	CCG	複数の臨床試験の追跡	頭部照射	1970-87	18以上女性ALL CCSと同胞	妊娠、性交渉	182, 170	CCSの既婚割合と年齢別妊娠率が低い。	人年法(妊娠数÷観察期間)と層別回帰
P10	Byrne J	2004	Pediatr Blood Cancer	CCG	複数の臨床試験の追跡	頭部照射	1970-87	18以上男性ALL患者CCSと同胞	パートナーの妊娠	213, 145	CCSは同胞と差がない。10歳未満の高容量の頭部照射はハイリスク。	人年法(妊娠数÷観察期間)とコックス回帰
P11	Nygaard R	1991	Med Pediatr Oncol			CNS、腹部、脳照射	1985以前	北欧のALL CCSとその子	子の異常	299,48	がんや遺伝的疾患はなかった。CNS,脳への照射は出生低下のリスク因子かも。	コックス回帰
P12	Byrne J	1987	NEJM		後ろ向きコホート	AAD, 照射	1945-75	男女CCSと同胞	Pregnancy	2283,3270	同胞に比べ妊娠率低い、放射線治療+AA治療はさらに低い。	コックス回帰

Abbreviations: AA, alkylating agent; CED, cyclophosphamide equivalent dose; CNS, Central nervous system; Irr, irradiation; SJLIFE, St. Jude Life-time Cohort Study; CCS, Childrens Cancer Group

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Que T, Miyoshi Y, Hashii Y, Uehara S, Ueno T, Nara K, Usui N, Ozono K.	Problems during the Long-term follow-up after surgery for pediatric solid malignancies.	Eur J Pediatr Surg.	25(1)	123-7	2015
三善陽子	小児がん患者、家族に語る生殖のこと 小児科医から.	日本不妊カウンセリング学会誌.	13(1)	17-20	2014
洞下由記, 鈴木直	卵巣組織凍結・移植-新しい妊孕性温存療法	医学のあゆみ	249(1)	123-129	2014
河村和弘, 杉下陽堂, 鈴木直	未受精卵子凍結保存の現状	臨床婦人科産科	68(8)	812-816	2014
高江正道, 鈴木直	がん患者に対する生殖医療の現状と課題	保健の科学	56(9)	99-608	2014
吉岡伸人, 鈴木直	わが国におけるがん・生殖医療の現状と展望	産科と婦人科	81(10)	1169-1174	2014
西島千絵, 鈴木直	Oncofertility (がん・生殖医療)	産婦人科の実際 臨時増刊号	63(11)	1471-1480	2014
Shimizu C.	Breast cancer in young women: its biological and clinical uniqueness and needs of comprehensive care.	Breast Cancer	21	641-642	2014
北野敦子, 清水千佳子	乳癌患者におけるサバイバーシップの問題とその支援。	乳癌の臨床	29(5)	469-480	2014
清水千佳子	若年乳癌患者の妊孕性に関する支援	Cancer Board 乳癌	7(1)	72-75	2014
清谷知賀子, 松本公一	[長期予後と成人後の医学的問題]小児がん	日本医師会雑誌	143(10)	2130-2134	2015

## IV. 研究成果の刊行物・別刷

# Problems during the Long-Term Follow-Up after Surgery for Pediatric Solid Malignancies

Takaharu Oue<sup>1</sup> Yoko Miyoshi<sup>2</sup> Yoshiko Hashii<sup>2</sup> Shuichiro Uehara<sup>1</sup> Takehisa Ueno<sup>1</sup> Keigo Nara<sup>1</sup>  
Noriaki Usui<sup>1</sup> Keiichi Ozono<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatric Surgery, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan

Address for correspondence Takaharu Oue, MD, Department of Pediatric Surgery, Osaka University Graduate School of Medicine, 2-2 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan  
(e-mail: oooue@pedsurg.med.osaka-u.ac.jp).

Eur J Pediatr Surg 2015;25:123–127.

## Abstract

**Introduction** With the recent improvements in the prognosis of pediatric malignancies, the number of patients surviving long-term after surgery has been increasing. Therefore, the late effects of cancer treatments are important issues. In this study, we analyzed the problems associated with the treatment of pediatric patients during the long-term follow-up after surgery.

**Patients and Methods** A total of 64 patients with pediatric malignancies who underwent surgical treatment and were followed up for more than 5 years and who were older than 13 years of age were included in this study. The average age was 20.8 (13–33) years, and the follow-up ranged from 5 to 31 years (mean, 17.7 years). Twenty-one patients (32.3%) received high-dose chemotherapy (HDC) and nine (14.1%) received radiotherapy.

**Results** In this study, 46 patients (71.9%) developed at least one problem during the follow-up period. With regard to the surgical problems, 14 patients underwent nephrectomy, and 1 of them developed renal failure. One patient received cystectomy with urinary tract reconstruction. One patient received a partial vaginectomy. Two cases with ovarian tumors received oophorectomy, one of whom also received partial hysterectomy. Other complications such as ileus, scoliosis, and leg length discrepancies were seen in some patients. In terms of the medical problems, 15 patients showed growth retardation and 2 were treated with growth hormone therapy. Gonadal dysfunction was observed in 23 patients, and 8 of them were treated with hormone replacement therapy. Six patients developed hypothyroidism, two of whom were treated with thyroid hormone replacement therapy. Other medical issues, such as hearing impairment, low bone mineral density, and hepatitis, were seen in some patients. The rate of growth retardation, gonadal dysfunction, and hypothyroidism were significantly higher in the patients who received HDC ( $p < 0.05$ ). There was one case of second malignancy of the parotid gland.

**Conclusion** Various treatment-related complications may occur even many years after treatment, especially in patients who receive HDC. Medical problems, especially endocrine disorders, appear to be more serious than surgery-related problems. Lifetime medical surveillance and continuous follow-up by not only pediatric surgeons but also by various specialists, such as pediatric oncologists, pediatric endocrinologists, urologists, and gynecologists, are necessary.

## Keywords

- ▶ childhood cancer survivor
- ▶ late effect
- ▶ chemotherapy
- ▶ surgery
- ▶ radiation therapy

received  
May 13, 2014  
accepted  
June 23, 2014  
published online  
August 21, 2014

© 2015 Georg Thieme Verlag KG  
Stuttgart · New York

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0034-1386639>.  
ISSN 0939-7248.

## Introduction

With the recent improvements in the diagnosis and treatments of pediatric malignancies, the number of patients surviving long-term after surgery has been rapidly increasing. Approximately 80% of children with cancer now survive longer than 5 years. Patients who have survived more than 5 years after the treatments are generally identified as childhood cancer survivors (CCSs). Large cohort studies of CCS have reported that these patients are at high risk for developing late treatment-related complications, such as organ dysfunction, second neoplasms, and psychosocial problems.<sup>1–4</sup> The importance of the quality of life of these patients is now being recognized, and the late effects of cancer treatments are essential and important issues.

However, these have not been well recognized by pediatric surgeons, especially before 2000. In 2005, pediatric oncologists and endocrinologists started the “long-term follow-up clinic” for CCS in our hospital, and started to determine the late effects in the patients who received multimodal anticancer therapy and survived more than 5 years or become adolescents and young adults.<sup>5</sup> Therefore, the recent patients with pediatric solid tumors treated by surgery are also followed by the long-term follow-up clinic. The aim of the present retrospective study was to assess the surgical and medical disorders of CCSs who were surgically treated and followed for at least 5 years in our pediatric surgical clinic to clarify their problems and to establish a suitable follow-up system for these patients.

## Patients and Methods

From 1984 to 2008, 132 patients with malignant solid tumors underwent surgical treatment at Osaka University Hospital and lived to be older than 13 years of age, which is the starting age for the adolescent. Among them, 26 patients died of disease, 42 patients were lost to follow-up, and the remaining 64 patients were continuously followed up in the pediatric surgical clinic for more than 5 years. These patients, adolescent–young adult CCSs, were included in this study. They comprised 32 males and 32 females. The tumors included 22 neuroblastomas, 12 renal tumors, 11 rhabdomyosarcomas, 10 hepatoblastomas, 7 malignant germ cell tumors, 1 primitive neuroectodermal tumor, and 1 granulosa cell tumor of the ovary. The average age of the patients was 20.8 (range, 13–33) years, and the follow-up duration ranged from 5 to 31 years (mean, 17.7 years). The mean age at the diagnosis of the underlying tumor was 3.3 (range, 0–15) years.

The treatment regimens (chemotherapy, radiation therapy, surgery, and high-dose chemotherapy [HDC] with hematopoietic stem cell transplantation) and various late effects, problems, and complications were retrospectively assessed from the medical records. The chi-square test and Fisher exact test were used to assess the difference between the groups. A *p* value of less than 0.05 was considered to indicate statistical significance.

## Results

### Treatments

The treatment protocols for cancer have changed over time. All of the 64 patients received surgical treatments. Fifty-five patients (85.9%) received chemotherapy, 21 (32.3%) received HDC, 12 (18.5%) received radiation therapy, and 9 patients (14.1%) received surgery alone. Forty-six patients (71.9% of followed cases; 43.4% of surviving cases) developed at least one problem during the follow-up period.

### Surgical Problems

The most important problem related to surgery was resection of the affected organs. Fourteen patients (3 with neuroblastoma and 11 with renal tumors) underwent nephrectomy, and 1 of them developed renal failure and required renal transplantation. One patient with rhabdomyosarcoma received cystectomy with urinary tract reconstruction. One patient with a germ cell tumor received partial vaginectomy. Two cases with ovarian tumors received oophorectomy, one of whom also received partial hysterectomy.

Various other surgery-related problems, orthopedic disorders (such as scoliosis and leg length discrepancies), Horner syndrome, adhesive ileus which required laparotomy, portal vein obstruction, and gallstones, were seen in the CCSs (→Table 1).

### Medical Problems

Growth retardation was defined as a height shorter than – 2.0 standard deviation (SD) of the normal population. Fifteen patients showed growth retardation. Among them, two were diagnosed to have growth hormone (GH) deficiency and were treated with GH therapy.

Gonadal dysfunction was evaluated by the serum levels of luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), and estradiol (females) or testosterone (males). Patients showing high levels of LH or FSH were considered to have primary hypogonadism. Gonadal dysfunction was observed in 23 patients (10 boys and 13 girls), and 8 patients were treated with hormone replacement therapy. →Fig. 1 shows a typical case of growth retardation with gonadal dysfunction. A 2-year-old female with stage IV neuroblastoma was treated with surgery, chemotherapy, and HDC with hematopoietic stem cell rescue (HSCR). Her height was under – 2SD of the normal range, and puberty was delayed, when she was 10 years old. GH therapy was started when she was 12 years old, and gonadal hormone therapy replacement therapy was started when she was 15 years old, both of which were effective, and her height caught up to the normal range and puberty was observed.

The thyroid status of patients was evaluated by the serum thyroid stimulating hormone (TSH) and free T4 levels. Six patients showed high levels of TSH and were diagnosed with primary hypothyroidism, and two of them were treated with thyroid hormone replacement therapy. →Table 1 shows the effects of HDC on the growth and endocrinological disorders. The rates of growth retardation, gonadal dysfunction, and hypothyroidism were significantly higher in the patients who

**Table 1** Problems seen in the 64 CCSs followed in the pediatric surgical clinic

<b>Surgical problems</b>	<b>27/64 (42.2%)</b>
Organ resection	18
Nephrectomy	14
Oophorectomy	2 <sup>a</sup>
Cystectomy	1
Partial vaginectomy	1
Partial hysterectomy	1 <sup>a</sup>
Leg length discrepancies	3
Horner syndrome	2
Adhesive ileus	1
Scoliosis	1
Portal vein obstruction	1
Gallstone	1
<b>Medical problems</b>	<b>35/64 (54.7%)<sup>b</sup></b>
Growth retardation	15
Gonadal dysfunction	23
Low bone mineral density	10
Hypothyroidism	6
Hearing impairment	6
Hepatitis	2
Renal dysfunction	1
Diabetes	1
Anemia	1
<b>Second malignancy</b>	<b>1/64 (1.6%)</b>
<b>Total</b>	<b>46/64 (71.9%)<sup>c</sup></b>

<sup>a</sup>One patient received both oophorectomy and partial hysterectomy

<sup>b</sup>Some patients had multiple medical problems

<sup>c</sup>16 patients has both surgical and medical problems

Abbreviation: CCSs, childhood cancer survivors.

were treated with HDC than in those who did not receive this more aggressive treatment ( $p < 0.05$ ) (→ Table 2).

The bone mineral density of the lumbar spine was measured by dual energy X-ray absorptiometry in 18 patients. The bone mineral density in childhood was expressed as SD from the mean for age- and sex-matched controls according to the report by Tanaka.<sup>6</sup> Ten patients showed a bone mineral density lower than normal range and were diagnosed to have a low bone mineral density. Other medical issues, such as hearing impairment, hepatitis, renal dysfunction, diabetes mellitus, and anemia were also seen in the CCSs (→ Table 1). There was one case of second malignancy, where a parotid gland tumor developed in a patient after the treatment of rhabdomyosarcoma in the cheek.

## Discussion

In the present study, among the 64 patients followed in our pediatric surgical clinic for more than 5 years and who

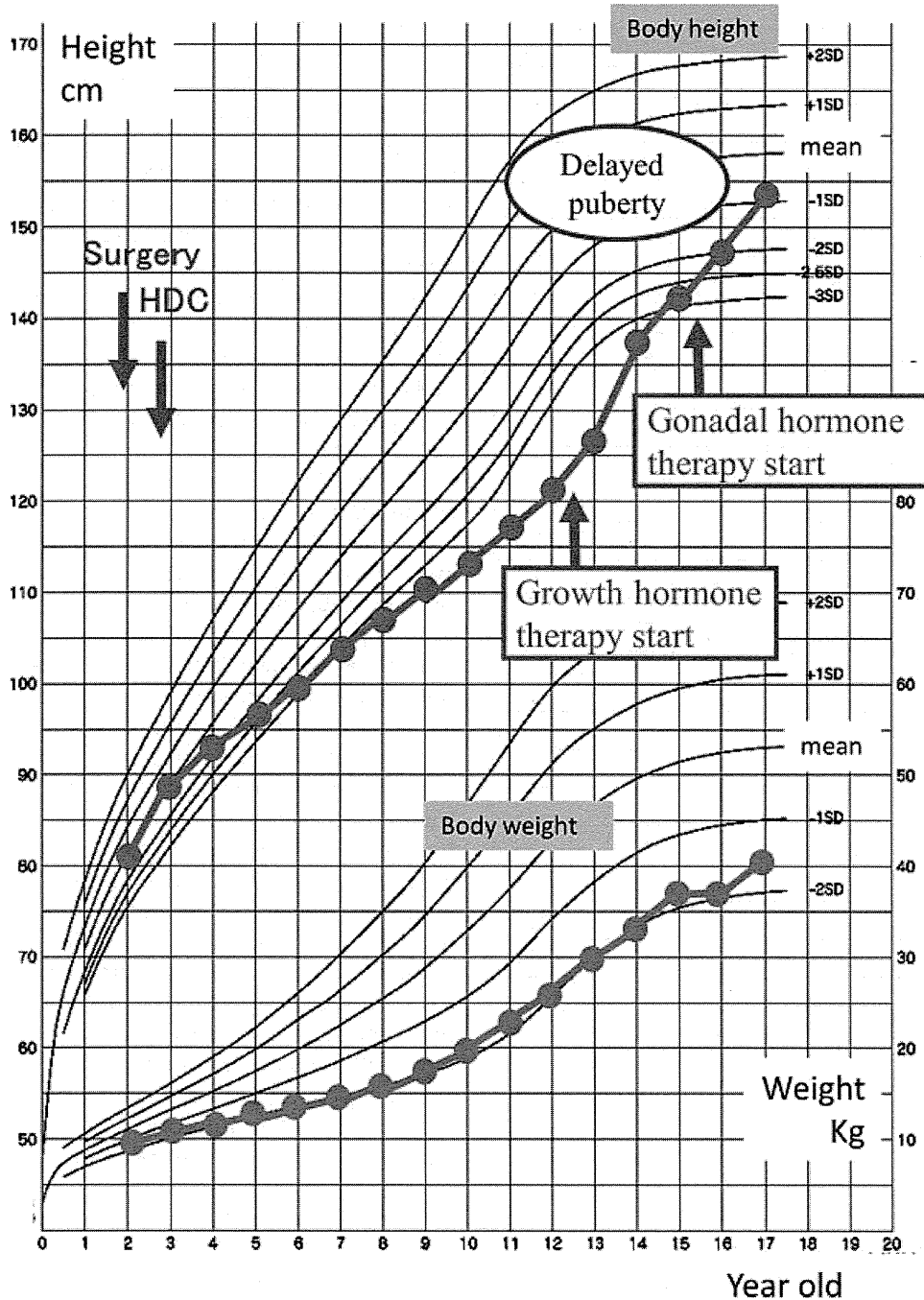
became older than 13 years old, 46 patients developed at least one surgical or medical problem during the follow-up period. During the same period, we treated 132 patients, and 26 patients died of disease. Therefore, 106 patients had become CCRs. These results indicate that 72% of the followed patients and 43% of the total CCRs developed problems during the long-term follow-up. These percentages are compatible with those of the previous reports. For example, Oeffinger et al calculated the frequencies of chronic conditions in 10,397 survivors and 3,034 siblings and reported that 62.3% had at least one chronic condition; 27.5% had a severe or life-threatening condition (grade 3 or 4).<sup>2</sup> Geenen et al performed a retrospective cohort study of 1,362 5-year survivors of childhood cancer treated at a single institution in the Netherlands, and reported that almost 75% of survivors had one or more adverse events, and 24.6% had five or more adverse events.<sup>3</sup>

The most important surgical problem is the resection of affected organs. The kidney was the most frequently resected organ, 14 of 64 cases received nephrectomy. Nephrotoxicity is also a known acute side effect of several treatments, including cisplatin, carboplatin, ifosfamide, and radiotherapy, and can cause impaired glomerular filtration, proteinuria, and tubulopathy.<sup>7</sup> Elli et al investigated the blood pressure profile in 25 children with unilateral Wilms tumor and reported that the daytime and nighttime systolic blood pressure and nighttime diastolic blood pressure measurements were significantly increased in the patient group compared with healthy children.<sup>8</sup> Survivors with impaired renal function due to childhood cancer treatment are usually symptom free. To reduce the risk of long-term nephrotoxic events in CCS, the renal function and blood pressure should be frequently checked for a long time, especially in the patients who received nephrectomy.

Another important surgery-related problem is the resection of genitourinary tract tissues. In our series, one patient with rhabdomyosarcoma underwent cystectomy with urinary tract reconstruction. Such patients should be followed by urologists for the rest of their lives. One patient with a germ cell tumor underwent a partial vaginectomy, and another case with an ovarian tumor underwent oophorectomy and partial hysterectomy. These patients are not yet married, but they will have troubles in terms of sexual contact, pregnancy and delivery when they do. They will need to be carefully followed up in collaboration with gynecologists.

Growth retardation is one of the most common complications that emerge during cancer treatment, and also during the follow-up period in CCSs.<sup>9–12</sup> In this study, 15 of 64 CCSs (23.4%) exhibited growth retardation. The cause of growth disturbance is considered to be multifactorial, and to include nutritional insufficiency, GH deficiency, the exposure of the spine or legs to radiation, hypothyroidism and corticosteroid therapy. In our series, the patients who were treated with HDC had a significantly higher risk of growth retardation. Hypogonadism may cause insufficient pubertal height gain. In the case of hormonal insufficiency, hormone replacement therapy is reported to be effective for growth catch up.<sup>5</sup> The growth retardation was improved by GH therapy and gonadal hormone therapy in our patients with hormone insufficiency.

## Neuroblastoma Stage IVA



**Fig. 1** The growth of a patient treated for stage IV neuroblastoma. A 2-year-old female with stage IV neuroblastoma was treated with surgery, chemotherapy, and HDC with HSCR. Her height was under  $-2$  SD of the normal range and puberty was delayed at 10 years old. GH therapy was started when she was 12 years old, and gonadal hormone replacement therapy was started when she was 15 years old, which were both effective, and her height caught up to the normal range and puberty was observed. GH, growth hormone; HDC, high-dose chemotherapy; HSCR, hematopoietic stem cell rescue; SD, standard deviation.

Abnormal gonadal function is also a common problem. In male patients, it is sometimes difficult to recognize gonadal dysfunction; however, high levels of FSH and decreased testicular volume indicate primary hypogonadism. These patients have the potential for experiencing male infertility and should therefore consult urologists. An important late effect among female survivors of childhood cancer is treat-

ment-related ovarian damage and impaired fertility. Chemotherapy and radiation therapy are reported to be associated with impaired fertility.<sup>13</sup> Pubertal females with primary ovarian dysfunction showed high levels of FSH, LH and a low level of estrogen and amenorrhea. Recently, anti-Müllerian hormone (AMH) was shown to be a sensitive marker of the ovarian reserve. Miyoshi et al evaluated the ovarian function



**Table 2** Effects of HDC on the patient growth and endocrinological disorders

	HDC(+) (n = 21)	HDC(-) (n = 43)
Growth retardation	12 <sup>a</sup> (57%)	3 (7%)
Gonadal dysfunction	17 <sup>a</sup> (81%)	5 (12%)
Hypothyroidism	6 <sup>a</sup> (29%)	0 (0%)

Abbreviation: HDC, high-dose chemotherapy.

<sup>a</sup>Significantly higher in the HDC (+) group than in the HDC (-) group;  $\chi$  squared,  $p < 0.05$ .

of 53 Japanese female CCSs by measuring the serum levels of AMH and gonadotropin. Among them, 28 (53%) had a decreased AMH level, whereas only 16 (30%) had an increased FSH level.<sup>14</sup> The ovaries are sensitive to both chemotherapy and radiation. Therefore, the serum LH, FSH, and AMH levels should be regularly checked, and if abnormal ovarian function is suspected, the patients should be referred to gynecologists for gonadal hormone replacement therapy.

Endocrinological abnormalities are common problems, often requiring early interventions.<sup>5,9,10</sup> In our study, a deficiency of GH, gonadal hormones and thyroid hormone were frequently observed among the CCSs, especially treated with HDC. These patients should be followed by pediatric endocrinologists for early detection of problems and appropriate treatments.

## Conclusion

Various surgical and medical complications may occur many years after cancer treatments, especially in patients who received HDC. Among the surgical problems, resection of the affected organ was the most serious problem. Medical problems such as endocrine disorders seem to be more serious. Lifetime medical surveillance and continuous follow-up by not only pediatric surgeons but also by various specialists, such as pediatric oncologists, pediatric endocrinologists, gynecologists, urologists, and orthopedists, are necessary.

Conflict of Interest  
None.

## References

- Dickerman JD. The late effects of childhood cancer therapy. *Pediatrics* 2007;119(3):554–568
- Oeffinger KC, Mertens AC, Sklar CA, et al; Chronic health conditions in adult survivors of childhood cancer. *N Engl J Med* 2006;355(15):1572–1582
- Geenen MM, Cardous-Ubbink MC, Kremer LC, et al. Medical assessment of adverse health outcomes in long-term survivors of childhood cancer. *JAMA* 2007;297(24):2705–2715
- Bassal M, Mertens AC, Taylor L, et al. Risk of selected subsequent carcinomas in survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* 2006;24(3):476–483
- Miyoshi Y, Ohta H, Hashii Y, et al. Endocrinological analysis of 122 Japanese childhood cancer survivors in a single hospital. *Endocr J* 2008;55(6):1055–1063
- Tanaka H. Bone mineral density [in Japanese]. *Pediatrics of Japan* 2005;46(suppl):17–19
- Mulder RL, Knijnenburg SL, Geskus RB, et al. Glomerular function time trends in long-term survivors of childhood cancer: a longitudinal study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22(10):1736–1746
- Elli M, Sungur M, Genç G, et al. The late effects of anticancer therapy after childhood Wilm's tumor: the role of diastolic function and ambulatory blood pressure monitoring. *Jpn J Clin Oncol* 2013;43(10):1004–1011
- Meacham L. Endocrine late effects of childhood cancer therapy. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2003;33(7):217–242
- Rutter MM, Rose SR. Long-term endocrine sequelae of childhood cancer. *Curr Opin Pediatr* 2007;19(4):480–487
- Sklar CA. Growth and neuroendocrine dysfunction following therapy for childhood cancer. *Pediatr Clin North Am* 1997;44(2):489–503
- Chow EJ, Friedman DL, Yasui Y, et al. Decreased adult height in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Pediatr* 2007;150(4):370–375, e1
- Reinmuth S, Hohmann C, Rendtorff R, et al: Impact of chemotherapy and radiotherapy in childhood on fertility in adulthood: the FeCt-survey of childhood cancer survivors in Germany. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013;139(12):2071–2078
- Miyoshi Y, Ohta H, Namba N, et al. Low serum concentrations of anti-Müllerian hormone are common in 53 female childhood cancer survivors. *Horm Res Paediatr* 2013;79(1):17–21

## 特別講演 1

小児がん患者、家族に語る生殖のこと～小児科医から～

三善陽子

大阪大学大学院医学系研究科小児科学

我々小児科医は病と闘う子ども達の診療に日々あけくれているが、生命力に満ちあふれた子どもの快復力は実にめざましいものである。子どもはあらゆる可能性を秘めた神秘的な存在である。現在日本では晩婚化・晩産化がすすみ、女性が生涯に生む子どもの数は減少している。両親も祖父母もパーフェクトベビーの出生を期待している。ところがいざ子どもを欲しいと思っても、愛する子どもをその手に抱けない厳しい現実と直面する場合がある。この悲劇をもたらす原因のひとつが、小児がんである。

医学は目覚ましい勢いで進歩しているが、1歳以上の小児の死因の第2～3位を悪性新生物（がん）が占めている。小児がんは、小児期すなわち15歳以下の子どもに発生する悪性腫瘍と定義され、成人のがんとは異なり肉腫が多く癌腫が少ない。小児がん国際分類第3版によると、小児がんは主分類として12種類に分けられる。頻度の多いものとして、白血病、悪性リンパ腫などの血液腫瘍、脳腫瘍があり、神経芽腫、横紋筋肉腫が続く。その他、腎芽腫、肝芽腫、網膜芽細胞腫、骨肉腫、胚細胞性腫瘍などがある。小児がんに対する治療戦略は、化学療法による全身療法と外科的治療・放射線療法による局所療法を組み合わせた集学的治療である。造血幹細胞移植は大量化学療法後の骨髄救援を目的に施行される。

大切に育ててきた我が子がある日突然がんと診断されると、親は衝撃をうけて悲嘆にくれる。これから子どもが受ける処置や治療の内容についてあらかじめ詳しい説明を医師からうけるが、混乱した頭では専門用語の飛び交う内容を十分に理解しきれない。とりあえず命だけはなんとか助けてやると懇願される。治療により生じる可能性のある不利益についても説明をうけるが、詳しい内容は記憶に残らない。しかし卵巣や精巣への障害という言葉は、その後も親の心の奥底深くに不安を抱かせ続ける。障害が将来おこりうるならきつい治療は受けさせたくないという親もいる。ショックを与えたくないから、子どもには病名を告げないでと希望される親も多い。しかし辛いがんの治療が終われば、子どもの朗らかな笑顔は次第に戻ってくる。元気になって日常生活を取り戻した我が子の姿を見ると、過去のつらい治療のことは少しでも忘れさせたいと親は願い、長期フォロー外来から自然と足が遠のきがちになる。しかし子どもの体には、がんの治療後という刻印が秘かに残されている。

小児期にがんの治療を受けた長期生存者（Childhood Cancer Survivor : CCS）にとっ

て、治療後に生じる晩期合併症（晩期障害、late effects）は重要な問題である。成人 CCS の健康障害は頭打ちになることなく年々増加することが報告されている。晩期合併症のなかでも内分泌異常の占める割合は高く、がんの治療後は定期的な内分泌評価が必要である。

小児がん治療後の性腺機能低下症と妊孕性低下は極めて深刻な問題である。しかし性的に未熟な小児期にはこれらの異常に気付かれにくい。また性行動や妊孕性などに関する話題は小児科の診察室で話しづらい場合がある。病名告知や詳しい説明を親や医師から受けていない患者では、自らの妊孕性低下の現状を把握することもできない。小児がん患者を診療する医師達ですら、長期フォローアップの大切さをまだ十分には理解していないのが現状である。

長期フォローアップとは、原疾患の治療がほぼ終了し、診療の重点が晩期合併症、後遺症や副作用対策が主になった時点からの対応をさす。どのような内分泌合併症がおりうるかについて、原疾患や治療内容によって危険性のある程度予測できることから、危険因子に基づいた長期フォローアップガイドが作成された。海外のフォローアップのガイドラインとして、Children's Oncology Group Long-Term Follow-Up Guidelines for Survivors of Childhood, Adolescent, and Young Adult Cancers (COG-LTFU ガイドライン) が有名である。日本においても日本小児内分泌学会 CCS 委員会によりフォローアップガイドラインが作成された。学会ホームページから「小児がん経験者 (CCS) のための内分泌フォローアップガイド」がダウンロード可能なので参照していただきたい。この中で性腺系の主なフォローアップ項目は、身長・体重、成長曲線作成、二次性徴 (Tanner 分類)、骨年齢、LH・FSH・テストステロン (男)・エストラジオール (女) とされている。

小児がん患者の性腺機能低下症は、中枢性と原発性に分類される。視床下部・下垂体腫瘍や、その他の部位の腫瘍でも放射線治療・外科的治療・腫瘍の存在自体により、ゴナドトロピン分泌異常がおり、中枢性性腺機能低下症を発症する。頭部照射による下垂体機能低下症のリスクは、線量、照射後年数により異なる。放射線感受性は下垂体より視床下部が高く、成長ホルモン系が最も障害を受けやすい。18Gy 以上 30Gy 未満では視床下部が活性化されて思春期早発症の、30Gy 以上ではゴナドトロピン分泌不全による二次性徴の欠如・遅発・停止の危険性が上昇する。

男児では、化学療法・放射線治療・性腺摘出術により原発性精巣機能低下症がおこる。化学療法では多くの薬剤が性腺障害性を有し、アルキル化剤が最大の脅威である。しかし実際には多剤を併用するため、それぞれの薬剤による影響を個別に決めるのは困難である。精巣照射、腹部・骨盤照射や全身照射により精巣機能低下症がおこる。化学療法

や放射線治療により胚細胞と Sertoli 細胞は障害されやすいが、Leydig 細胞は治療に抵抗性で、男性ホルモン産生能は比較的維持される。治療後の男児は二次性徴がみられても、精巣容積低下と妊孕性低下（精子数減少）をきたす可能性がある。診察時には精巣の容積と硬度を確認し、FSH, LH, テストステロンを測定し、必要に応じて HCG 負荷試験、精液検査をおこなう。治療として男性ホルモン補充療法または hCG・rhFSH 療法をおこなう。

女兒では、化学療法（アルキル化剤など）、放射線治療（卵巣・腹部・骨盤照射、TBI）、性腺摘出術により原発性卵巣機能低下症がおこる。骨盤照射により子宮発育が障害される。女性は加齢に伴い卵巣の胚細胞数が減少するが、化学療法、放射線療法により早期に加速して減少することにより卵巣機能不全がおこる。障害の程度は、治療時年齢、照射線量・照射野・分割数と、抗がん剤の量・種類に相関する。前思春期の卵巣は思春期開始後に比べ抵抗性とされる。女兒では女性ホルモン産生能と胚細胞が平行して障害されるため、男児に比べると異常に気付かれやすい。月経について問診し、乳房発育を評価し、FSH, LH, エストラジオールを測定する。必要に応じて骨盤超音波検査（子宮・卵巣の評価）をおこなう。がんの治療後に月経が自然回復（発来）しても卵巣予備能は回復しないため、早発閉経・妊孕性低下をきたす危険性がある。治療として女性ホルモン補充（少量のエストロゲン製剤から徐々に増量してカウフマン療法に移行）をおこなう。

近年、小児がん治療後の妊孕性低下と温存療法が近年注目されている。CCS 女兒が生涯に妊娠する率は同胞女兒と比較して 0.81 と低値であると報告された。小児と青年期におけるがんの治療後の不妊の危険性は、悪性疾患の種類と治療により低リスク群（<20%）、中間リスク群、高リスク群（80%）に分類される。高リスク群には、全身照射、局所への照射（骨盤、精巣）、移植前処置の化学療法、アルキル化剤使用の Hodgkin 病、軟部組織肉腫 Stage4（転移例）、Ewing 肉腫（転移例）が含まれる。

成人がん患者では妊孕性温存が近年推奨されている。しかし小児は肉体的・精神的に未熟で、がんの告知がおこなわれていない場合や、性教育を受けていない場合など、医学的のみならず倫理的・法的な問題などが山積みである。妊娠・出産時の問題として放射線照射による骨盤・子宮の発育不良、流早産のリスクが報告されているが、次世代への影響（奇形、癌）は遺伝性の癌を除き否定的とされる。妊孕性温存療法として男性では精子の凍結保存がおこなわれる。しかし思春期前の男児は精巣発育が未熟で、射精による精子採取が困難である。成人女性の場合は卵子を採取する方法があるが、採取にかかる時間と侵襲が問題となる。卵巣組織の凍結保存による出産例が海外から報告されているが、小児の未熟な性腺の凍結保存には課題が多い。

本講演では、小児がん患者の性腺機能障害・妊孕性低下に関わる小児科医の診療現場の現状を、不妊カウンセラーの皆様に多少なりともご理解いただければと思う。

# 卵巣組織凍結・移植

—新しい妊孕性温存療法

Ovarian tissue cryopreservation new practice in fertility preserve



洞下由記(写真) 鈴木 直

Yuki HORAGE and Nao SUZUKI

聖マリアンナ医科大学産婦人科学

◎近年、生殖年齢患者に対する化学療法や放射線療法によって起こる妊孕性喪失は、非常に大きな問題であると認識されている。妊孕性温存療法は悪性腫瘍の種類や治療法、原疾患の治療開始までの期間、年齢、婚姻関係などにより選択が異なる特殊な治療である。そのなかでも卵巣組織凍結はまだ世界で30名前後の出産例があるのみの新しい技術であるが、どの年齢でも施行可能である点、数日という短期間で施行できる点、大量の原始卵胞を保存できる点で、他の妊孕性温存療法より優れた治療法である。しかし、卵巣転移の可能性が高い患者には移植時に癌細胞が再移入する可能性があり、施行不可能である。新しい凍結方法であるガラス化法による凍結融解後の妊娠例が最近報告された。今後さらに技術の確立と安全性など適応の検討が十分に必要であるものの、卵巣組織凍結は若年癌患者の妊孕性温存療法の主要な方法のひとつとして、近い将来確立されることが予想される。



Key word : 妊孕性温存, 卵巣組織凍結, 化学療法, ガラス化法

## ● 妊孕性温存の現状

近年、若年癌患者の罹患率増加に加え、治療成績向上の結果として癌克服患者(cancer survivor)が増加していることから、癌の生命予後だけではなくQOL(quality of life)についても大きな関心が寄せられている。とくに生殖年齢患者に対する化学療法や放射線療法によって起こる妊孕性喪失は、非常に大きな問題であると認識されている。また、生殖医学の進歩によって少数の配偶子からの妊娠出産や生殖細胞や組織の凍結可能になり、妊孕性温存療法に大きな変革をもたらされた。癌治療後に卵巣機能不全となるリスクを表1に示す<sup>1)</sup>。

妊孕性温存のガイドラインとしては2006年、アメリカ臨床腫瘍学会(American Society of Clinical Oncology: ASCO)が若年癌患者における妊孕性温存に関する世界初のガイドラインを発表し、妊孕性温存の実施が不十分である現状を指摘した<sup>2)</sup>。また、癌治療後の月経再開をもって妊孕性

温存とすべきではないことが示された。その後のドイツ語圏を中心とした癌患者の妊孕性温存ネットワーク(FertiPROTEKT)のガイドラインでは、妊孕性温存療法は癌治療医の了解と同意のもとに施行すべきであり、それにより癌治療の延期や変更をすべきではないことが強調された<sup>3)</sup>。わが国においては2011年11月に日本がん・生殖医療研究会(NPO Japan Society for Fertility Preservation: JSFP)が設立され、日本の実情に合わせたガイドライン策定やネットワークの構築に向けての活動が開始されたばかりである(<http://www.j-sfp.org/>; 「サイドメモ1」参照)。

## ● 妊孕性温存の方法

妊孕性温存療法は、悪性腫瘍の種類および治療法、原疾患の治療開始までに許された期間、年齢、婚姻関係によっても選択が異なる特殊な治療である。女性における悪性腫瘍の種類および治療法から考慮される妊孕性温存療法の選択法を図1に示

表 1 癌治療後に卵巣機能不全となるリスク(女性; ASCO 2013)<sup>1)</sup>

リスク	治療プロトコール	患者および投与量などの因子	使用対象疾患
High risk* <sup>1</sup>	アルキル化剤 <sup>#</sup> + 全身放射線照射		白血病への造血幹細胞移植の前処置, リンパ腫, 骨髄腫, Ewing肉腫, 神経芽細胞腫, 絨毛癌
	アルキル化剤 <sup>#</sup> + 骨盤放射線照射		肉腫, 卵巣に対して
	シクロホスファミド総量	5 g/m <sup>2</sup> (>40 歳), 7.5 g/m <sup>2</sup> (<20 歳)	乳癌, 非 Hodgkin リンパ腫, 造血幹細胞移植の前処置
	プロカルバジンを含むレジメン	MOPP: >3 コース, BEACOPP: >6 サイクル	Hodgkin リンパ腫
	テモゾラミド or BCNU を含むレジメン + 全脳放射線照射		脳腫瘍
	全腹部あるいは骨盤放射線照射	>6 Gy(成人女性), >10 Gy(初経発来前), >15 Gy(初経発来後)	Wilms 腫瘍, 神経芽細胞腫, 肉腫, Hodgkin リンパ腫, 卵巣に対して
	全身放射線照射		造血幹細胞移植
	全脳放射線照射	>40 Gy	脳腫瘍
Intermediate risk* <sup>2</sup>	シクロホスファミド総量	5 g/m <sup>2</sup> (30~40 歳)	乳癌など
	乳癌に対する AC 療法	×4 コース + パクリタキセル or ドセタキセル(<40 歳)	乳癌
	FOLFOX4(フルオロウラシル・フォリン酸・オキサリプラチン)		大腸癌
	シスプラチンを含むレジメン		子宮頸癌
	腹部あるいは骨盤放射線照射	10~15 Gy(初経発来前), 5~10 Gy(初経発来後)	Wilms 腫瘍, 神経芽細胞腫, 脊髄腫瘍, 脳腫瘍, ALL や Hodgkin リンパ腫再発
Lower risk* <sup>3</sup>	アルキル化剤以外の薬剤を含むレジメン	ABVD, CHOP, COP, 白血病に対する多剤療法	Hodgkin 病, 非 Hodgkin リンパ腫, 白血病
	シクロホスファミドを含むレジメン	CMF, CEF, CAF(<30 歳)	乳癌
	アントラサイクリン系 + シタラビン		AML
Very low or no risk* <sup>4</sup>	ピンクリスチンを用いた多剤療法 放射性ヨウ素		白血病, リンパ腫, 乳癌, 肺癌 甲状腺癌
Unknown* <sup>5</sup>	モノクローナル抗体(アバスタチン <sup>®</sup> *, エルビタックス <sup>®</sup> , ハーセプチン <sup>®</sup> ) チロシンキナーゼ阻害剤(タルセバ <sup>®</sup> , グリベック <sup>®</sup> )		大腸癌, 非小細胞肺癌, 頭頸部癌, 乳癌 非小細胞肺癌, 膝癌, CML, GIST

<sup>#</sup>アルキル化剤: ブスルファン, カルムスチン, シクロホスファミド, イホスファミド, ロムスチン, メルファラン, プロカルバジン.

\*アバスタチン: 卵巣毒性を有する可能性あり.

<sup>1)</sup>High risk: >70%の女性が治療後に無月経となる.

<sup>2)</sup>Intermediate risk: 30~70%の女性が治療後に無月経となる.

<sup>3)</sup>Lower risk: <30%の女性が治療後に無月経となる.

<sup>4)</sup>Very low or no risk: 月経には影響ない.

<sup>5)</sup>Unknown: 未知.

す. ASCO 2013 のガイドラインでは妊孕性温存方法を, 標準的治療(standard)と臨床試験段階治療(experimental)に分けている<sup>1)</sup>. 以下, それぞれについて, ASCO ガイドライン 2013 に基づいて説明する.

### 1. 胚(受精卵)凍結(カテゴリー: standard)

胚(受精卵)凍結は成熟卵を採卵し精子と受精さ

せて受精卵を体外で作成し凍結保存する方法であり, 一般不妊治療としても行われているもっとも確立された技術である. 配偶者の精子が必要で, 月経開始後から約2~4週間の時間が必要である.

### 2. 卵子(未受精卵)凍結

(カテゴリー: standard)

卵子(未受精卵)凍結は成熟卵を採卵し受精させ

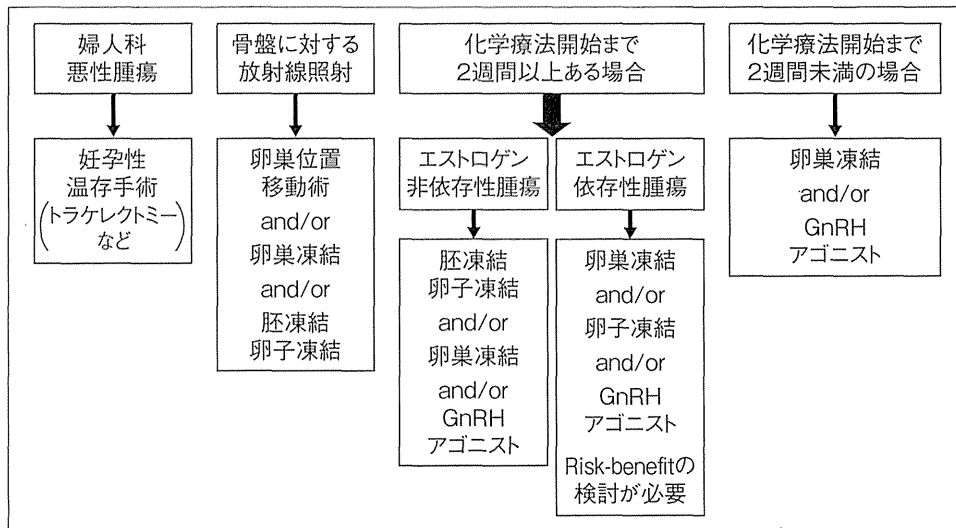


図 1 悪性腫瘍の種類および治療法から考慮される妊孕性温存療法の選択法

ないで凍結保存する方法であり，月経開始後から平均2~4週間の時間が必要である．移植当りの妊娠率は36~61%と報告されている<sup>4)</sup>．近年，凍結技術の進歩により妊娠率は改善しつつあるが，胚移植当りの生産率は悪くはないものの卵子当りの生産率は低い．配偶者がいなくても施行が可能であり，将来の婚姻関係に柔軟に対応できる利点がある．

### 3. 精子凍結(カテゴリー：standard)

精子凍結は射出精子を洗浄濃縮し凍結保存する確立された技術であり，24~48時間ごとに施行可能である．将来凍結精子を使用するときには人工授精や体外受精が必要になる．癌克服患者における凍結精子を利用した生殖補助医療を用いての妊娠率は20~27%と報告がある<sup>5)</sup>．

### 4. 卵巣遮蔽や卵巣位置移動術 (カテゴリー：standard)

卵巣遮蔽や卵巣位置移動術は放射線照射時に金属板で卵巣を遮蔽する方法<sup>6)</sup>や，放射線照射範囲外に卵巣位置を移動固定する方法であり，移動術は外科的処置(通常は腹腔鏡)が必要である．骨盤放射線治療からは，79~100%の卵巣機能を温存できるが<sup>7)</sup>，移動術の場合，化学療法による影響は避けられない．

### 5. 卵巣組織凍結(カテゴリー：experimental)

卵巣組織凍結は卵巣を摘出して(全部または一部の組織)凍結保存し，後に凍結卵巣を融解して移植するか，移植せずに体外培養により卵子を得

る方法である(未確立技術)．腹腔鏡下手術で行い，1~4日間あれば施行可能である．まだ世界で30名前後の出産例があるのみの新しい技術である<sup>8)</sup>．卵巣転移の可能性が高い患者には施行不可能であるが，小児女児にとっては唯一の妊孕性保存方法になる．詳細は後に述べる．

### 6. 精巣組織凍結(カテゴリー：experimental)

精巣組織凍結は精巣を生検で摘出して凍結保存し，後に凍結精巣を融解して移植するか，移植せずに体外培養により精子を得る(未確立技術)．ヒトでの成功率の報告はない．

**サイドメモ 1** 日本がん・生殖医療研究会 (JSFP)

JSFPは，がん・生殖医療の実践と啓発のため，2012年11月3日に設立されたNPO法人である。「がん治療医と生殖医療医と患者の間に生じている妊孕性温存に関する情報のギャップをなくし，より安全かつ確実な方法で患者が妊孕性温存治療を選択することができる社会づくり」を目的とし，日本の実情に合わせたガイドライン策定やネットワークの構築に向けての活動を行っている．若年癌患者に対する妊孕性温存療法に関する正確な情報を的確なタイミングで提供できるように，腫瘍専門医と生殖医療を専門とする産婦人科の密接な医療連携構築をめざしている．詳細はHPを参照されたい(<http://www.j-sfp.org/>)．



## 7. 卵巣機能抑制方法(ホルモン療法)

(カテゴリー: experimental)

卵巣機能抑制方法(ホルモン療法)は Gn-RH アナログを用いて卵巣機能を抑制する方法である。癌治療の2~4週間前から行うのが理想的であるが、その効果に関しては相反する報告があり、最近の報告では効果は否定的である<sup>9,10)</sup>。また、放射線療法からは卵巣機能を温存できない。

## 8. その他

ASCO 2013 ガイドラインでは精子ドナー、卵子ドナー、胚ドナー、代理母、養子縁組が standard カテゴリーとして提唱されている。日本では精子ドナーと養子縁組のみ法的に認められている。

## 卵巣組織凍結

1997年に Donnez らによって卵巣組織凍結はヒトに応用されるようになり、2004年に同じグループにより凍結卵巣融解移植による最初の出産例が報告された<sup>10)</sup>。Donnez らは25歳の Hodgkin 病患者(IV期)の卵巣を化学療法施行前に腹腔鏡下に一部摘出し凍結保存し、初回治療から6年経過した完全寛解後、融解した卵巣組織を卵巣の血管近傍の腹膜と右卵管采近傍の腹膜に自家移植したところ、移植後約半年で排卵を有する血中ホルモン動態を示すようになり、移植11カ月後に自然妊娠が成立した。これがヒトでの初めての生児獲得に成功した報告となった<sup>11)</sup>。その後も技術開発は続き、2008年には7名の出産例が報告された。現在、ヨーロッパを中心に卵巣組織凍結・自家移植が行われており、2013年2月の時点で、本技術によって24名の生児が得られていて、そのうちの約半数が自然妊娠であった<sup>12)</sup>。

2013年の Dolmans らのレビューでは、1997~2012年に582名の患者の卵巣組織凍結保存が報告されている<sup>12)</sup>。2013年5月に示された ASCO の Guideline Update において、卵巣組織凍結はいまだ“試験的な技術”であるとされている<sup>1)</sup>が、近年では「卵巣不全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癌患者に、選択肢として提供すべき医療行為である」と認識されつつある。

## 卵巣組織凍結の重要性

—小児にとっては唯一の妊孕性温存方法

卵巣組織凍結保存は配偶子凍結や卵子凍結保存に比べてより多くの卵子を保存できるうえ、エストロゲン分泌によるホルモン補充が可能となることから、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をもつ。

また、採卵を必要としないことから、小児にも施行可能であり、小児においては唯一の妊孕性温存方法になる。Poirot らは10歳の鎌状赤血球症患者の片側卵巣を摘出し、造血幹細胞移植後の13歳時に卵巣自家移植を行った。その結果、移植より8カ月後に初潮を認めることができたと報告しており、性成熟という点からも小児に対する卵巣移植の有用性が示されている<sup>13)</sup>。現在、小児に対する卵巣組織凍結保存は積極的に行われてきており、最近の卵巣凍結に関する報告の18%が14歳以下である<sup>14)</sup>。Jadoul は16歳以下の女児58人に対して、Fabbri は平均年齢13歳の45人に対して卵巣組織凍結保存を施行したという報告しており、さらに Michaeli らが作成した小児癌患者の卵巣凍結に関する新しいガイドラインでは、その適応をこれまで提言されていた3歳ではなく1歳以上とし、場合によってはそれ以下でも可能であるとして年齢的な適応を拡大している<sup>15)</sup>。

## 卵巣組織凍結保存の適応疾患

—微小残存病変の問題

Donnez らの施設においては卵巣組織凍結の対象を悪性疾患に限定せず、良性疾患でも化学療法を必要とする疾患や妊孕性を低下させうる免疫抑制剤を使用する膠原病、Turner 症候群などの早発卵巣機能不全の高リスク症例などさまざまな疾患を対象としている。Donnez らの施設における卵巣組織凍結の原疾患のうち悪性腫瘍は全体の82%であり、その内訳は血液腫瘍疾患(Hodgkin 病、非 Hodgkin 病、白血病など)がもっとも多く(44.3%)、乳癌(22.6%)、卵巣癌(9.6%)、横紋筋肉腫(9%)、子宮頸癌(5%)、脂肪肉腫(3.8%)と続いている<sup>16)</sup>。

悪性疾患を対象とする場合にもっとも問題となるのが、摘出卵巣における微小残存病変(minimal residual disease: MRD)の存在である。MRDが存在すると、癌治療後に卵巣移植した際に癌細胞が混入し再発するリスクがある<sup>17)</sup>。MRDの検出のためには組織学的な検索だけでは不十分であるといわれ、現在MRD検出方法として免疫組織染色、PCR法、実験動物への異種移植が実施されている。これまでに、卵巣組織の再移植による再発例の報告はないが、エビデンスは不十分であり、個々の症例ごとに癌の種類や進行度によって慎重に判断すべきである。

### 1. 白血病

白血病患者においては血中の腫瘍細胞はすべての臓器に存在しうると考えられ、癌細胞再移入の理論的リスクが高いため注意が必要であり、卵巣組織凍結・移植は禁忌であると考えられる。Rosendahlらの2010年の報告では、26例の白血病患者から採取した卵巣組織の免疫組織検査では悪性細胞は存在しなかった。しかし、そのうちの8例にPCR法を施行したところ、6例が陽性であったとされている<sup>18)</sup>。一方で、PCR法が陽性でもかならずしも腫瘍細胞が生存して再発するとは限らない。Dolmansらは、PCR法で白血病陽性マーカーが陽性であった9症例の卵巣組織の一部を免疫不全マウスへ移植したところ、癌細胞の増殖を認めたのは4症例であったと報告している<sup>19)</sup>。

### 2. 乳癌

乳癌は生殖年齢女性に高頻度に発症する悪性腫瘍である。58例の乳癌患者の卵巣組織を凍結し異なる3カ所から切片を作成し免疫組織化学染色を行ったところ、3.4%に乳癌細胞が検出されたとの報告もある<sup>20)</sup>一方で、初期の乳癌患者51症例の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ことから<sup>21)</sup>、乳癌の安全性および危険性についても一定の見解が得られていない。また、遺伝性乳癌・卵巣癌症候群の観点から、遺伝性乳癌(BRCA1・BRCA2遺伝子変異)患者に対する取扱いは慎重に行うべきである。

Rosendahlらの報告では、乳癌I～III期の51例から採取した卵巣皮質生検標本を対象とした病理組織検査と免疫染色では悪性腫瘍細胞は存在せ

ず、それらを免疫不全マウスに異種移植したが、いずれも再発を認めなかった<sup>22)</sup>。

## ● 卵巣組織の凍結方法

### — 新しいガラス化法の可能性

卵子や胚の凍結技術は、①緩慢凍結法と②ガラス化法の大きく2つに分かれる。緩慢凍結法は古くから開発された技術で、プログラムフリーザーを用いて凍結保護剤で処理した検体を一定の速度で冷却する方法である。この方法は高価な装置が必要で数時間の時間がかかり、組織へのダメージが比較的大きいことがデメリットであった。一方、ガラス化法(vitrification法)は、凍結保護剤で処理した検体を直接液体窒素に投入し急速に凍結する方法である。簡単なキットが開発されており、組織へのダメージが少なく短時間(約40分)で行えるメリットがあり、液体窒素の管理が可能であればどの施設でも施行可能である。現在の生殖医療現場での卵子や胚凍結はほとんどガラス化法で行われている。

これまでヨーロッパにて卵巣凍結によって得られた生児がすべて緩慢凍結法であることから<sup>23)</sup>、現時点では緩慢凍結法が標準的な卵巣組織凍結保存である。しかし、ヒト卵巣組織を用いた最近の検討では、ガラス化法のほうが緩慢凍結法よりも卵巣組織の形態や内分泌機能を保持する点で優れているとする報告がみられるようになった<sup>24,25)</sup>。ガラス化法は緩慢凍結法と比較して超急速に冷却するため氷晶形成が起こりにくく、組織へのダメージが少ない。しかし、グリセリンやDMSO、propandiolなどの細胞毒性を有する高濃度の耐凍剤に直接的に触れるため、組織への化学的障害が起こる可能性があり、安全性の確認や至適条件の検討が今後も必要である。実験レベルではガラス化法の有用性は十分に示されていて、今後ヒトでの臨床応用が期待される。

著者らの研究グループ(IVFなんばクリニック・森本義晴、橋本周、矢持隆行、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)はクライオサポートを用いた卵巣組織のガラス化法を開発し、ガラス化法を用いた凍結卵巣の融解自家移植を行っ

た。そして霊長類ではじめて、移植卵巣から採卵した卵子を用いた受精卵の獲得に成功した<sup>26-28)</sup>。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“若年女性癌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、わが国ではじめてガラス化法の臨床応用を開始し、2013年12月現在、41症例に対して卵巣組織凍結・移植を施行している。

著者らは進行性に原始卵胞数が減少する早発閉経患者に対しても卵巣組織凍結の技術を応用し、卵巣組織を卵管へ移植した結果(IVA技術と併用)、2012年12月に世界ではじめてガラス化法によって生児を得ることができた<sup>29)</sup>。現在、あらたに妊娠継続中の患者がもう1人いることから、わが国の癌患者への応用が期待される。なお、2013年12月の段階で、わが国では7施設(岡山大学、聖路加国際病院、聖マリアンナ医科大学、順天堂大学、札幌医科大学、岐阜大学、滋賀医科大学)において、各施設のIRBにて本技術の臨床応用が承認されている。

## 卵巣組織凍結の将来

若年癌患者の妊孕性温存療法においては、原疾

患が診断されて治療開始までの与えられた期間は長くても1カ月以内であることが多い。つまり体外受精し胚凍結が行えたとしても1~2クールが限界であり、一生分の妊孕性温存としてはけっして満足な治療にはならないが、卵巣凍結は多数の原始卵胞を1回に凍結することが可能であり、その方法は世界中で技術改革が試みられている。凍結組織切片の大きさや耐凍剤の種類や濃度の調整、凍結のデバイスなど技術に関する基礎研究も日々進歩している。凍結卵巣を移植しなくても体外で培養し成熟卵を得ることが可能になれば、微小残存病変混入のリスクはなくなる。その開発が進んでいることから、臨床応用がおおいに期待される(「サイドメモ2」参照)。

新しい凍結方法であるガラス化法による卵巣凍結の臨床結果は数年のうちにわが国において蓄積されると予想され、その安全性が確立されれば、緩慢凍結法に代わって今後一般的になる可能性がある。ガラス化法での卵巣組織が一般的になれば、施行できる施設の数も増え、妊孕性温存を希望する患者がより効率的に治療を受けられる環境ができる。卵巣組織凍結は採卵が必要ないためどの年齢でも施行可能である点、手術さえ可能な状態であれば数日という短期間で施行できる点、大量の原始卵胞を保存できる点で、他の妊孕性温存療法より優れた治療法である。今後さらに技術の確立と安全性など適応の検討が十分に必要であるものの、若年癌患者の妊孕性温存療法の主要な方法のひとつとして近い将来確立されることが予想される。卵巣組織凍結・移植が若年癌患者の未来への希望につながることを期待している。

## 文献

- 1) Loren, A. W. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **19** : 2500-2510, 2013.
- 2) Lee, S. J. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **24** : 2917-2931, 2006.
- 3) Von Wolff, M. et al. : *Arch. Gynecol. Obstet.*, **284** : 427-435, 2011.
- 4) Pfeifer, S. et al. : *Fertil. Steril.*, **99** : 37-43, 2013.
- 5) van Casteren, N. J. et al. : *Fertil. Steril.*, **90** : 2245-2250, 2008.
- 6) Nakagawa, K. et al. : *Bone Marrow Transplant.*, **37** : 583-587, 2006.
- 7) Wo, J. Y. and Viswanathan, A. N. : *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **73** : 1304-1312, 2008.
- 8) Silber, S. J. : *Mol. Hum. Reprod.*, **18** : 59-67, 2011.

サイド  
メモ  
2

### IVFからIVG-IVMへ

IVF(*in vitro* fertilization)体外受精は成熟卵胞を採取して受精させる生殖補助技術であるが、IVM(*in vitro* maturation)は未熟卵子を採取して体外培養し成熟させてから受精させる方法である。両者とも臨床的に確立された方法であり、一定の妊娠率を得ることができている。一方、IVG(*in vitro* growth)とは、さらにその前段階の卵胞そのものを体外で培養し卵子を得ようとする方法であり、ヒトにおける成功例はまだない。現在、ヒトのIVGでは、前胞状卵胞までは組織培養を行い、組織中で透見できるまでに成長してから卵胞を単離し培養して成熟卵を得ることに成功している。IVGが可能になれば、凍結卵巣組織を移植しなくても体外で成熟卵を得ることができるようになり、数万個の原始卵胞を活用できるようになる。今後さらに研究が発展し、IVG-IVMの臨床応用が可能となることを期待したい。

- 9) Bedaiwy, M. A. et al. : *Fertil. Steril.*, **95** : 906-914, 2010.
- 10) Hubinont, C. et al. : *Lancet*, **380** : 107-108, 2012.
- 11) Dolmans, M. M. et al. : *Fertil. Steril.*, **99** : 1514-1522, 2013.
- 12) Dolmans, M. M. et al. : *J. Assist. Reprod. Genet.*, **3** : 305-314, 2013.
- 13) Poirot, C. et al. : *Lancet*, **379** : 588, 2012.
- 14) Rosendahl, M. et al. : *Reprod. Biomed. Online*, **22** : 162-171, 2010.
- 15) Michaeli, J. et al. : *Obstet. Gynecol. Int.*, **2012** : 139193, 2012.
- 16) Schlatt, S. et al. : *Pediatr. Blood Cancer*, **53** : 274-280, 2009.
- 17) Dolmans, M. M. et al. : *Fertil. Steril.*, **99** : 1514-1522, 2013.
- 18) Rosendahl, M. et al. : *Fertil. Steril.*, **94** : 2186-2190, 2010.
- 19) Dolmans, M. M. : *Blood*, **116** : 2908-2914, 2010.
- 20) Sánchez-Serrano, M. et al. : *Hum. Reprod.*, **24** : 2238-2243, 2009.
- 21) Rosendahl, M. et al. : *Fertil. Steril.*, **95** : 2158-2161, 2011.
- 22) Rosendahl, M. et al. : *Reprod Biomed. Online*, **22** : 162-171, 2011.
- 23) Donnez, J. et al. : *Ann. Med.*, **43** : 437-450, 2011.
- 24) Isachenko, V. et al. : *Reproduction*, **138** : 319-327, 2009.
- 25) Oktem, O. et al. : *Fertil. Steril.*, **95** : 2661-2664, 2011.
- 26) Hashimoto, S. et al. : *Reprod. Biomed Online*, **21** : 501-509, 2010.
- 27) Igarashi, S. et al. : *Hum. Cell*, **23** : 26-34, 2010.
- 28) Suzuki, N. et al. : *Hum. Reprod.*, **27** : 2420-2429, 2012.
- 29) Kawamura, K. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110** : 17474-17479, 2013.

\* \* \*

\*\* 次号の特集予告 (249 巻 2 号) \* \* \* \* \*

## ◆IPMN (膵管内乳頭粘液性腫瘍) Update

(企画：真口宏介／手稻溪仁会病院消化器病センター)

\* \* \* \* \*

膵管内乳頭粘液性腫瘍 (intraductal papillary mucinous neoplasm : IPMN) は通常型膵癌 (以下、膵癌) と同様に膵管上皮から発生するが、膵管内腔に増殖・進展しやすく、粘液の産生・貯留によって膵管拡張を呈する。また、病理組織学的には腺癌のほか腺腫があり、癌であっても膵癌とは異なる進展・浸潤様式を示し、予後良好例が多い。このため手術適応例と経過観察可能例が存在し、治療指針が重要となる。また、近年の画像診断の進歩と普及により、膵嚢胞として発見され、日常診療で比較的良好に遭遇する病態に位置している。本特集では、これらの変遷と現状での IPMN に対する治療方針、経過観察に際しての留意点について、各専門の先生方に概説いただく。