

## 主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

今西 博治

専攻分野：産婦人科学

コース：

指導教授：鈴木 直

主論文の題目：

Anti-aging Effect on Skin of Autologous Transplantation of Tissue Fragments from Thawed Cryopreserved Ovaries

(凍結融解卵巣組織片自家移植による皮膚の抗加齢効果の検討)

共著者：

Suguru Igarashi, Yoko Yamaguchi, Nao Suzuki

緒言

更年期障害に有効な治療法であるホルモン補充療法 (Hormone replacement therapy : HRT) は、美容に対する効果も有している。しわやたるみなどの皮膚の老化現象の抑制は、患者の QOL を保つ上で重要な意味を有するが、基礎的研究が多くなされていない現状がある。そこで、本研究では欧州で近年検討されている凍結卵巣組織の再利用 (融解・移植) による組織ホルモン療法 (tissue hormone therapy : THT) の有効性を検証するため、実験動物を用いて皮膚の弾性力への効果 (抗加齢効果) を指標として HRT との比較検討を行った。

方法・対象

皮膚弾性力の効果判定にはキュートメーターを用い、皮膚の張りに関わる以下の項目を検証した；拡張後の復元率（以後 R2）、弾性変形に対する粘弾性の比率（以後 R6）、収縮時の弾性部分の比率（以後 R7）。統計解析は SPSS を用い、2 元配置分散分析を行った。本研究は聖マリアンナ医科大学動物実験委員会の承認を得ている（承認番号：第 1510009 号）。

#### 実験 1：卵巣摘出が体重と皮膚に及ぼす影響の検証

6 週齢のマウス（各群 n=5）を用いて A 群（Sham ope 群、以後 S0 群）、B 群（卵巣摘出群、以後 OVX 群）、C 群（卵巣組織凍結保存後、融解・移植群、以後 THT 群）を設定した。卵巣摘出後から 1 週間毎に体重、皮膚の弾性力（R2、R6、R7）を経時的に評価した。さらに 13 週後に組織学的評価と血中エストロゲン濃度（以後 E2）測定を行った。なお、C 群は卵巣摘出 9 週間後に凍結保存した卵巣を融解・移植し、1 週間後に月経周期の回復を確認している。

#### 実験 2：閉経後長期経過後の HRT が体重と皮膚に及ぼす影響の検証

6 週齢のマウスから卵巣を摘出し、13 週間後に  $17\beta$ -estradiol の皮下投与（0、250、2500、25000pg：各 n=2）と腹腔内投与（0、25000pg：各 n=2）を行った。1 週間毎に 2 回、体重と皮膚の弾性力を評価した。

#### 実験 3：閉経直後の THT と HRT が体重と皮膚に及ぼす影響の検証

6 週齢のマウス（各群 n=5）を用いて OVX 群、S0 群、コントロール群（オリーブオイル投与群：以後 C 群）、E 投与群（以後 E 群）、プロゲステロン（以後 P）投与群（以後 P 群）、E+P 投与群（以後 E+P 群）、THT 群を作成した。卵巣摘出後 3~4 日毎に E は 25000pg、P は 1mg を腹腔内に投与し、経時的に体重変化と弾性力を評価した。また、実験開始 21 日後に皮膚の組織学的評価を行った。

#### 結果

実験 1:皮膚の弾性力を比較するため、各群について多重比較をおこなった結果、R7 において摘出後 2 週間で OVX 群、THT 群は S0 群より有意に低く（A vs B p=0.016、A vs C p=0.034）、3 週間でも THT 群は S0 群

より有意に低かった( $p=0.041$ )。平均体重は摘出後7週目以降でS0群と比較してOVX群及びTHT群で有意に増加した(9週目： $p=0.022$ )。

凍結卵巣を融解・移植し4週間経過観察を行ったが各群の弾性力や平均体重に有意差を認めなかった。組織学的評価でも真皮層や筋層の厚さやコラーゲン含有量に有意な差を認めなかった。平均血中E2濃度はS0群で5 pg/ml、OVX群とTHT群は測定感度以下であった。

実験3：作成した7群の経時的な体重変化と弾性力を評価した結果、各群間で平均体重変化に有意差は認めなかった。R7では群の多重比較では有意差を認めなかったが、時点の多重比較に有意差を認めた。各群の単純主効果の検定ではS0群、E群は時点の効果が有意でなかったが、残り5つの群で時点による差を認めた。時点毎の群間比較では、14日目と18日目ではOVX群とS0群、S0群とTHT群に有意差を認めた(S0群>OVX群、S0群>THT群)。また21日目ではOVX群とS0群に有意差が認められた(S0群>OVX群)。

#### 考察

本研究では、凍結卵巣組織の閉経後の自己再利用(融解・移植)によるTHTが、皮膚の弾性力を指標とした場合、HRTを凌駕するか否か検討を行った。その結果実験1では、卵巣摘出によりR7において3週間後に一時的に有意に皮膚の弾性力は低下したが、その後回復し有意差がなくなった。また、9週間後に凍結保存された卵巣を融解、移植したが弾性力や体重に変化はなかった。一時的に低下した皮膚の弾性力がその後回復した理由として、コラーゲンの合成を促進し血管新生を刺激する作用、創傷治癒を早める作用を有する成長ホルモンが関与していた可能性が考えられる。実験2では、移植した卵巣の機能不全の可能性を考慮し、実験1の卵巣移植と同時期にEを投与したが、弾性力に変化を認めなかった。以上の結果から、実験3では卵巣摘出後早期からのエストロゲン投与や卵巣組織移植が、卵巣摘出による一時的な皮膚弾性力の低下を抑制し、さらにS0群よりも弾性力を増加させる可能性を仮説とした。

その結果、THT 群は S0 群よりも弾性力を増加させる効果が認められなかった。しかし、卵巣移植後 18 日目では、S0 群と比較して THT 群の弾性力は有意に低値にも関わらず、21 日目では S0 群、E 群と有意差なく回復していた。以上、卵巣組織移植 3 週間後頃より皮膚への効果が現れたことから、皮膚の弾性力を指標とした場合 THT が HRT と同等の効果を発揮する可能性が示唆された。本研究結果から、凍結法や移植法の改良を進めることで、早発卵巣不全となった若年がん患者や婦人科疾患により若年で卵巣を摘出せざる得ない患者対して、THT が見た目の QOL を保つ治療として一つの選択肢となる可能性が期待できると考えている。