

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名 : (日本語) 成育疾患克服等総合研究事業  
(英語) Project for Baby and Infant Research of Health and Development to Adolescent and Young Adult
- 研究開発課題名 : (日本語) 卵子の老化および生殖細胞、卵巣の凍結保存に関する研究  
(英語) Investigation of the Mechanisms Regulating Ovarian and Oocyte Aging, and the Establishment of Cryopreservation Methods for Oocytes and Ovarian Tissue
- 研究開発担当者 (日本語) 東京大学大学院医学系研究科産婦人科学 教授 大須賀 穰  
所属 役職 氏名 : (英語) Yutaka Osuga, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Graduate School of Medicine, University of Tokyo
- 実施期間 : 平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) ①卵子老化対策に関する生殖医療技術の臨床応用に関する諸規則整備に関する研究  
②卵子・卵巣組織の凍結保存に関する諸規則整備に関する研究
- 開発課題名 : (英語) Perspective of assisted reproductive technic for advanced-age clients and its regulation
- 研究開発分担者 (日本語) 徳島大学・大学院医歯薬学研究部 教授 苛原 稔  
所属 役職 氏名 : (英語) Minoru Irahara, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, University of Tokushima
- 分担研究 (日本語) ①卵の質を低下させる分子基盤の解明  
②卵の加齢および質の低下の指標となる分子マーカーの開発  
③卵の加齢および質の低下における診断基準の確立
- 開発課題名 : (英語) Investigation of granulosa cells regulating oocyte quality and aging

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立成育医療研究センター 周産期・母性診療センター  
副周産期・母性診療センター長 齊藤 英和

所属 役職 氏名: (英語) Hidekazu Saito, Vice-Director, Department of Perinatal Medicine and  
Maternal Care, National Center for Child Health and Development

分担研究 (日本語) ①卵胞内エクソソームに注目した卵子老化の研究

開発課題名: (英語) Characterization of exosomes in ovarian follicles and their role  
in oocyte aging

研究開発分担者 (日本語) 慶應義塾大学 医学部 産婦人科 専任講師 浜谷敏生

所属 役職 氏名: (英語) Toshio Hamatani, Assistant Professor, Department of Obstetrics and  
Gynecology, Keio University School of Medicine

分担研究 (日本語) ①ヒト卵子ならびに初期胚におけるミトコンドリア(mt)の質評価

②加齢マーカー候補の抽出と加齢モデル動物における生殖能低下原因の  
解析

開発課題名: (英語)

1. Quantitative and qualitative changes of mitochondria in human preimplantation embryos.
2. Analysis of relationship between maternal age and decrease of reproduction.

研究開発分担者 (日本語) 医療法人三慧会 IVF なんばクリニック 理事長 森本 義晴

所属 役職 氏名: (英語) Yoshiharu Morimoto, CEO, IVF Namba Clinic

分担研究 (日本語) ①卵巣組織の凍結融解の卵子・卵巣組織への影響の検討

開発課題名: (英語) Investigation of effect that frozen-thawed ovary on oocyte and  
ovarian tissue.

研究開発分担者 (日本語) 聖マリアンナ医科大学産婦人科学 教授 鈴木直

所属 役職 氏名: (英語) Nao Suzuki, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology,  
St. Marianna University School of Medicine.

分担研究 (日本語) ①卵子保存を行う場合の最適な排卵誘発方法およびスケジュールの策定

②卵子および卵巣組織の凍結保存液および凍結保存デバイスの改良

③卵子の凍結融解後の至適培養条件の検討

開発課題名: (英語)

- ① The evaluation of the optimal timing of oocyte retrievals for oocyte cryopreservation
- ② The improvement of the vitrification media and devices in oocyte and ovarian tissue vitrification
- ③ The assessment of optimal culture condition of vitrified-warmed oocytes following intracytoplasmic sperm injection (ICSI)

研究開発分担者 (日本語) 加藤レディースクリニック 院長 加藤 恵一

所属 役職 氏名: (英語) Keiichi Kato, General Director, Kato Ladies Clinic

分担研究 (日本語) ①卵子・卵巣組織凍結保存の標準化 (閉鎖系システム)  
開発課題名: (英語) Standardization of oocyte and ovarian tissue cryopreservation  
(Closed System)  
研究開発分担者 (日本語) 北里バイオファルマ 井上 太綏  
所属 役職 氏名: (英語) Futoshi Inoue, Kitazato Biopharma Co., Ltd.

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### 和文

AGE/sRAGE 濃度比が良好胚を容れていた卵胞液において、非受精卵あるいは不良胚を容れていた卵胞液よりも低い傾向にあることを見出した。また卵胞液中の酸化ストレスマーカー-d-ROMs test、抗酸化能マーカー-BAP test を測定し、dROM  $383.64 \pm 120.51$  CarrU (中央値 381)、BAP  $2341 \pm 688$  CarrU (中央値 2243) という値を得た。培養顆粒膜細胞を用いた実験より卵胞局所における糖化ストレスの蓄積は、顆粒膜細胞において、炎症反応・酸化ストレス反応・小胞体ストレス応答という互いに関連する病態を惹起することが示唆された。

卵子の老化対策に関係する生殖医療の新しい技術の状況を把握するため、諸外国を含めた情報収集を行った。ミトコンドリア置換技術である AUGMENT 療法 (卵巣から抽出した卵子前駆細胞のミトコンドリアを卵子に注入する方法) に関しては、当該施設における施設内臨床研究倫理審査委員会で審査を行い、臨床研究の登録を行った上で、実施施設の責任下に行われるべきとの方針が、日本産科婦人科学会から示され、当該施設の管理下で実施されていることが確認された。一方、体外での配偶子再形成 (in vitro gametogenesis, IVG) に関する基礎的研究では、多能性細胞を用いた体外卵子形成が、ほぼ完成していることが公表されている。また、卵子・卵巣組織の凍結保存に関する諸規則整備に関して、本邦での関係する学会である、日本生殖医学学会、日本産科婦人科学会が公表しているガイドライン、見解、留意事項を収集し、本技術の問題点を抽出した。

加齢にともなう卵巣での妊孕性の低下に関し、顆粒膜細胞の機能低下に着目し、遺伝子発現変化を網羅的に明らかにし、生理学的観点からも解析することで、卵の質の低下に直結するシグナル経路の一端を明らかにした。その成果としてオートファジーの制御タンパク質である LC3 の発現が顆粒膜細胞の機能低下にともない異常に増加し、細胞死につながる可能性を示した。

採卵時に大卵胞より回収される卵胞吸引液を卵胞それぞれについて1つのサンプルとして凍結保存を行っており、卵胞液中のエクソソーム内の miRNA 網羅的解析およびタンパク質プロファイリングは2017年度に開始する予定である。一方、顕微授精後に胚盤胞培養した胚の使用済み培養液についても1つの胚それぞれについて1つのサンプルとして凍結保存している。使用済み胚盤胞培養液と胚を入れずに培養したコントロール培養液について miRNA 網羅的解析を行った結果、胚から放出される miRNA が多数存在することが明らかとなった (e.g. has-mir-181a, 181b, 302a など)。

ヒト初期胚におけるミトコンドリアでの酸素消費能はその発育に伴い、上昇した。しかし、ミトコンドリア DNA コピー数はいったん減少し、胞胚腔の形成前に、ミトコンドリアでの ATP 合成能が急激に高まり、その後ミトコンドリア DNA コピー数が増加した。

マウスを用いて凍結前の卵巣組織保存が後の妊孕性に与える影響を調べた。その結果、卵巣摘出から凍結保存までの保存時間の延長に伴い、移植後の妊孕性 (妊娠率、産仔獲得数) が低下する事を明らかにし

た。一方米国の NYMC との共同研究は、卵巣組織凍結における凍結方法違いにおける検討中である。本研究はヒト卵巣組織の実験であり、New York Organ Donor より提供を受けている。凍結方法は、Slow freezing(緩慢凍結)、Vitrification open device(超急速冷凍法、開放型デバイス)、Vitrification closed device(超急速冷凍法、閉鎖型デバイス)にて実施している。比較検討はコントロール(非凍結)、および上記条件にて凍結後融解し、培養を実施、組織内卵胞の生存率(組織固定標本および免疫染色)および組織を融解後 Laser Micro Dissection を行い、Primordial follicle、Primary follicle に分け、RNA 抽出、遺伝子増幅を行い、RNA sequence を実施予定である。現状では遺伝子増幅の段階が上手くいかず、増幅方法の検討を行っているが、組織固定標本および免疫染色は終了し、遺伝子増幅の検討が終わり次第、RNA sequence に移行する予定である。実験者は、卵巣組織を受け取り、卵巣組織凍結および卵巣組織融解、卵巣の培養およびサンプルの固定、免疫染色までは、杉下陽堂が実施し、New York Medical College 産婦人科、Dr.Shiny Titus と川原泰によって遺伝子増幅の検討予定となっている。

妊孕性温存を目的として卵子保存を行った乳がん患者の後方視的解析ならびに生殖医療医と乳腺外科医との意見交換を行ったことにより、妊孕性温存において、がん患者、生殖医療医並びに乳腺外科医が抱える問題点を抽出した。卵巣組織保存においては、ヒト血清成分を含まない凍結保存液を開発しその有用性を明らかとした。卵子凍結保存においては、卵子凍結時の平衡過程における CPA 濃度変化を緩和化すること、また、凍結保存液に脂肪酸を添加することで、凍結融解卵子の受精後の発生能向上を可能とした。

## 英文

The AGE/sRAGEs ratio in follicular fluid (FF) of IVF patients tended to be lower in FF containing high-quality embryo than in FF with poor-quality embryo or oocyte without fertilization capacity. The oxidative stress marker, d-ROMs, and the anti-oxidant marker, BAP, in FF were measured. The average concentration was  $383.64 \pm 120.51$  CarrU for d-ROMs, and  $2341 \pm 688$  CarrU for BAP, respectively. *In vitro* experiments using human cultured granulosa cells suggested that AGE induces local inflammation, oxidative stress, and endoplasmic reticulum stress, the pathologies closely interrelated each other.

As assisted reproductive technics for qualitative improvement of oocyte are being proposed, we analyzed the present state of these technologies and make an objective for guidelines. Japan Society of Obstetrics and Gynecology made a recommendation to the clinical facility and physicians who plan to introduce the mitochondrial replacement technique to clinical use, and the procedure must be approved by the in-facility clinical research ethical committee and registered on the basis of the national guideline, then perform under the responsibility of the facility. On the other hand, the *in vitro* gametogenesis with pluripotent stem cells has been reported as nearly completed.

A fertility preservation by cryopreservation of oocytes/ovaries is expected in terms of medical and non-medical reasons. To purpose a regulation for fertility preservation, we reviewed guidelines and notes published by Japan Society of Reproductive Medicine and Japan Society of Obstetrics and Gynecology.

Since autophagy is a mechanism clearing wastes inside cells and maintaining cell quality, autophagy-related proteins are potent candidates for biomarkers of granulosa cells. We address this issue by examining the expression of an autophagy-related protein LC3 in granulosa cells collected from patients undergoing fertility treatment. Our result suggests that excessive LC3 expression reflects the alarmed state of disabled autophagy in granulosa cells.

Human single embryo (fertilized by ICSI) was cultured in a 30 ul-drop of single step medium during the fertilized-egg to the blastocyst stage. When a blastocyst with at least grade B trophoectoderm and inner cell mass was harvested, spent culture medium (~25 ul) was stored at -80 °C with respect to each embryo separately. A pool was made using 20 stored medium samples which were consequently contributed to pregnancy after embryo transfer. A spent-medium pool and control-medium pool were analyzed by RNA-seq. Over 20 miRNAs such as has-mir-181a, 181b and 302a were significantly secreted into the spent-medium pool compared to the control-medium pool.

The mitochondrial respiratory function of human embryos developed along with embryonic growth although the copy numbers of mtDNA decreased transiently before blastulation. OCRs increased toward the morula stage ahead of an increase of mtDNA at the time of blastulation. Data regarding changes in mitochondrial function and mtDNA copy number during preimplantation development of human embryos will be useful for the development of ideal culture media.

As necessary, transportation of isolated ovarian tissue is conducted for cryopreservation in Europe. However, effect of storage during transportation on fertility has not been investigated. We investigated effect that ovarian tissue storage before cryopreservation has on fertility using by mice. We demonstrated that the fertility (pregnancy rate and number of live birth) decrease as storage before cryopreservation is prolonged. The research between New York Medical College (NYMC) and St. Marianna University is an evaluation of the freezing methods in ovarian tissue cryopreservation. The methods of the cryopreservation are conducted by slow freezing, vitrification (open device) and vitrification (closed device). The ovaries of our experiments were provided by New York Organ Donor(NYOD). The experiments are counting follicles of primordial follicles and primary follicles in control, cryopreserved and thawed ovaries by immunostaining and RNA sequence after thawing and culturing ovaries, doing Laser Micro Dissection(LCM) and extracting and amplifying RNA. We finished collecting samples, cryopreserved and thawed ovaries, making blocks for immunostaining and LCM and staining samples by immunostaining. We stuck the amplifying RNA for some months because the amount of RNA from LCM was too small. But the sample was very specific one. And recently we might solve the amplification. We are trying to amplify and sequence a part of our samples. In these works, Dr. Yodo Sugishita was receiving the ovaries from NYOD and freezing, thawing, culturing, fixing, staining samples by immunostaining, making OCT blocks for LCM, doing LCM and amplifying some samples. Dr. Shiny Titus in NYMC has been trying to modify the protocol of the amplification concerned with RNA sequence. Dr. Sugishita came back to Japan to work at St.Marianna university in the end of March, 2017 and Dr. Tai Kawahara from St. Marianna University took over the works from Jan, 2017.

A retrospective analysis of patients who underwent oocyte cryopreservation in Kato Ladies Clinic and meetings with oncologists and gynecologists enabled us to extract the concerns which patients, oncologists and gynecologists raised with regard to oocyte cryopreservation as fertility preservation. In ovarian tissue cryopreservation, the chemical defined vitrification media was developed. In addition, we found that the developmental competence of vitrified warmed oocytes was improved by gradual cryoprotectant agent (CPA) exchange during the equilibration process of oocyte vitrification and by the supplementation of chemically defined lipid concentrate in the vitrification media.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0件、国際誌 32 件)

1. Yamada-Nomoto K, Yoshino O, Akiyama I, Iwase A, Ono Y, Nakamura T, Harada M, Nakashima A, Shima T, Ushijima A, Osuga Y, Chang RJ, Shimasaki S, Saito S. PAI-1 in granulosa cells is suppressed directly by statin and indirectly by suppressing TGF- $\beta$  and TNF- $\alpha$  in mononuclear cells by insulin-sensitizing drugs. *Am J Reprod Immunol*. 2017 Mar 24. doi: 10.1111/aji.12669. [Epub ahead of print]
2. Makabe T, Koga K, Miyashita M, Takeuchi A, Sue F, Taguchi A, Urata Y, Izumi G, Takamura M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Drospirenone reduces inflammatory cytokines, vascular endothelial growth factor (VEGF) and nerve growth factor (NGF) expression in human endometriotic stromal cells. *J Reprod Immunol*. 2017 ;119:44-48.
3. Takahashi N, Harada M, Hirota Y, Zhao L, Azhary JM, Yoshino O, Izumi G, Hirata T, Koga K, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. A Potential Role for Endoplasmic Reticulum Stress in Progesterone Deficiency in Obese Women. *Endocrinology*. 2017;158:84-97
4. Takeuchi A, Koga K, Miyashita M, Makabe T, Sue F, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Fujii T, Osuga Y. Dienogest reduces proliferation, NGF expression and nerve fiber density in human adenomyosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016;207:157-161
5. Fujii T, Wada-Hiraike O, Nagamatsu T, Harada M, Hirata T, Koga K, Fujii T, Osuga Y. Assisted reproductive technology pregnancy complications are significantly associated with endometriosis severity before conception: a retrospective cohort study. *Reprod Biol Endocrinol*. 2016;14:73.
6. Izumi G, Koga K, Takamura M, Makabe T, Nagai M, Urata Y, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Fujii T, Osuga Y. Mannose receptor is highly expressed by peritoneal dendritic cells in endometriosis. *Fertil Steril*. 2017;107:167-173.e2
7. Takamura M, Koga K, Izumi G, Urata Y, Nagai M, Hasegawa A, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Neutrophil depletion reduces endometriotic lesion formation in mice. *Am J Reprod Immunol*. 2016;76:193-8
8. Harada M, Osuga Y. Where are oncofertility and fertility preservation treatments heading in 2016? *Future Oncol*. 2016;12:2313-21
9. Takahashi N, Harada M, Hirota Y, Zhao L, Yoshino O, Urata Y, Izumi G, Takamura M, Hirata T, Koga K, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. A potential role of endoplasmic reticulum stress in development of ovarian hyperstimulation syndrome. *Mol Cell Endocrinol*. 2016;428:161-9.
10. Makii C, Oda K, Ikeda Y, Sone K, Hasegawa K, Uehara Y, Nishijima A, Asada K, Koso T, Fukuda T, Inaba K, Oki S, Machino H, Kojima M, Kashiyama T, Mori-Uchino M, Arimoto T, Wada-Hiraike O, Yano KK, Fujiwara K, Aburatani H, Osuga Y, Fujii T. MDM2 is a potential therapeutic target and prognostic factor for ovarian clear cell carcinomas with wild type TP53. *Oncotarget*. 2016 Sep 21. doi: 10.18632/oncotarget.12175. [Epub ahead of print]

11. Nakamura H, Taguchi A, Kawana K, Kawata A, Yoshida M, Fujimoto A, Ogishima J, Sato M, Inoue T, Nishida H, Furuya H, Tomio K, Eguchi S, Mori-Uchino M, Yamashita A, Adachi K, Arimoto T, Wada-Hiraike O, Oda K, Nagamatsu T, Osuga Y, Fujii T. STAT3 activity regulates sensitivity to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis in cervical cancer cells. *Int J Oncol*. 2016 Sep 6. doi: 10.3892/ijo.2016.3681. [Epub ahead of print]
12. Haraguchi H, Koga K, Takamura M, Makabe T, Sue F, Miyashita M, Urata Y, Izumi G, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Wada-Hiraike O, Oda K, Kawana K, Fujii T, Osuga Y. Development of ovarian cancer after excision of endometrioma. *Fertil Steril*. 2016 Aug 18. pii: S0015-0282(16)62507-4
13. Inoue T, Adachi K, Kawana K, Taguchi A, Nagamatsu T, Fujimoto A, Tomio K, Yamashita A, Eguchi S, Nishida H, Nakamura H, Sato M, Yoshida M, Arimoto T, Wada-Hiraike O, Oda K, Osuga Y, Fujii T. Cancer-associated fibroblast suppresses killing activity of natural killer cells through downregulation of poliovirus receptor (PVR/CD155), a ligand of activating NK receptor. *Int J Oncol*. 2016; 49: 1297-304.
14. Yoshida M, Taguchi A, Kawana K, Adachi K, Kawata A, Ogishima J, Nakamura H, Fujimoto A, Sato M, Inoue T, Nishida H, Furuya H, Tomio K, Arimoto T, Koga K, Wada-Hiraike O, Oda K, Nagamatsu T, Kiyono T, Osuga Y, Fujii T. Modification of the Tumor Microenvironment in KRAS or c-MYC-Induced Ovarian Cancer-Associated Peritonitis. *PLoS One*. 2016; 11: e0160330.
15. Takamura M, Koga K, Izumi G, Urata Y, Nagai M, Hasegawa A, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Neutrophil depletion reduces endometriotic lesion formation in mice. *Am J Reprod Immunol*. 2016; 76: 193-8.
16. Fujimoto A, Kawana K, Taguchi A, Adachi K, Sato M, Nakamura H, Ogishima J, Yoshida M, Inoue T, Nishida H, Tomio K, Yamashita A, Matsumoto Y, Arimoto T, Wada-Hiraike O, Oda K, Nagamatsu T, Osuga Y, Fujii T. Inhibition of endoplasmic reticulum (ER) stress sensitizes cancer stem-like cells to ER stress-mediated apoptosis. *Oncotarget*. 2016 Jun 17. doi: 10.18632/oncotarget.10126. [Epub ahead of print]
17. Hirano M, Wada-Hiraike O, Fu H, Akino N, Isono W, Sakurabashi A, Fukuda T, Morita Y, Tanikawa M, Miyamoto Y, Nishi Y, Yanase T, Harada M, Oishi H, Yano T, Koga K, Oda K, Kawana K, Fujii T, Osuga Y. The Emerging Role of FOXL2 in Regulating the Transcriptional Activation Function of Estrogen Receptor  $\beta$ : An Insight Into Ovarian Folliculogenesis. *Reprod Sci*. 2016 Jun 1. pii: 1933719116651150. [Epub ahead of print]
18. Sato M, Kawana K, Adachi K, Fujimoto A, Yoshida M, Nakamura H, Nishida H, Inoue T, Taguchi A, Takahashi J, Eguchi S, Yamashita A, Tomio K, Wada-Hiraike O, Oda K, Nagamatsu T, Osuga Y, Fujii T. Spheroid cancer stem cells display reprogrammed metabolism and obtain energy by actively running the tricarboxylic acid (TCA) cycle. *Oncotarget*. 2016; 7: 33297-305.
19. Inaba K, Oda K, Aoki K, Sone K, Ikeda Y, Miyasaka A, Kashiyama T, Fukuda T, Makii C, Arimoto T, Wada-Hiraike O, Kawana K, Yano T, Osuga Y, Fujii T. Synergistic antitumor

- effects of combination PI3K/mTOR and MEK inhibition (SAR245409 and pimasertib) in mucinous ovarian carcinoma cells by fluorescence resonance energy transfer imaging. *Oncotarget*. 2016 May 17;7(20):29577-91.
20. Oda K, Ikeda Y, Kashiyama T, Miyasaka A, Inaba K, Fukuda T, Asada K, Sone K, Wada-Hiraike O, Kawana K, Osuga Y, Fujii T. Characterization of TP53 and PI3K signaling pathways as molecular targets in gynecologic malignancies. *J Obstet Gynaecol Res*. 2016; 42: 757-62
  21. Chuwa AH, Sone K, Oda K, Ikeda Y, Fukuda T, Wada-Hiraike O, Inaba K, Makii C, Takeuchi M, Oki S, Miyasaka A, Kashiyama T, Arimoto T, Kuramoto H, Kawana K, Yano T, Osuga Y, Fujii T Significance of survivin as a prognostic factor and a therapeutic target in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2016; 141: 564-9.
  22. Miyashita M, Koga K, Izumi G, Sue F, Makabe T, Taguchi A, Nagai M, Urata Y, Takamura M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Effects of 1,25-Dihydroxy Vitamin D3 on Endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016; 101: 2371-9
  23. Nishida H, Matsumoto Y, Kawana K, Christie RJ, Naito M, Kim BS, Toh K, Min HS, Yi Y, Matsumoto Y, Kim HJ, Miyata K, Taguchi A, Tomio K, Yamashita A, Inoue T, Nakamura H, Fujimoto A, Sato M, Yoshida M, Adachi K, Arimoto T, Wada-Hiraike O, Oda K, Nagamatsu T, Nishiyama N, Kataoka K, Osuga Y, Fujii T. Systemic delivery of siRNA by actively targeted polyion complex micelles for silencing the E6 and E7 human papillomavirus oncogenes. *J Control Release*. 2016; 231: 29-37
  24. Akino N, Wada-Hiraike O, Matsumoto Y, Arimoto T, Oda K, Kawana K, Osuga Y, Fujii T. Vaginal cancer possibly caused by pessary and immunocompromised condition: Multiple risk factors may influence vaginal cancer development. *J Obstet Gynaecol Res*. 2016; 42: 748-751
  25. Taguchi A, Koga K, Kawana K, Makabe T, Sue F, Miyashita M, Yoshida M, Urata Y, Izumi G, Takamura M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Resveratrol Enhances Apoptosis in Endometriotic Stromal Cells. *Am J Reprod Immunol*. 2016; 75: 486-92
  26. Sato M, Harada M, Oishi H, Wada-Hiraike O, Hirata T, Nagasaka K, Koga K, Fujii T, Osuga Y. Vaginal Stenosis After Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Therapy During Treatment for Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Low Genit Tract Dis*. 2016; 20: e11-3
  27. Sato M, Kawana K, Adachi K, Fujimoto A, Yoshida M, Nakamura H, Nishida H, Inoue T, Taguchi A, Takahashi J, Kojima S, Yamashita A, Tomio K, Nagamatsu T, Wada-Hiraike O, Oda K, Osuga Y, Fujii T. Decreased expression of the plasminogen activator inhibitor type 1 is involved in degradation of extracellular matrix surrounding cervical cancer stem cells. *Int J Oncol*. 2016; 48: 829-35.
  28. Ikeda Y, Oda K, Ishihara H, Wada-Hiraike O, Miyasaka A, Kashiyama T, Inaba K, Fukuda T, Sone K, Matsumoto Y, Arimoto T, Maeda D, Ikemura M, Fukayama M, Kawana K, Yano T, Aoki D, Osuga Y, Fujii T. Prognostic importance of CDK4/6-specific activity as a predictive marker for recurrence in patients with endometrial cancer, with or without adjuvant chemotherapy. *Br J Cancer*. 2015; 113: 1477-83



29. Sato M, Kawana K, Fujimoto A, Yoshida M, Nakamura H, Nishida H, Inoue T, Taguchi A, Takahashi J, Adachi K, Nagasaka K, Matsumoto Y, Wada-Hiraike O, Oda K, Osuga Y, Fujii T. Clinical significance of Gremlin 1 in cervical cancer and its effects on cancer stem cell maintenance. *Oncol Rep.* 2016; 35: 391-7
30. Inoue O, Hamatani T, Susumu N, Yamagami W, Ogawa S, Takemoto T, Hirasawa A, Banno K, Kuji N, Tanaka M, Aoki D. Factors affecting pregnancy outcomes in young women treated with fertility-preserving therapy for well-differentiated endometrial cancer or atypical endometrial hyperplasia. *Reprod Biol Endocrinol.* 2016;14:2.
31. Inoue O, Kuji N, Ito H, Yamada M, Hamatani T, Oyadomari A, Kato S, Hanabusa H, Isaka K, Tanaka M. Clinical efficacy of a combination of Percoll continuous density gradient and swim-up techniques for semen processing in HIV-1 serodiscordant couples. *Asian J Androl.* 2017;19(2):208-213.
32. Hashimoto S, Morimoto N, Yamanaka M, Matsumoto H, Yamochi T, Goto H, Inoue M, Nakaoka , Shibahara H, Morimoto Y.  
Quantitative and qualitative changes of mitochondria in human preimplantation embryos. *J Assist Reprod Genet.* 2017 doi: 10.1007/s10815-017-0886-6. 印刷中

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Yutaka Osuga, Immunologic aspects of endometriosis: IL-17A derived from Th17 cells and neutrophils promotes endometriosis, The 5th Annual Congress of the Korean Society of Endometriosis, 2016 July Seoul 海外 口演
2. Yutaka Osuga, Impact of uterine myoma on uterine peristalsis, The 25th annual congress of European Society of Gynecologic Endoscopy, 2016 October Brussels 海外 口演
3. Yutaka Osuga, Laparoscopic excision of endometrioma and its consequences, The 25th annual congress of European Society of Gynecologic Endoscopy, 2016 October Brussels 海外 口演
4. Yutaka Osuga, Future of the treatment of uterine defect, 22st Annual International Meeting of the Egyptian Fertility Sterility Society (EFSS), 2016 December Cairo 海外 口演
5. Yutaka Osuga, The effect of dietary ingredients on endometriosis, 22st Annual International Meeting of the Egyptian Fertility Sterility Society (EFSS), 2016 December Cairo 海外 口演
6. Yutaka Osuga, The impact of dietary supplements on endometriosis, Taiwan Endometriosis Society 2016 Annual Meeting, December 2016 Taipei 海外 口演
7. Yutaka Osuga, Current problems in infertile women associated with endometriosis, 7th Congress of the Asia Pacific Initiative on Reproduction, March 2017 Kuala Lumpur 海外 口演

8. Takahashi N, Harada M, Hirota Y, Yoshino O, Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Endoplasmic reticulum stress induces vascular endothelial growth factor production in granulosa cells: implications for a novel therapeutic approach for ovarian hyperstimulation syndrome. 98<sup>th</sup> The Endocrine Society's Annual Meeting (ENDO). Apr 2016 Boston 海外 口演
9. 高橋 望、原田 美由紀、廣田 泰、平池 修、泉 玄太郎、高村 将司、平田 哲也、甲賀 かをり、大須賀 穰、藤井 知行 卵巢過剰刺激症候群における小胞体ストレス応答の役割と小胞体ストレス抑制剤の予防的効果 第 61 回日本生殖医学学会 2016 11 月 国内 口演
10. 田邊良介、原田美由紀、大井なぎさ、平田哲也、泉玄太郎、高橋望、金谷真由子、山本直子、堤亮、廣田泰、甲賀かをり、平池修、大須賀穰、藤井知行 高齢不妊症患者に対する治療戦略としての ART と子宮筋腫核出術とのコンビネーション療法：卵巢加齢の影響を最小限にするための戦略 第 61 回日本生殖医学学会 2016 11 月 国内 口演
11. 大井なぎさ 原田美由紀 平田哲也 中澤明里 平野茉来 秋山育美 金谷真由子 山本直子 泉玄太郎 堤亮 大須賀穰 藤井知行 私はこうする：ART 診療実践講座 7 当科におけるラボ管理とリスク対策—よりよい妊娠率と合併症の減少を目指して— 2016 11 月 国内 口演
12. 日本産科婦人科内視鏡学会の取り組む安全性担保～技術認定制度・施設認定制度・第三者評価委員会～、口頭、平池修、第 56 回 日本産科婦人科内視鏡学会 学術講演会シンポジウム 1 S1-3 「婦人科内視鏡手術における安全担保」、2016/9/2、国内 口演
13. 卵巢における抗老化因子の役割、口頭、平池修、第 26 回臨床内分泌代謝 Update 3～性腺～、2016/11/18、国内 口演
14. ヒト着床前期胚のミトコンドリア機能の変化、口頭発表予定、橋本 周、山中昌哉、矢持隆之、井上正康、中岡義晴、森本義晴、第 58 回日本卵子学会、2017 年 6 月 2 日～3 日、国内
15. がん患者の卵子及び胚の凍結保存の現状について、口頭、青山直樹、小林保、奥野隆、篠原一朝、谷田部典之、藪内晶子、加藤恵一、The 6th Congress of the Asia Pacific Initiative on Reproduction, 2016/4/8-10, 海外
16. 卵子及び胚凍結保存液の特性について、口頭、森智絵美、藪内晶子、奥野隆、小林保、加藤恵一、第 34 回日本受精着床学会学術講演会、2016/9/15-16, 国内
17. 卵子及び胚凍結保存液の有用性について、口頭、藪内晶子、森智絵美、加藤恵一、第 34 回日本受精着床学会学術講演会、2016/9/15-16, 国内
18. 卵子凍結保存プロトコルの改良について、口頭、田崎秀尚、大島一輝、森智絵美、江副賢二、藪内晶子、奥野隆、小林保、加藤恵一、第 61 回日本生殖医学学会学術講演会、2016/11/3-4, 国内
19. 卵巢組織凍結液の開発について、口頭、森智絵美、江副賢二、藪内晶子、奥野隆、小林保、加藤恵一、第 61 回日本生殖医学学会学術講演会、2016/11/3-4, 国内
20. 乳がん患者の卵子及び胚の凍結保存の現状について、口頭、藪内晶子、森智絵美、高山優子、内山一男、山崎裕行、篠原一朝、奥野隆、小林保、加藤恵一、第 61 回日本生殖医学学会学術講演会、2016/11/3-4, 国内
21. 卵子および胚の凍結保存に関する総論、口頭、加藤恵一、The 1st Asian Society for Fertility Preservation, 2016/11/18-19, 海外
22. 乳がん患者に対する卵巢刺激法について、口頭、弓削彰利、藪内晶子、小林保、加藤恵一、The 1st Asian Society for Fertility Preservation, 2016/11/18-19, 海外

23. 卵子及び胚凍結保存液の有用性について、口頭、藪内晶子、森智絵美、加藤恵一、The 22nd Annual international conference of the Egyptian Fertility and Sterility Society, 2016/12/1-2, 海外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 日本産科婦人科学会より、大須賀穰、女性の健康のための社会連携シンポジウム、2016/11/12、国内
2. 働く女性の月経マネジメント～生理中の不調・生理痛（月経困難症）について～、平池修、女性健康週間 2017 丸の内キャリア塾 女性の健康週間に学ぶ健康マネジメント～私らしく輝くために、2017/3/1、国内
3. 不妊症診療におけるエストロゲンの基礎知識とその応用、平池修、愛知県不妊不育セミナー公開講座、2017/2/18、国内
4. 女性ホルモン・エストロゲンと女性の健康包括的支援、女性の健康週間 市民公開講座—いくつになっても私らしく—産婦人科へ行こう 2017、平池修、2017/3/12、国内

(4) 特許出願

該当なし