

総 括 研 究 報 告 書

課題番号：29-24

課題名：精巣凍結保存・移植による男児癌患者の妊孕性温存の検討

主任研究者名（所属施設） 国立成育医療研究センター研究所
（所属・職名） RI 管理室・共同研究員

本年は、精巣凍結保存の予備的検討としてマウス心臓を用いた異所性同種同系移植において臓器の凍結保存条件の検討を行った。 -8°C において凍結しない(supercooling)条件下で保存した心臓では保存 96 時間後でも安定した移植心臓の生存(拍動)を確認され、最長で 120 時間の保存後でも移植心臓の拍動が確認された。しかし、凍結保存を行った移植心臓では安定した拍動は得られなかった。更に、凍結によるマウス精巣の組織学的変化も検討した。急速凍結技術を用いた凍結と通常の冷凍庫における凍結方法とで精巣を凍結し病理組織学的検討を行った。その結果、急速凍結技術による凍結は、通常の冷凍庫における凍結方法に比して、精巣組織の構造がより保たれていた。

1. 研究目的

本研究は、小児癌患者の癌治療による不妊問題を解決するために精巣内精原細胞および血管付精巣臓器を凍結保存し、癌治療後に自家移植を行う妊孕性温存治療を確立することを目的とする。

臓器の凍結には株式会社テクニカンで開発されたエタノールを使用した急速凍結技術を用いる。この急速凍結技術は通常の 20 倍以上の速度で凍結を行い、凍結時に形成される結晶が微細であることから凍結組織の細胞に対する損傷を抑え、細胞生存率を高めることが特徴である。これらの技術を用いた臓器の凍結保存法が確立されれば、移植臓器の長期にわたる保存が可能になることが期待される。

2. 研究組織

研究者	所属施設
西尾 佳明	国立成育医療研

究センター研究所

梨井 康	国立成育医療研
究センター研究所	

3. 研究成果

本年は、精巣の凍結保存に関する予備的検討として、当研究室での解析実績の豊富なマウス心臓モデルを用いて、凍結保存液および凍結時間に関する検討を主として行った。既存の臓器保存液である University of Wisconsin(UW)液を基礎として、凍結保存に有効に働く事が報告されている各種凍結保護物質を加えた保存液の作成を試みた。

10 週齢のオス C57/BL6 マウスからドナー心臓を摘出し、凍結保存液にて灌流後、急速凍結技術を用いて、急速冷凍した後に保存を行った。一定時間保存の後、異所性同種同系移植(イソグラフト)を行った。また、凍結保存に関する検討と共に、 -8°C にて凍結

しない (supercooling) 条件下で、心臓を保存し移植する試みを行った。

1) Supercooling (-8℃保存) 条件下では、96時間(4日間)の保存後、安定した移植心臓の生存(拍動)が確認された。また、最長120時間(5日間)保存後においても、移植心臓の拍動が確認された。一方、凍結させた際には移植心臓の安定した生存は確認されなかった。

更にマウス精巣の凍結についても検討を試みた。

2) 急速凍結技術を用いた凍結と通常の冷凍庫における凍結方法とで精巣を凍結し病理組織学的検討を行った。その結果、急速凍結技術による凍結は、通常の冷凍庫における凍結方法に比して、精巣組織の構造がより保たれているとの予備的結果を得た。

4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究で行う動物実験に関しては、当施設の実験動物指針に則して行い、実験動物関連法律等を遵守し、動物愛護の観点に十分配慮して実験を行う。

本研究は、その性質上、実験に供する実験動物は都度、命を奪うことから3Rの精神に則り、実験条件の予備検討を十分に行い不要な実験回数を出るだけ少なくすることで実験に用いる動物の数は最低限にするよう努める。

Fertility preservation for young male cancer patients
by whole testis cryopreservation and transplantation

Yoshiaki Nishio, Ph. D.
Principal Investigator

National Research Institute for Child Health Development
Tokyo, Japan

(一行分あける)

Key Words :