

第31回日本受精着床学会

2013.08.08-09 大分

ブタ卵巢凍結における高分子物質と不凍アミノ酸の有効性

天羽 杏実¹、橋本 周¹、矢持 隆之¹、玄 丞侏²、森本 義晴¹

IVF なんばクリニック¹、京都工繊大²

【目的】がん患者ならびに自己免疫疾患患者の妊孕性温存を目的とした卵巢組織凍結技術が臨床現場で使用されつつある。緩慢凍結法だけでなく、超急速凍結(ガラス化)法も臨床化可能レベルに達しており (Hashimoto, 2010; Suzuki, 2012)、凍結法の選択肢も増えている。ガラス化法では、血清アルブミン等の高分子が細胞外の氷晶形成を抑制することが知られている。本研究では、ガラス化に使用している Polyvinylpyrrolidone(PVP, Hashimoto, 2010)及び、ヒト iPS 細胞のガラス化保存で有効性が示されている不凍アミノ酸 ϵ -poly-L-lysine(PLL) (玄, 2011)を用いてブタ卵巢組織のガラス化を行った。

【方法】1mm 厚のブタ卵巢皮質片を作製し、ガラス化を行った。ガラス化溶液は 20% SSS、35% Ethylene glycol に 0.5M Sucrose、5% PVP(PVP 区)あるいは 0.48M Sucrose、10% PLL(PLL 区)を添加した。陰性コントロールとして PVP、PLL 非添加でガラス化した(非添加区)。皮質片はブアン固定後、ヘマトキシリン-エオジン染色し、卵母細胞および顆粒層細胞の形態評価を行った。

【結果】 PVP 区(76%)と PLL 区(65%)の原始卵胞形態正常率は非添加区(50%)と比べ有意に高かった($P < 0.05$)。原始～一次卵胞の中間期も同様であった(PVP: 71% & PLL: 57%, vs. 非添加: 46%, $P < 0.05$)。一方、一次卵胞は PVP 添加区で形態正常率が有意に高かった (PVP:79% vs. PLL:44% & 非添加:38%, $P < 0.05$)。

【結論】ブタ卵巢組織凍結において、凍結液への PVP、PLL の添加は凍結融解後の卵胞の生存性を高める効果があることが示された。安定した生存性を得るためにこれらの耐凍剤の最適濃度を検討していく必要がある。