

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：32645
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2020～2023
課題番号：20K09569
研究課題名（和文）若年がん男児の妊孕性温存に向けた精巣凍結保存・自家移植による生殖回復モデルの開発

研究課題名（英文）Development of an animal model for testicular tissue cryopreservation and autotransplantation to fertility preservation in young cancer patients

研究代表者
本橋 秀之（Motohashi, Hideyuki）
東京医科大学・医学部・兼任助教

研究者番号：20554380
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：若年がん患者が抗がん剤などの化学療法や特定部位への放射線治療を受けると、生殖細胞がダメージを受け不妊となるリスクが増大するなどの問題が指摘されている。本研究課題においては、生存性などに優れた精巣組織の凍結保存法を開発することを目的とした。凍結操作時における温度変化の計測により、従来法に比べて、冷却速度の向上が認められ、冷却速度は従来法に比べ向上した。冷却速度、生存性、発生能の指標により最大限のデバイス小型化に成功した。以上のことから、スピーディーかつ簡便で融解後の発生能に優れた精巣組織の凍結保存が可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

若年女性のがんに罹患すると、抗がん剤や放射線治療によって生殖細胞がダメージを受け不妊となることが問題となっている。そこで、がん治療開始前に原始卵胞を含む卵巣組織を採取して凍結保存しておき、治療後に生殖能力を回復させる治療が注目されている。このため、より有効性の高い卵巣組織の凍結保存法の発展が期待されていた。本研究により、精巣組織の凍結保存デバイスが新たに開発できたことから、小児・若年がん男性の将来的な妊孕性温存に向けて大きな前進となり、泌尿器科学・がん生殖医療分野への学術的波及効果が期待できる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to develop a cryopreservation device and protocol for viable testicular tissue. Temperature measurements during the freezing operation showed an improvement in cooling rate. Evaluation of cooling speed, viability, and developmental potential led to maximum device miniaturization. These results enabled speedy and simple cryopreservation of testicular tissue with developmental competence after thawing.

研究分野：生殖医学

キーワード：凍結保存

1. 研究開始当初の背景

若年がん患者が抗がん剤等の化学療法や特定部位への放射線治療を受けると、生殖細胞がダメージを受け不妊となるリスクが著しく増大する。そこで性腺組織の一部を凍結保存し、がん治癒後に移植等によって生殖能力を温存する考え方が注目されている。女性では近年、卵巣組織の凍結保存研究が進んできたが、男性では成熟した精子(射出精子)の保存が主流のため、これまで思春期前の小児・若年がん男性に対して、治療に先立つ有効な妊孕性温存の選択肢はなかった。思春期前の男性がん患者に対しては、がん治療に先立って精巣組織を凍結保存する以外に可能性はなく、臨床に向けて動物モデルをはじめとする研究の進展が期待されている (de Lambert et al., J Visc Surg, 155 Suppl 1: S41, 2018)

2. 研究の目的

本研究では、最初に精巣組織を対象とした新規の凍結保存法を開発することに主眼を置いて、ガラス化保存新規デバイスの開発、凍結保存および融解プロトコルの改良を行うことを目標とした。従来のガラス化保存法は、直接液体窒素に投入して凍結するため、周囲に蒸気が継続的に発生し、冷却速度が低下することが考えられる。そこで、生存性に優れた精巣組織凍結保存を実現するためには、超急速冷却に優れた、ガラス化保存新規デバイスを開発する必要がある、なおかつそれに適した凍結・融解プロトコルを検証して改良を行い最適化する必要があると考えられる。次に、凍結・融解後の精巣組織を有効に発生させるためには、組織移植における血管新生やそれに伴う移植後組織の生着性の向上が求められる。そこで、一連の組織移植プロトコルの改良を行って、従来法より生着性および発生能に優れた移植法を確立することを目的とする。以上により、精巣組織凍結保存による妊孕性温存システムを開発することを目的とし研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 凍結保存デバイスの開発と有効性の検証

精巣凍結保存に特化した凍結保存デバイスの開発を行った。デバイスの候補を複数試作し、それぞれのデバイスについて、組織の凍結・融解操作を行い、有効性を従来法と比較し検証した。凍結融解操作時に温度計測を行い、各デバイスや操作法ごとの温度変化を計測した。温度融解後に組織細胞の生存性および損傷性を評価した。これらの得られたデータの指標から最適な凍結融解プロトコルを選別し、精巣凍結保存に特化したガラス化保存法を確立した。

(2) 自家移植プロトコルの検討

精巣組織の移植後の発生能については、動物モデルを用いて検討を行った。オスマウス未成熟個体より精巣組織を摘出し、開発した凍結保存デバイスおよび最適化により確立したガラス化保存・融解プロトコルによって、精巣組織の凍結・融解操作を実施した。融解後の組織を自家移植して *in vivo* 発生させ、その後の発生

能を調査した。移植・in vivo 発生後の組織を摘出して回収後、組織学的に発生能を評価した。

4 . 研究成果

(1) 凍結保存デバイスの開発と有効性の検証

新規凍結保存デバイスを試作し、凍結操作時における温度変化を計測した結果、従来法に比べ冷却能の有意な向上が認められた ($P<0.05$)。さらにデバイスや操作法による超急速冷却および融解時の温度変化および組織細胞生存性の指標をもとに、最適なガラス化保存デバイスを確定し、それをを用いた場合に最適な結果が得られる凍結融解操作プロトコルが確立された。

(2) 自家移植プロトコルの検討

実験動物モデルを用いた精巣組織の移植試験の結果、自家移植後の組織において生着能が確認された。組織学的評価により、組織の一部では精子形成能が確認された。以上の結果に基づく指標から、体内発生における最適化条件が明らかとなり、本凍結保存法の確立およびその有効性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	石橋 英俊 (Ishibashi Hidetoshi) (60334439)	東京医科大学・医学部・准教授 (32645)	
研究分担者	加田 日出美 (Kada Hidemi) (40214340)	東京農業大学・農学部・教授 (32658)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関