

## 卵巢組織使用玻璃化冷凍及慢速冷凍的差別

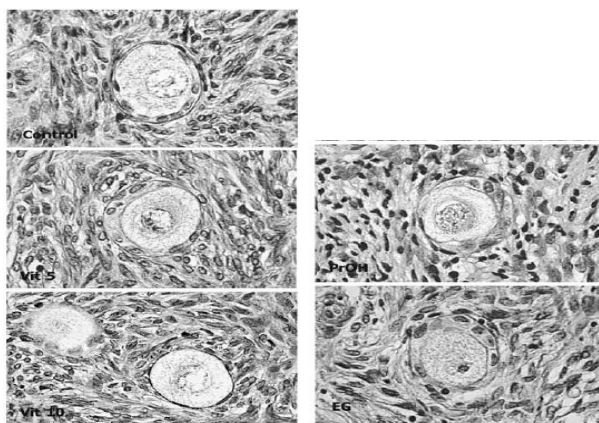
Vitrification versus controlled-rate freezing in cryopreservation of human ovarian tissue

參考資料: Human Reproduction, Vol.24, No.7 pp. 1670-1683, 2009

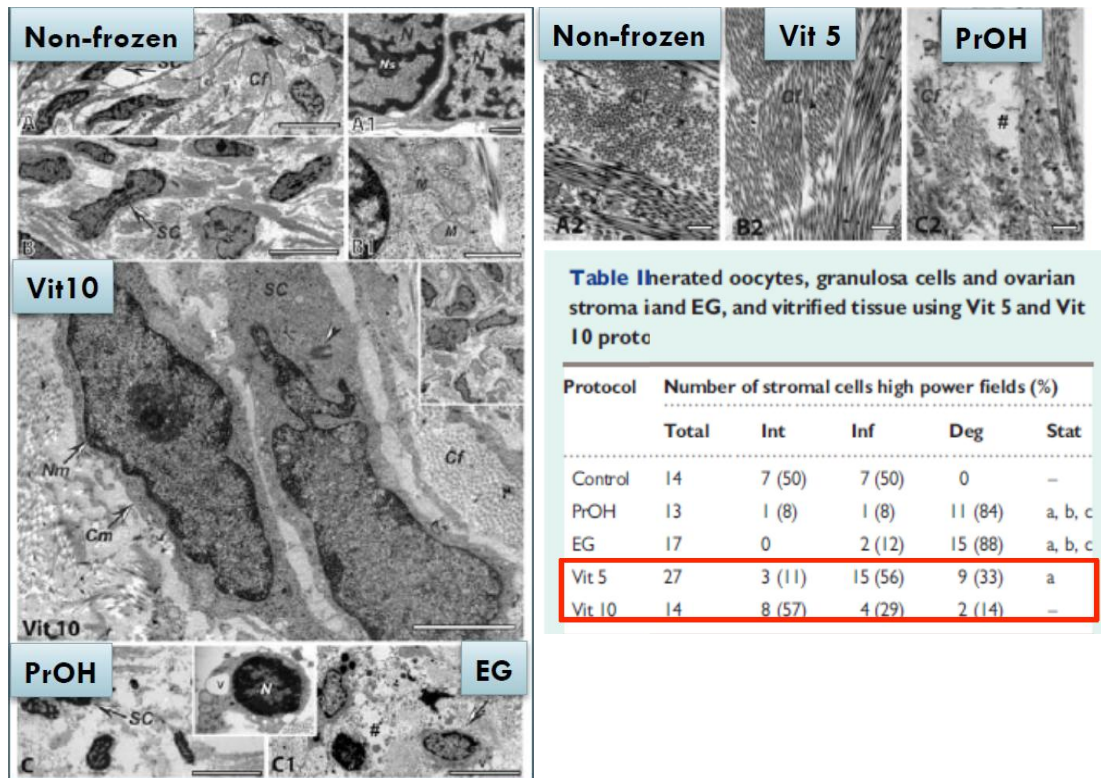
奇美醫院生殖醫學科技術員 陳姵君

早在 1987 年，就有 Grischenko 等人的團隊，為罹癌的年輕女性冷凍卵巢組織，在經過化療之後再移植入體內，後續也成功誘導排卵並且活產。而利用慢速冷凍 (controlled-rate freezing) 的方法來保存卵巢組織，是一個已經被廣泛接受的方法，為了更進一步改善解凍後組織的完整性，包括基質細胞 (stroma cell) 的保存，本文設計實驗進行了慢速冷凍跟玻璃化冷凍 (vitrification) 的比較。組織來源是二十位剖腹產的婦女捐贈，隨機分組冷凍後解凍，與未冷凍直接切片的檢體比較，利用一般光學及電子顯微鏡觀察，比較冷凍前控制組及解凍後培養 24 小時之卵細胞 (oocyte)、顆粒細胞 (granulosa cell) 及卵巢基質細胞的存活率及差異性。

慢速冷凍的冷凍保護劑，一組用的是 1,2-propanediol (PrOH)-sucrose，另一組是 ethylene glycol (EG)-sucrose，玻璃化冷凍則是都用 dimethyl sulphoxide (DMSO)、PrOH、EG and polyvinylpyrrolidone (PVP) 的混合溶液，但組織浸泡培養的時間分為二組，一組五分鐘，另一組十分鐘。分組冷凍後解凍，培養 24 小時後切片觀察。結果如下圖左: 玻璃化冷凍，圖右: 慢速冷凍。



結果是無論使用慢速冷凍或玻璃化冷凍，由外觀型態來看都大致上保存良好，解凍後 follicle 存活率的損壞分級 (Int: 完整, Inf: 50% 以上完整, Deg: 50% 以上損壞) 結果也相近。但是在 stroma cell 部分，玻璃化冷凍的表現明顯較好 (下圖右 Table II)。



上圖左及右上，再進一步用電子顯微鏡細看，可以發現用玻璃化冷凍的方法，相較於慢速冷凍，組織解凍後，其對於卵巢基質細胞及粒線體等等胞器的保存明顯較好，而且具統計學差異( $P < 0.001$ )，尤其在基質細胞的胞器及細胞架構的完整性。卵巢的基質由許多血管跟粒線體之類的胞器構成，假若解凍後保存完整的話，相信會增進移植後的組織細胞及濾泡的存活率，期待後續研究加以佐證。