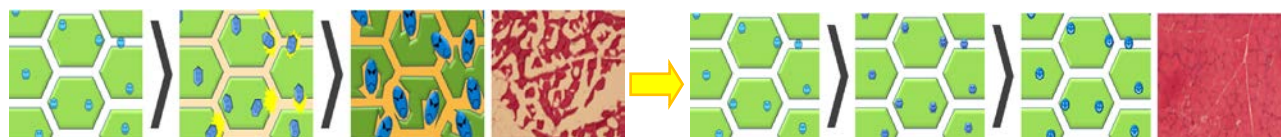


## 「高速凍結技術の医療応用への可能性の検討」

(平成24・25年度実施事業)

### 【高速凍結技術とは】

食肉や鮮魚等の生鮮食料品の冷凍保存に使われるエチルアルコールを用いた高速凍結システムは、通常の凍結スピードの10倍以上で急速凍結し、凍結時の結晶が細胞の大きさよりも微細で細胞膜を破壊せず細胞生存率を高めることが特徴であり、解凍時に新鮮な状態を維持できます。本調査開発は、生体に関しても同様の効果を期待したものです。



細胞の大きさは20~30ミクロンで、通常の冷凍でできる氷晶は100~200ミクロンとなり、氷晶の突起が細胞膜を破壊。

凍結時間が短いと、氷晶は3~4ミクロン程度で、細胞膜を破壊しない。

### 【NPO法人の設立】

24年度は、新たに設立された異業種中小企業を構成員とするNPO法人（ECML21）、医療関係者（臨床・病理等）、高速冷凍機メーカー、解凍機器メーカー、関連する医学系・工学系研究者等とともに、

- (i) 血液分野
- (ii) ホモグラフト分野（皮膚・心臓弁・血管等の生体組織を冷温・冷凍保存したもの）
- (iii) 病理分野（術中病理迅速診断、バイオバンク分野）

の三分野について検討を行い、早急に対応すべき課題として三分野それぞれについて開発課題の抽出を行いました。

### 【25年度の概要】

25年度は以下の調査研究を行いました。

- ①血液分野においては、新鮮凍結血漿・冷凍赤血球の凍結時間の短縮化及び血液成分の維持可能性探求等。
- ②ホモグラフトにおいては、心臓弁及び血管について動物の生体組織を活用した検証。
- ③バイオバンクにおいては、凍結保存の実態を踏まえての本技術の優位性の検証。
- ④保存、解凍技術に関しては、母乳解凍機器を用い、血液・バイオバンク分野を中心とした解凍方法の基礎調査。
- ⑤他の医療研究機関等との連携のための高速凍結技術の医療応用研究ネットワークの構築。
- ⑥参加する多くの医療機関が行う高速凍結技術及び解凍技術について実証実験結果ベータベースの構築。

## 【成果の概要】

- ① 血液等の凍結実証実験を行い、従来手法と実証機の比較を行った結果、特に新鮮凍結血漿分野について有用性が確認でき、日常業務の効率化、経済性に関して期待しうることが確認されました。



**実証機**  
エタノール式高速凍結

# 比較検証実験結果



**従来の凍結方法**  
液体窒素、空冷式冷凍庫等

分野	凍結対象	比較対象機	評価パラメータ	結果
血液分野	赤血球	空冷式冷凍庫	細胞生存率及び上清ヘモグロビン、上清カリウム濃度	生存率の有意差なし。上清ヘモグロビン、上清カリウム濃度は実証機の方がやや良好。
	リンパ球	空冷式冷凍庫	生存率	実証機の方が良好。
	血漿	空冷式冷凍庫	凝固因子活性 凍結時間	第Ⅷ因子活性の低下が軽減されており、実証機での凍結が非常に有効。凍結時間も短縮。
	培養細胞株及び脾臓細胞	空冷式冷凍庫（フリーズボックス使用）	細胞生存率及びRNAクオリティ	特定の細胞（K562,HL60）の生存率は実証機の方が良好だが、RNAクオリティについては差はなし。
ホモグラフト	大動脈血管壁	液体窒素 空冷式冷凍庫	物理特性（脱水率、弾性率等）	ほぼ全ての評価パラメータにおいて実証機の方が良好。
バイオバンク及びブレインバンクを含む病理分野	脳腫瘍及び腎腫瘍	液体窒素	RNAクオリティ	液体窒素と同様のクオリティが得られた。バイオバンク事業での応用が期待できる。
	筋組織	液体窒素イソペンタン法	細胞の形態保持	実証機では、細胞が破壊され、観察不可。エタノールではなくイソペンタンを代用すると良好な結果を得られた。
	胃がん、大腸がん	液体窒素アセトン法	作業効率・形態保持・染色性	実証機の方が凍結時間はかかるが、形態保持、染色性では良好。
	心筋、肝臓、腎臓、肺、胃、腫瘍片、リンパ節	アセトンを用いた凍結装置	染色性（HE,免疫組織化学）・形態保持	リンパ節のみ全てのパラメータで実証機の方が良好。

- ② 解凍方法については、従来の方法では多くの課題があり、凍結方法に応じた解凍技術が必要であることが見出されました。

なお、実証試験用凍結機器の開発と実証の場での習熟に時間を要したため、実証実験自体は緒に就いたところであり、次年度も本調査研究を継続し、その完成を目指します。

## 【問合せ先】

- 調査研究全般：一般財団法人 機械システム振興協会 Tel:03-6848-5036
- 本調査研究の詳細：特定非営利活動法人 ECML 2 1 Tel:03-3947-0181