

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	松下 亮介
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
<p>Repair of an Osteochondral Defect With Minced Cartilage Embedded in Atelocollagen Gel: A Rabbit Model</p> <p>（ウサギモデルにおける骨軟骨欠損に対するアテロコラーゲン包埋細切軟骨片の治療効果）</p>			
論文審査担当者			
主 査	教授	池上 浩司	印
審査委員	教授	木村 浩彰	
審査委員	講師	河合 幹雄	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>【研究の学術的背景および目的】</p> <p>関節軟骨の損傷は変形性関節症を惹起し，関節機能の低下や疼痛の原因となる。しかし，関節軟骨は修復能力に乏しく，一度損傷するとしばしば治療に難渋するため，適切な治療が求められる。1994年に Britteberg らは，広範囲の軟骨損傷に対する自家培養軟骨移植術（以下 ACI）を提唱したが，移植部からの細胞漏出や不均衡な細胞分布などが問題であった。その欠点を克服するため Ochi らは軟骨細胞をアテロコラーゲングルへ包埋し，三次元培養を行うことで軟骨様組織を作成し欠損部へ移植する第3世代 ACI を開発した。その後，臨床研究等で良好な長期成績が報告され，現在広範な膝関節軟骨欠損に対して利用されている。しかし ACI の欠点として，二次的手術が必要であること，それに伴い時間とコストを要すること，軟骨を単離する際に用いる薬剤などにより細胞傷害が生じること，正常軟骨基質を破壊することなどが挙げられる。近年，細切軟骨片をフィブリン糊で骨軟骨欠損部に移植固定する報告が散見され，一次的な処置で良好な成績を得ることができる可能性が示唆されている。本論文の目的は，膝関節軟骨欠損モデルに対するアテロコラーゲングル包埋細切軟骨片の移植効果を検討することである。</p>			
<p>【研究の方法】</p> <p>in vitro 検証：ウサギ(Kbs:JW)の膝，肩，股関節より採取した関節軟骨を細切し，軟骨片をそのまま，あるいは軟骨片から単離した軟骨細胞をアテロコラーゲングルに包埋した。アテロコラーゲングル 100 μL に 2.0×10^5 個の軟骨細胞を包埋したものを IC 群，アテロコラーゲングル 100 μL に 12.5mg の細切軟骨片を包埋したものを M1 群，25mg の細切軟骨片を包埋したものを M2 群とし，3週間培養後，細胞数および Bern score を検討した。</p> <p>in vivo 検証：ウサギ(Kbs:JW)の大腿骨滑車溝に 6mm\times4mm，深さ 3mm の骨軟骨欠損部を生じさせ，in vitro と同様に軟骨細胞および細切軟骨片を作成した。欠損部に充填処置を施さない未処理群，アテロコラーゲングルのみを欠損部に充填するアテロコラーゲン充填</p>			

群, 同種の単離軟骨細胞をアテロコラーゲンゲルに包埋し約 3 週間培養後欠損部に充填する ACI 群, 同種の細切軟骨片をアテロコラーゲンゲルに包埋し一期的に充填する細切軟骨片充填群の 4 群を作成した。術後 4 週, 12 週, 24 週で組織学的検討, 免疫染色および Pineda' s scale による評価を行った。

【研究の結果】

in vitro 検証: M1 および M2 群では細切軟骨片の残存を認め, 軟骨片の外へ細胞の遊走を認めた。Bern score は IC 群および M1 群に比べ M2 群が有意に高値であり, 細胞数は IC 群より M1 群, M1 群より M2 群で有意に多かった。

in vivo 検証: 肉眼的所見としては, 未処理群では 24 週でも欠損が残存していたのに対し, その他の群では週が経過するごとに骨膜が消失し, 表面が平滑な組織への修復を認めた。特に細切軟骨片充填群では表面は平滑で関節軟骨様の組織で被覆されていた。組織学的所見としては, 未処理群ではいずれの週もサフラニン 0 陽性組織が少ないのに対し, その他の群では 4 週の時点でサフラニン 0 陽性の組織修復が見られており, 時間の経過とともに軟骨下骨の修復も認めた。24 週では特に細切軟骨片充填群で軟骨および軟骨下骨の良好な修復を認めた。Pineda' s scale は 4 週, 12 週の時点で未処理群と細切軟骨片充填群との間に有意差を認め, 24 週では未処理群に比べ ACI 群および細切軟骨片充填群が, またアテロコラーゲン充填群に比べ細切軟骨片充填群が有意に低値であった。I 型コラーゲン染色では未処理群が染色されるのに対し, その他の群は染色されなかった。一方, II 型コラーゲン染色では未処理群以外が染色されるのに対し, 未処理群は染色されなかった。Ki67 染色では, 未処理群に比べ ACI 群および細切軟骨片充填群で有意に多くの Ki67 陽性細胞を認めた。

海外での過去の研究では, 細切軟骨片をフィブリン糊で移植固定する方法が散見される。しかし, フィブリン糊の使用には副作用や被覆可能な欠損部の面積が限定的などの欠点が存在する。使用実績が十分なアテロコラーゲンゲルに細切軟骨片を包埋する新しい手法を検討した点に本論文の独創性および新規性がある。in vitro 検証ではアテロコラーゲンゲルに包埋した細切軟骨片から良好な軟骨細胞の増殖と遊走が確認でき, 計算上単離軟骨細胞を包埋するよりも少ない軟骨量で同等以上の効果が得られている。in vivo 検証では骨軟骨欠損部にアテロコラーゲンゲルに包埋した細切軟骨片を一期的に移植することで従来の ACI と同等以上の効果が得られ, 軟骨および軟骨下骨が良好に修復されることが証明された。細切軟骨片をアテロコラーゲンゲルに包埋し移植することで比較的少量の軟骨片でより広い面積を被覆でき, また一期的に軟骨修復を行うことができ, より侵襲が少なく, 時間的にもコスト的にも優れた治療法の 1 つとなる可能性が示唆された。

以上を総合すると, 本論文はアテロコラーゲン包埋細切軟骨片移植術が骨軟骨欠損に対する新規治療法として有用であることを示唆し, 骨軟骨欠損における今後の手術療法の発展に資すること大である。

よって審査委員会委員全員は, 本論文が松下亮介に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。