Osaka University Knowledge Archive

Title	Repair of Rabbit Articular Surfaces with Allograft Chondrocytes Embedded in Collagen Gel,
Author(s)	脇谷, 滋之
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37148
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【60】

氏名・(本籍)	脇谷滋之（わきたにしげゆき）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9124 号
学位授与の日付	平成 2 年 3 月 24 日
学位授与の要件	医学研究科外科系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	Repair of Rabbit Articular Surfaces with Allograft Chondrocytes Embedded in Collagen Gel, （同種軟骨細胞移植による家兎関節軟骨修復 ーコラーゲン・ゲル培養法を利用してー）
論文審査委員	（主査）教授 小野 啓郎 （副査）教授 北村 幸彦　教授 藤田 尚男

論文内容の要旨

（目　的）

関節の硝子軟骨は自己修復能力に乏しく，損傷された関節軟骨の治癒過程において本来の硝子軟骨は形成されず，ために関節破壊（関節症）は避けがたいものとされてきた。我々は，損傷関節軟骨の修復を目的に，従来から困難視されて来た軟骨組織移植の改良と実用化をめざしている。

本研究では，軟骨細胞にとって適切な環境を与えるコラーゲン・ゲル内に軟骨細胞を包埋して，同種軟骨細胞移植を家兎で試みた。この方法により組織学的にも，免疫学的にも優れた軟骨移植が成立し，半年の観察で良好な生着を認めている。

（材料と方法）

1. 4週令の家兎より関節軟骨を採取し，トリプシンおよびコラゲナーゼ処理にて軟骨細胞を分離した。家兎皮膚より酸可溶性コラーゲンを抽出し，軟骨細胞を加え，細胞濃度 2×10^6 個／ml の軟骨細胞浮遊コラーゲン溶液を作成した。
2. 成熟家兎の膝関節を展開し，大腿骨顆間部に直径4㎜のドリルで軟骨下骨に達する穴をあけた。移植群では，ゲル化させた軟骨細胞浮遊コラーゲン溶液を充塡した。対照群として，ゲル化させた軟骨細胞を含まないコラーゲン溶液を充塡した群，および軟骨欠損部をそのまま放置した群の2群を作成した。
3. 移植後1週から24週の toluidine-blue 染色にて組織学的観察を行った。
4. 軟骨移植部に存在する細胞の産生するコラーゲンを分析するため，移植後1週および24週にて移

植軟骨を採取し，^{14}C-proline にて標識し，SDS-PAGE，フルオログラフィーにて解析した。

5. 移植した軟骨細胞の運命を調べるため，^{3}H-thymidine で標識した軟骨細胞を移植し，移植後2週および4週にて，autoradiographyを行った。

6. 移植した軟骨細胞およびコラーゲンに対する宿主の免疫反応の有無を，移植後1週から8週までの宿主の末梢血単核細胞のそれらの抗原に対する幼若化反応の有無で検索した。

（成　績）

1. 計44羽44膝関節に軟骨細胞移植手術を行ったが，4関節は手術巣に感染を生じたため除外した。軟骨細胞移植群40膝関節では移植軟骨は全例肉眼的に生着していた。

2. 組織学的検討：軟骨細胞移植群では全経過を通じてglycosaminoglycan（GAG）の分泌を組織内に認める正常な軟骨細胞が存在した。それらのうち完全な硝子軟骨で修復された割合は全例の80％であり，従来のいかなる方法よりはるかに高率であった。それに対し，非移植群では初期には軟骨欠損部は無定型物質でみたされ，8週後にてようやく軟骨様組織が形成されたが，24週経過しても繊維軟骨であり，硝子軟骨で修復された例は1例もなかった。

3. コラーゲン分析：移植軟骨が軟骨特異的であるⅡ型コラーゲンを産生しているかを調べた。移植群では，移植後1週および24週ともにⅡ型コラーゲンのみを産生する硝子軟骨であったのに対し，対照群では，24週後でもⅡ型コラーゲンの産生はなく，Ⅰ型コラーゲンを産生していた。

4. autoradiography：移植した軟骨細胞の運命を調べるため，^{3}H-thymidine で標識した軟骨細胞を移植し，移植後2週および4週にて autoradiography を行った。修復軟骨組織の軟骨細胞の核の上に grainを認め，欠損部の修復組織の軟骨細胞は，移植した軟骨細胞に由来するものであることが判明した。

5. 免疫学的分析：移植したコラーゲンおよび軟骨細胞に対する免疫反応の有無を，宿主末梢血単核細胞の幼若化反応で調べたところ，我々の調べた移植後8週までは認められず，宿主の免疫学的反応は有意ではなかった。

（総　括）

同種軟骨細胞をコラーゲン・ゲルに包埋した状態で軟骨欠損部に充塡したところ，移植後24週までの経過では感染例を除き全例生着していた。移植組織内の軟骨細胞は，autoradiography にて移植した軟骨細胞由来であることが確認され，また硝子軟骨の特徴であるＧＡＧ産生とⅡ型コラーゲンの産生が認められた。移植した軟骨細胞およびコラーゲンに対する宿主の免疫反応は，単核細胞の幼若化反応でみる限りでは，我々の観察した8週までは認められなかった。このように，コラーゲン・ゲルに包埋した同種軟骨細胞移植法は，軟骨欠損部を確実に硝子軟骨で修復でき，しかも顕著な免疫反応も生ぜず，有用な方法であり，臨床応用が可能であると考え，現在研究中である。

論文の審査結果の要旨

関節の硝子軟骨は自己修復能力に乏しく，損傷された関節軟骨の治癒過程において本来の硝子軟骨は形成されず，ために関節破壊（関節症）は避けがたいものとされてきた。

本研究では，軟骨細胞にとって適切な環境を与えるコラーゲン・ゲル内に軟骨細胞を包埋して，同種軟骨細胞移植による関節軟骨修復をめざした。その結果，従来よりはるかに高率で，組織学的にも生化学的にも完全な硝子軟骨による損傷軟骨の修復が行われ，しかも顕著な免疫反応が生ぜず，優れた軟骨移植が成立した。

本研究は，損傷された関節軟骨の修復のための同種軟骨細胞移植の臨床応用への道を開くものであり，医学博士の学位論文としての価値を有すると認められた。