



Title	Treatment of Partial Growth Arrest Using an In Vitro-generated Scaffold-free Tissue-engineered Construct Derived From Rabbit Synovial Mesenchymal Stem Cells
Author(s)	吉田, 清志
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59022
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照ください 。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	吉 田 清 志
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 5 1 4 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 24 年 3 月 22 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Treatment of Partial Growth Arrest Using an In Vitro-generated Scaffold-free Tissue-engineered Construct Derived From Rabbit Synovial Mesenchymal Stem Cells (間葉系幹細胞由来三次元人工組織 (TEC) による成長軟骨修復)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉川 秀樹 (副査) 教 授 大 藁 恵一 教 授 菅本 一臣

論 文 内 容 の 要 旨

小児期の成長軟骨帯損傷は四肢長管骨の変形や短縮をもたらす。従来はLangenskiöld法に代表される損傷部位への脂肪移植、さらにはシリコン、ポーンワックスなどの移植がされてきた。それらは成長軟骨帯損傷後に骨性架橋の形成を予防する目的でなされてきた。しかしそれらの方法では以下に挙げる問題がある。移植組織自体に成長軟骨への分化能力が乏しく、骨成長能力に限界がある。対象が小児であることから移植に人工物を用いた際には、移植された人工物の長期間での安全性の問題がある。近年幹細胞による組織修復の研究がなされているが、合成ポリマー等を含んだscaffoldを用いているものが多数であり、scaffold自体の安全性の問題が指摘されている。我々は以前にscaffoldを用いない間葉系幹細胞由来三次元人工組織(Tissue Engineered Construct, TEC)の作成に成功し、膝関節軟骨再生に関して研究している。今回scaffold freeであるTECを用いたウサギ成長軟骨修復実験を行った。

[方法ならびに成績]

【方法】

1. 成長軟骨帯損傷モデル作成

成長期にある6週齢のNew Zealand White rabbitの脛骨内側成長軟骨帯を外科的にサージカルエアートームにて掘削した。その後の経過でX線検査で脛骨内反変形の進行を認め、損傷部位での骨性架橋も認めた。病理組織検査で成長軟骨帯損傷および損傷部位での骨組織への置換を確認、部分成長軟骨帯損傷モデルを作成することができた。

2. 成長軟骨帯修復実験

3群に分けて実験を行った。第1群は成長軟骨を掘削し、その後何も充填しない成長軟骨帯損傷群。第2群は掘削部位に非吸収性物質であるbone waxを充填した群。第3群は掘削部位にTECによる細胞シートを充填した群。TECによる細胞シートはに事前に同種ウサギの膝関節滑膜組織を採取しておき、て作成したものを充填した。評価方法は手術後4週および8週に単純X線による脛骨内反変形角度計測および病理組織検査を行った。

【成績】 第1群の成長軟骨帯損傷群では手術後4週および8週において脛骨内反変形を呈した。ポーンワックスおよびTEC移植群では手術後4週および8週で単純X線で第1群に比して脛骨内反変形の改善を認めた。病理組織検査では第1群では骨性架橋の形成、bone wax群では一部骨性架橋の形成を認めた。TEC群では移植部位でSafranin O染色陽性の肥大

した柱状構造を持つ増殖軟骨および肥大軟骨組織の再生を認めた。移植組織の成長軟骨様組織への分化が認められた。

〔 総 括 〕

ウサギ成長軟骨帯損傷においてscaffold を用いないTECによる成長軟骨帯様組織の再生を認めた。成長軟骨帯損傷に対する新たな治療になりうる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者は動物モデルにおける成長軟骨帯再生を*in vivo*において検討し、以下の研究発表を行った。成長軟骨帯損傷は小児期に比較的好く見かける外傷であり、その後の成長障害をもたらす骨の変形や短縮をもたらす。従来はLangenskiöld法に代表される損傷部位への脂肪移植、さらにはシリコン、ボーンワックスなどの移植がされてきた。しかしそれらの方法では損傷した成長軟骨の再生に乏しく、骨成長能力に限界があり、成長障害の残存が臨床的に問題になっている。近年幹細胞による組織修復の研究がなされているが、合成ポリマー等を含んだscaffoldを用いているものが多数であり、scaffold自体に安全性の問題があり、小児への使用は望ましくない。我々は以前にscaffoldを用いない間葉系幹細胞由来三次元人工組織(TEC)の作成に成功し膝関節軟骨修復に対して研究している。今回筆者らはTECをもちいてウサギ成長軟骨帯損傷に対する再生を検討した。本研究ではまずは成長期のNew Zealand White rabbitの脛骨内側成長軟骨帯を外科的に掘削し、部分成長軟骨帯損傷モデルを作成した。事前に膝関節の滑膜組織より採取して培養したTECを作成し、損傷した成長軟骨部分に移植した。比較群として非充填群およびボーンワックス充填群を用いて検討した。移植後のX線検査でTEC群では非充填群にくらべて脛骨の変形の改善、病理組織検査で非充填群およびボーンワックス群に比べて有意に移植組織の成長軟骨様組織への分化が認められた。ウサギ成長軟骨帯損傷においてscaffold を用いないTECによる成長軟骨帯様組織の再生を認めた。成長軟骨帯損傷に対する新しい治療法となりうる可能性が示唆された。

以上の内容の研究発表により、博士(医学)の学位授与に値すると考えられた。