

Title	Synovial mesenchymal stem cells from osteo- or rheumatoid arthritis joints exhibit good potential for cartilage repair using a scaffold-free tissue engineering approach
Author(s)	小泉, 宏太
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59561
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	小泉 宏太
論文題名 Title	Synovial mesenchymal stem cells from osteo- or rheumatoid arthritis joints exhibit good potential for cartilage repair using a scaffold-free tissue engineering approach (スキャフォールドフリー三次元人工組織(TEC)を用いた軟骨再生における、変形性関節症および関節リウマチ患者由来滑膜由来間葉系幹細胞の有用性の検討)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>関節の硝子軟骨は自然修復能が乏しく、未だ生来の硝子軟骨と同等の組織を再生する治療法は確立されていない。我々は滑膜由来間葉系幹細胞(SMSC)とそれ自身が産生する細胞外マトリックスのみから構成されるスキャフォールドフリー三次元人工組織(TEC)の作製法を開発し、現在TECの軟骨修復における有用性を前臨床研究に続き臨床研究を行い検証している。しかし自家細胞を用いる再生医療では、一般的に組織採取と移植のため2度手術を受ける必要があり、細胞培養のために特殊な施設や多大な費用を要する。これらの課題を克服する再生医療の展望として同種移植が期待されるが、その確立のためには細胞源の確保が必要となる。変形性関節症(OA)や関節リウマチ(RA)患者の関節手術件数は多く、術中に切除された滑膜組織は廃棄されるが、これが利用できれば同種移植の貴重な細胞源となりうる。OAやRA患者由来の滑膜組織は、罹患患者が一般に高齢であることや、合併する滑膜炎の影響から細胞源として不适当とされる傾向があるが、その科学的根拠は明らかではない。今回、OAおよびRA患者由来SMSC・TECの増殖能、軟骨分化能、炎症性サイトカイン発現量と、in vivoでの軟骨修復能を評価し、外傷患者由来のそれらをコントロールとして比較検討した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>前十字靭帯再建術を施行した6例を外傷(コントロール)群とし、OA患者6例、また薬物による影響を検討するため生物学的製剤を使用しているRA患者7例、使用していないRA患者6例の4群に分けた。平均年齢は順に38.6, 71.2, 72.4, 67.0歳で有意に外傷群が低年齢であった。また全例CRP\leq 0.3 mg/dlであった。採取した滑膜組織からSMSCを樹立し、1) Passage4 (P4)での増殖能をWST-1 assay, Population Doubling Timeを用いて評価した。つぎに、2) P5のSMSC $4 \times 10^5 / \text{cm}^2$を基礎培地に0.2mMのアスコルビン酸(ASC-2P)を添加したTEC作製培地で10日間培養して得られたTECの重量と体積、3) TECの炎症性サイトカイン(IL-1β/ IL-6/ IL-10/ MMP-3/ ADAMTS-5)遺伝子発現量、4) 2週間軟骨分化培地(DMEM, 200ng/ml BMP2, 1% ITS+Premix, 0.2mM ASC-2P)を用いて軟骨分化誘導したTECのグリコサミノグリカン含有量、軟骨分化マーカー(SOX9 / COL2A1 / ACAN)遺伝子発現量を検討したところ全項目で群間に有意差を認めなかった。また、継代操作による結果への影響を検討するためP2, 3, 4のSMSC 5×10^3個から作製したPellet cultureを用いて、上記3), 4)と同様に遺伝子発現量を評価したところ、各群間での有意差や、継代間での有意な変化は認めなかった。In vivo試験として12週齢オスのヌードラット(F344 Njcl-rnu/rnu)の大腿骨滑車部に作製した径1.5mm, 深さ1mmの軟骨欠損部にTECを移植し、8週後に修復組織をmodified O' Driscoll scoreに基づき評価したところ、上記4群間に有意な差はなく、いずれの群でも無治療群より有意に良好な修復を認めた。さらに修復組織の免疫染色によりTECを移植した4群ともに肥大化・変性した軟骨にみられるCollagen type I(Col I), Col Xの発現を認めるものの、硝子軟骨と同等にCol IIの強い発現がみられた。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>OAおよびRA患者の滑膜組織から樹立・作製したSMSC・TECは外傷患者由来のそれらと同等の軟骨再生能を有し、同種移植による軟骨再生治療にむけて有用な細胞源となりうることを示唆された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 小 泉 宏 太	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 吉川秀樹
	副 査 大阪大学教授 中田 研
	副 査 大阪大学教授 岸本 一厚
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>既存の治療法では再生困難な関節軟骨の再生治療において間葉系幹細胞 (MSC) を用いた細胞治療が試みられているが、より汎用性を高めるため同種移植が望まれており、その実現には細胞源の確保が必要である。一般的に変形性関節症 (OA) や関節リウマチ (RA) 患者由来の滑膜はその細胞源として不適切と考えられているが、それを科学的に証明した論文はない。今回、外傷患者由来滑膜MSCおよび、それから作製したスキャフォールドフリー三次元人工組織 (TEC) をコントロールとして、OAおよびRA患者由来のそれらと、増殖能・同数のMSCから作製されるTECの重量と体積・軟骨分化能について評価し、有意な差がないことを証明した。さらにPellet cultureを用いて継代操作がMSCのこれらの性質に影響を与えないことを明らかにし、今回の結果が継代された細胞を利用したことに因らない証明の担保とした。またヌードラットの大腿骨滑車部の骨軟骨欠損に各群由来のTECを移植し、非移植群と比較してTECが骨軟骨再生に有効であること、群間で有意な差がみられないことを明らかにした。以上より、今回の研究はOAおよびRA患者の滑膜が同種移植にむけた細胞源として有用であることを示唆する臨床的意義あるものであり、学位の授与に値するものと認める。</p>	