



Title	Repair of meniscal lesions using a scaffold-free tissue-engineered construct derived from allogenic synovial MSCs in a miniature swine model
Author(s)	森口, 悠
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59796
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	もりぐち ゆう 森 口 悠
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 25950 号
学位授与年月日	平成25年3月25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	Repair of meniscal lesions using a scaffold-free tissue-engineered construct derived from allogenic synovial MSCs in a miniature swine model (滑膜由来同種間葉系幹細胞により誘導した3次元人工組織によるミニブタ半月板修復)
論文審査委員	(主査) 教授 吉川 秀樹 (副査) 教授 菅野 伸彦 教授 菅本 一臣

論文内容の要旨

〔目的(Purpose)〕

運動器における軟骨組織は関節軟骨に代表される硝子軟骨と半月板や椎間板など線維軟骨に大別される。半月板は膝関節の潤滑や荷重分散など多様な機能を担うが、血流の乏しい構造のため損傷後の自己修復が困難な線維軟骨組織である。現在では有症状の半月板損傷に対して半月板部分切除術が広く行われているが、半月板の切除は膝関節バイオメカニクスに悪影響を与え、変形性膝関節症へと進展する契機となり得るため、半月板機能を温存する治療の開発が必要である。我々はスキャフォールドを必要としない細胞移植治療システムとして、滑膜由来間葉系幹細胞(S-MSCs)より作成した3次元人工組織 (Tissue Engineered Construct, TEC) を開発し、TECによる関節軟骨治療の有用性を証明してきた。本研究ではこのTECを用いて内因性修復が不可能な半月板欠損に対する治療の有効性を大動物実験で検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

方法) S-MSCsが関節軟骨と同様に線維軟骨への分化能を有することを検証するために、ミニブタ滑膜から採取したS-MSCsを *in vitro*軟骨分化誘導培地中の血清濃度を変化させて(0, 2, 10%), S-MSCsの軟骨分化特性を検討した。また軟骨関連遺伝子の発現を定量RT-PCRで評価した。次にS-MSCsをアスコルビン酸添加した高密度平面培養の後、培養皿底面と細胞の間にずり応力を作用させ細胞/細胞外基質複合体を浮遊化し、3次元組織(TEC)を作成した。このTECをミニブタの内側半月板前角に作成した直径4mm円柱状欠損に移植した。6匹両膝手術を行い、左膝にTECの移植(TEC群)、右膝を無治療(対照群)とし、6ヶ月後にこれを評価した。

結果) S-MSCsは*in vitro*軟骨分化誘導において、血清添加に対して用量依存性にCollage2/Collage1比が減少し、線維軟骨性組織への変化を示した。TECの半月板欠損部移植では、移植後6ヶ月の欠損部においてTEC群では隣接組織へ緊密に結合した線維軟骨様組織による半月板の修復を認めたが、対照群では組織の完全欠損あるいは僅かな線維性組織を認めるのみであった。またサフラニンO染色陽性率から、TECによる修復半月板組織が持続する半月板体部の変性を有意に予防していることを確認した。さらに半月板欠損部に対面する脛骨関節軟骨において対照群で明らか軟骨傷害を認めた事に対して、TEC群では一部の膝でごく僅かな損傷を認めるのみであった。

〔総括(Conclusion)〕

本研究により、S-MSCsは硝子軟骨のみならず線維軟骨にも同様に分化し、このS-MSCsより作成したスキャフォールドフリー3次元人工組織TECによる半月板への細胞治療の有用性が示唆された。また細胞治療により修復された半月板組織が持続する半月板体部の変性と対面する関節軟骨の傷害を予防し得ること、修復組織による半月板機能の温存効果が初めて大動物実験で示された。

論文審査の結果の要旨

半月板は膝関節において衝撃吸収や滑動など重要な機能を担うが、損傷した場合に自己修復が困難な線維軟骨組織である。多くの場合に選択される半月板部分切除術は、膝関節のバイオメカニクスに影響を与え、変形性膝関節症の契機となる。本研究では間葉系幹細胞(MSCs)より3次元人工組織(TEC)を作成し、従来技術では修復が不可能な半月板への新規治療の可能性を提示した。MSCsからなるTECが線維軟骨へ分化し得ることを示し、臨床関連性の高い大動物を用いて半月欠損部へのTECの移植実験を行い、欠損部が線維軟骨組織で修復されることを証明した。また、欠損に隣接する正常半月部分と緊密な生物学的結合を有したこの修復組織が、持続すべき半月板体部の変性や、さらには関節軟骨損傷まで予防する事を示した。半月板損傷の新規治療が変形性関節症を予防し得る事を証明した成果は極めて重要であり、この功績は学位に値すると考える。