The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Basic fibroblast growth factor promotes meniscus regeneration through the cultivation of synovial mesenchymal stem cells via the CXCL6-CXCR2 pathway
Author(s)	五島, 篤史
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/95944
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	五島　篤史
論文題名 Title	Basic fibroblast growth factor promotes meniscus regeneration through the cultivation of synovial mesenchymal stem cells via the CXCL6-CXCR2 pathway （滑膜由来間葉系幹細胞培養時にbasic fibroblast growth factorを添加することでCXCL6-CXCR2経路を介して半月板再生を促進する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

半月板は膝において重要な役割を果たしており、損傷を受けると早期に変形性膝関節症を来すことが言われている。半月板は血流が少なく軟骨用細胞で構成されており再生能に乏しいことが言われているが、再生手段についてはまだ確立されたものは存在しない。再生手段の一つである間葉系幹細胞(MSC)は半月板再生の研究によく用いられているが、軟骨分化能・細胞増殖能がドナー間でばらつきがあることが問題点であると言われている。また、半月板再生過程で滑膜由来の組織が再生に大きく寄与していることが言われており、滑膜由来のMSCに軟骨分化を促進する前処置を行うことで半月板再生能力が高められるのではないかという仮説を立てた。本研究の目的は、軟骨分化を促進するものとして成長因子の一つであるbasic fibroblast growth factor(以下、bFGF)を移植用滑膜細胞の培養時に用いることで、半月板再生を促進しうるかを検証することとその分子メカニズムを検証することである。

〔方法(Methods)〕

滑膜MSCは人工膝関節全置換術を施行した際に採取した滑膜より単離し実験に用いた。8週齢のヌードラットの半月板半切モデルを作成し、欠損部には滑膜MSCの細胞ペレット(1.0×10^6cell)を移植した。非移植群(control群)と培養時のbFGF添加の有無でFGF-群、FGF+群に分けた。術後4・8週で膝関節組織を回収した。評価項目として再生半月板の面積、半月板スコア、半月板弾性力、軟骨損傷スコアの評価を行った。また、ヒト半月板に欠損部を作成し、同部位に滑膜MSCの細胞ペレットを移植し、細胞を播種したプレートの上に置き欠損部へ細胞が遊走されるかどうかのEx-vivoの実験も行った。

〔成績(Results)〕

移植した滑膜MSCは半月板に生着しており、control群と比較し、FGF+群において有意な半月板再生面積、半月板と軟骨の組織学的スコア、半月板弾性力の改善を認めた。Ex-vivoでもFGF+群において、host細胞の遊走能を有意に高めることがわかった。滑膜MSCの培養時にbFGFを添加し変動した遺伝子の網羅的解析(RNA-seq)を行った所、CXCR2に結合するケモカインの遺伝子発現が増加していることを見出した。bFGFを添加した滑膜MSCの培養上清を用いて、host細胞の遊走能・増殖能・軟骨分化能に与える影響について検証した。bFGFを添加した滑膜MSCの培養上清を用いるとhost細胞の遊走能・増殖能・軟骨分化能を高めることがわかった。また、それらの効果はCXCR2下流シグナルの阻害剤を用いることで特異的に阻害されることがわかった。また、bFGFを添加した滑膜MSCの培養上清にはCXCL6が多く含まれており、再生した半月板にもCXCL6が多く発現していることがわかった。

〔総　括(Conclusion)〕

bFGFは滑膜MSCに作用してケモカインであるCXCL6の産生を促進し、生着後に宿主滑膜細胞の遊走能・増殖能・軟骨分化能を促進することで半月板再生を促進すると考えられた。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）			五島 篤史	
論文審査担当者		（職）	氏　名	
	主　査	大阪大学教授	岡田 義司	署名
	副　査	大阪大学特任教授	田中 啓之	署名
	副　査	大阪大学教授	妻木 範行	署名

論文審査の結果の要旨

この研究では成長因子basic fibroblast growth factor（bFGF）が滑膜由来間葉系幹細胞（SMSC）による半月板再生を促進し、変形性関節症への進行を抑制する可能性が明らかにされた。In vivoではラットの半月板前半切モデルを作成し、欠損部に変形性膝関節症患者より採取したSMSCの細胞ペレットを移植した。非移植群と、移植群は培養時のbFGF添加の有無でFGF-群、FGF+群に分けた。術後8週で膝関節組織を回収した。移植したSMSCは半月板に生着し、非移植群と比較しFGF+群において有意な半月板再生面積・半月板と軟骨の組織学スコア・半月板弾性力の改善を認めた。In vitroではSMSCへのbFGF添加の有無でのRNA sequenceを行い、bFGF添加でCXCR2に結合するケモカイン（CXCL等）の遺伝子発現が増加することを見出した。bFGFを添加したSMSCの培養上清では滑膜細胞の遊走能・増殖能・軟骨分化能の促進を認め、これらはCXCL6中和抗体で特異的に阻害された。以上のことから、bFGFはSMSCに作用してケモカインCXCL6の産生を促進し、生着後に宿主滑膜細胞の遊走能・増殖能・軟骨分化能を促進することで半月板再生を促進すると考えられた。
この研究は、in vivo及びin vitroの両方から得られたデータに基づき学位の授与に値するものと考える。