



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	In Vivo Effects of Intra-articular Administration of Hyaluronic Acid on Hyaline Cartilage Regeneration Induced by Implantation of PAMPS-PDMAAm Double-network Hydrogel [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	福井, 孝明
Description	配架番号 : 2103
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11231号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55661
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Takaaki_Fukui_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 福 井 孝 明

	主査	教授	岩 崎 倫 政
審査担当者	副査	教授	山 本 有 平
	副査	教授	近 藤 亨
	副査	教授	田 中 伸 哉

学 位 論 文 題 名

In Vivo Effects of Intra-articular Administration of Hyaluronic Acid on Hyaline Cartilage Regeneration Induced by Implantation of PAMPS-PDMAAm Double-network Hydrogel

(PAMPS-PDMAAm ダブルネットワークゲルによって誘導される硝子軟骨再生に対するヒアルロン酸関節内投与の in vivo 効果に関する研究)

これまで申請者の研究グループは、家兎膝蓋大腿関節軟骨欠損部の基底部に埋植した PAMPS/PDMAAm ダブルネットワーク (DN) ゲルが約 4 週間で関節 (硝子) 軟骨の自然再生を誘導することを発見して、「関節軟骨は自然再生しない」という医学の常識に大きな修正を加え、新しい関節軟骨再生治療戦略を提唱した。しかし、この再生軟骨量は術後 12 週間を経過すると減少し、臨床応用における問題と考えられた。この問題を解決するためには、DN ゲルの硝子軟骨再生効果を増強できる付加的治療法の開発が必要と考えられた。近年、ヒアルロン酸 (以下 HA) は in vitro において軟骨細胞の増殖とマトリックス合成を促進することが報告された。しかし HA が DN ゲルによる軟骨自然再生に与える in vivo 効果に関する研究はない。そこで申請者は、DN ゲルによる軟骨自然再生モデル (家兎) において、術後における HA の関節内投与は術後 12 週における再生硝子軟骨量を有意に増加させることが出来るであろうという仮説を立て、その仮説を検証した。

申請者は 2 つの実験を行った。第一の研究では家兎 36 羽を用いた。両膝大腿骨の関節面に骨軟骨欠損を作成し、18 羽には関節表面から 2mm の深さの空隙が残るように基底部に DN ゲルプラグを埋植した (ゲル群)。残りの 18 羽では、何も埋植せずコントロール群とした。すべての家兎において、左膝には分子量 800kDa の HA 1ml を術直後、術後 1、2 週の計 3 回、関節内投与した (HA (+) 亜群)。また、右膝には PBS 1ml を左膝と同様に計 3 回関節内投与した (HA (-) 亜群)。術後 2 週、4 週、および 12 週において、各グループの 6 羽ずつを安楽死させ、組織学的 (HE 染色、SF-0 染色) および免疫組織学的 (Ⅱ型コラーゲン) 所見を定量化し比較した。特にゲル群の SF-0 染色標本において、全再生組織面積に対する染色陽性領域面積の比 (PG-rich 面積率) を算出した。第二の研究では、家兎 12 羽の両膝に DN ゲルを埋植し、左膝には HA を投与し (HA (+) 亜群)、右膝には PBS を関節内投与した (HA (-) 亜群)。術後 2 および 4 週に再生組織を採取し、リアルタイム PCR を用いて Ⅱ型コラーゲン、アグリカン、Sox 9 の mRNA 発現量を測定して HA (+) 亜群と HA (-) 亜群で比較した。

第1の研究では、ゲル群の術後12週においてHA(+)亜群のPG-rich面積率が、HA(-)亜群のそれより有意に高値を示した。この結果は、HAの関節内投与が、DNゲルの埋植によって骨軟骨欠損部に再生する硝子軟骨の量を術後12週において有意に増加させることを示した。一方、コントロール群においては、HAの関節内投与は再生組織に対して何の影響も与えなかった。したがって、ゲル群において見られた再生硝子軟骨量の増加効果は、HAが直接的に硝子軟骨の再生を増加させるのではなく、DNゲルが有する硝子軟骨再生誘導効果を増強した結果であると考えられた。第2の研究では、ゲル群の2週におけるII型コラーゲン、アグリカン、およびSox9のmRNA発現が、HA(+)亜群においてHA(-)亜群よりも有意に高かった。この事実は、HAの関節内投与が、DNゲルの埋植によって骨軟骨欠損部に再生する組織内のII型コラーゲン、アグリカン、およびSox9のmRNA発現を術後2週において有意に増加させることを示した。これらの結果は、HAの関節内投与がDNゲルによる硝子軟骨マトリックス合成に関連した遺伝子メカニズムを促進させることによって再生硝子軟骨量を増加させる可能性を示唆し、第一の研究における結果を支持した。

口頭発表の後、副査の近藤教授から間葉系細胞に対するDNゲルとHAの作用機序、軟骨細胞増殖に対するHAの作用機序、等について、山本教授から埋植以外のDNゲルの使用法、硝子軟骨以外の軟骨への分化の可能性、等について、田中教授からDNゲルの軟骨分化誘導機序、in vitro DNゲル実験系におけるHA添加効果、等について質問があった。最後に主査より、HA投与時期、長期効果、等について質問があった。いずれの質問に対しても申請者は、自己の研究結果と文献的考察に基づいて概ね妥当な回答を行った。

本研究は、HAがDNゲルの軟骨自然再生誘導能に与えるin vivo効果を初めて明らかにし、HAの術後関節内投与がDNゲルを用いた関節軟骨再生治療戦略における付加的治療法となり得る可能性を示唆した。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。