



Title	自家骨軟骨柱移植術に高純度アルギン酸ゲル（UPALゲル）移植を併用した治療法の開発〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	菱村, 亮介
Description	配架番号 : 2476
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13462号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74726
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Ryosuke_Hishimura_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 菱村 亮介

学 位 論 文 題 名

自家骨軟骨柱移植術に高純度アルギン酸ゲル（UPAL ゲル）移植を併用した
治療法の開発

（ The development of a combination technique in osteochondral autograft transplantation using an
ultra-purified alginate gel ）

【背景・目的】 自家骨軟骨柱移植術（Osteochondral Autograft Transplantation :OAT）は、一期的に骨 - 軟骨複合体として硝子軟骨による局所修復が得られる術式であり広く利用されている。しかしその一方で、移植用の骨軟骨柱（graft）の採取によるドナー側の術後の痛み（donor site morbidity）が懸念される。また graft 移植部周囲の間隙は硝子様軟骨ではなく線維性軟骨として修復される。よって graft 採取は最小限にとどめることが望ましいが、反面、graft 移植部周囲の間隙拡大による再生組織の質の低下も問題となる。このジレンマを克服するための手段として、この間隙に対して足りない分をバイオマテリアルで補填する方法に思い至った。我々はあるバイオマテリアルのうち、軟骨再生治療における scaffold として利用されているアルギン酸の併用に着目し、過去に研究を重ねてきた。通常アルギン酸ゲルでは問題となる細胞毒性を極限まで低下させた高純度アルギン酸ゲル（Ultra-purified alginate gel :UPAL gel）を開発し、軟骨再生の足場として優れた軟骨分化誘導能と高い構造適合性をもつことを報告してきた。そこで今回我々は、OAT に UPAL gel 移植を併用することで、従来よりも少ない graft 使用量においても良好な軟骨修復が得られるのではないかと仮説を立てた。本研究の目的は日本白色家兎の大腿骨軟骨欠損モデルを用いて、本術式の治療効果を検討することである。

【方法】 動物手術モデルとして、生後 24 週齢の日本白色家兎の膝関節（大腿骨滑車部）に直径 5 mm、深さ 2mm の骨軟骨欠損を作成した。OAT 施行群では反対側から採取した直径 2.5 mm の graft を移植した。群分けは 3 群とし以下のものとした。無治療群（Control 群）、OAT 単独群（OAT 群）、OAT+UPAL gel 併用群（Combined 群）とし、術後 4 及び 12 週における欠損部の修復について肉眼的、組織学的（n=10）に評価した。OAT 群及び Combined 群については、さらに graft 周辺部に着目した肉眼的、組織学的評価を行い、graft 自体の軟骨変性についても詳細に評価した。術後 12 週においては、HE 染色組織検体を用いて偏光顕微鏡によるコラーゲン配向性の評価（n=10）と修復組織と graft における力学強度の評価（n=5）を行った。再生された軟骨下骨の骨量については Micro-CT により評価した。移植した graft の生着に関しては Micro-CT と組織学的所見から評価した。

【結果】 まず肉眼的評価をみる。術後 4 週においては、Control 群及び OAT 群では部分的には修復組織はみられるものの亀裂も見られた。Combined 群では大部分は修復組織で満たされていた。全体的なスコアリングでは Combined 群が他の群よりも有意に優れていた。

Graft 周辺部のスコアリングにおいても Combined 群が OAT 群よりも有意に優れていた。術後 12 週においては、Control 群では十分な組織修復は得られず、OAT 群では全体的には修復されているものの、graft 周囲の間隙は主に不透明な線維性組織で満たされていた。一方で、Combined 群では表面が均一で半透明な組織により覆われ、主に硝子様軟骨組織で修復されていた。全体的及び Graft 周辺部のスコアリングでは術後 4 週のものと同様に Combined 群は他群に比べ、有意に優れていた。次に組織学的評価に移る。術後 4 週においては、Control 群では繊維性の癒痕組織が少し見られる程度であった。OAT 群では graft 周囲において硝子様軟骨組織はわずかであった。Combined 群では硝子様軟骨組織は graft 周囲に一部見られるものの不十分であった。全体的なスコアリングでは Combined 群及び OAT 群がともに Control 群に比べて有意に優れていたものの、前者 2 群間には有意差はなかった。Graft 周辺部のスコアリングにおいても Combined 群は OAT 群よりも高い傾向はあるものの、有意差はなかった。術後 12 週においては、Control 群では硝子様軟骨による組織修復は見られなかった。OAT 群では graft 周囲の硝子様軟骨組織は少なく、周囲の正常軟骨部に変性認めた。Combined 群では graft 周囲はやや薄いながらも硝子様軟骨組織で満たされており、周囲軟骨の変性もわずかであった。全体及び Graft 周辺部のスコアリングでは、ともに Combined 群が他群に比べ、有意に優れていた。Graft の軟骨変性は術後 4 週では両群間に差はなかったが、術後 12 週においては Combined 群が OAT 群よりも有意に少なかった。修復部と graft におけるコラーゲン配向性は Combined 群が他群に比べ有意に優れていた。同様に力学強度でも、正常軟骨部の強度と比べるとやや弱いものの Combined 群が他群に比べ有意に優れていた。軟骨下骨の再生骨量と graft 生着率は OAT 群と Combined 群においてほぼ同等であった。

【考察】 本研究では OAT に UPAL gel 移植を併用することで、OAT 単独のものと比較し、良好な軟骨修作用を示した。これは graft 周囲間隙に投与された UPAL gel が骨髄間葉系幹細胞をリクルートする足場となり、そこに停留させたことで軟骨再生が促進されたものと考えた。ここで UPAL gel が骨再生に対して阻害的に作用する可能性も考えたが、OAT 単独群と Combined 群の両群間において再生された骨量に特に有意な違いはなかったことから、UPAL gel は軟骨下骨の修復に対しては悪影響を与えないものと考えられた。また graft の軟骨変性については経時的にみると Combined 群で OAT 群に比べ変性が抑制されていたが、この考えられうる要因として 2 点考えられた。1 つ目は、UPAL gel により graft 間隙の修復が促進されたことで graft 自体にかかる応力が分散、低減された可能性である。2 つ目としては、UPAL gel 自体の持つ軟骨変性抑制作用である。当科における過去の動物研究では高純度アルギン酸の関節内投与により軟骨変性を抑制したと報告しており、本研究でも同様の治療効果が示されたのではないかと推察された。OAT に UPAL gel 移植を併用することで、軟骨下骨の修復を阻害することなく、良好な軟骨修復及び graft 保護作用を示した。

【結論】 OAT における donor site morbidity のリスクを軽減しながらも、十分な良好な組織修復が得られる可能性がある。また、これまで OAT 単独では治療できなかった広範囲軟骨欠損に対しても、適応が拡大できる可能性が考えられた。