



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	骨軟骨欠損に対する高純度アルギン酸ゲルと骨髄穿刺濃縮細胞併用移植の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	徐, 亮
Description	配架番号 : 2536
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14071号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78019
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Liang_Xu_review.pdf, 審査の要旨



(様式 16)

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 徐 亮

審査担当者	主査	教授 近藤 英司
	副査	教授 荒戸 照世
	副査	教授 山本 有平
	副査	教授 高橋 誠

学 位 論 文 題 名

骨軟骨欠損に対する高純度アルギン酸ゲルと骨髄穿刺濃縮細胞併用移植の検討
(Therapeutic effect of ultra-purified alginate gel containing bone marrow aspirate concentrate on
osteochondral defects in a rabbit model)

我々は、軟骨細胞分化誘導能を有する高純度アルギン酸(Ultra-purified alginate: UPAL)ゲルを開発し、軟骨再生に関する有用性を示してきた。しかし一方で、大きな骨軟骨欠損に対して UPAL ゲル単独投与のみでは修復効果が不十分である問題が明らかとなった。骨髄間葉系幹細胞(Bone marrow derived-mesenchymal stem cells: MSCs)は、軟骨や骨組織再生に対する細胞源として UPAL ゲルと併用することで軟骨修復を促進することが認められたが、大量の MSC 細胞を得るためには、細胞培養を行う必要があるため、二期的な治療を要するという問題点がある。今回我々は、骨髄穿刺濃縮細胞液(Bone marrow aspirate concentrate: BMAC)に着目した。BMAC は骨髄液の遠心分離により濃縮することで、豊富な MSC 細胞や液性因子が一期的に確保できる。我々は UPAL ゲルと BMAC を併用することで、UPAL ゲル単独投与では修復が不十分な大きな骨軟骨欠損に対して、一期的かつ効果的に軟骨及び軟骨下骨の再生が可能ではないかという仮説を立て検証した。動物モデルとして、日本白色家兔(24週齢、52羽(104膝))の大腿骨滑車部に骨軟骨欠損(直径 5 mm、深さ 2 mm)を作成した。BMAC は術中に腸骨から穿刺採取した骨髄液を遠心分離して作成した。各膝を無治療群(Defect 群)、UPAL ゲル単独移植群(UPAL 群)、UPAL ゲルと他家 MSC 併用移植群(UPAL+MSC 群)、UPAL ゲルと自家 BMAC 併用移植群(UPAL+BMAC 群)の 4 群に無作為に分けた。術後 4 週と 16 週における欠損部の修復について肉眼的評価(ICRS スコア)、組織学的評価(Niederauer スコア)、軟骨下骨の再生について Micro-CT 評価(骨量計測)を行った。術後 16 週においては、II 型コラーゲンの組織学免疫染色および 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と修復組織における力学強度の評価を行った。その結果、UPAL ゲルと BMAC の併用群は、骨軟骨欠損に対して UPAL ゲル単独移植群に比べ、より良好な軟骨及び軟骨下骨の修復効果を示した。本研究は、UPAL ゲルと BMAC の併用することで細胞移植を

要する大きな骨軟骨欠損に対して一期的に治療できる可能性を示した。本検討は、従来法では治癒することが困難であった重度関節軟骨障害に対する新たな低侵襲治療法を提案するものであり、本検討結果は、その可能性を強く示した。

審査に当たり、主査の近藤教授より実験動物、移植部位、他家 MSC 移植、再生軟骨の状態および力学的評価についての質問があった。本研究は、移植時期および細胞数を同一にするために他家細胞を使用した。自家 MSC 移植群との比較も今後必要であると回答した。再生組織に関しては、本研究は 16 週までの検討であり今後は大腿骨内側顆などの荷重部位、更に長期での検討および大動物を用いた研究が必要であると回答した。力学評価に関しては、再生組織に対する剛性のみの評価であり、今後圧縮や摩耗試験が必要であると回答した。副査の荒戸教授より MSC 移植における細胞数、正常軟骨組織との力学的な違い、臨床応用に際しての評価に関する質問があった。本研究では、高濃度 MSC 細胞を用いておらず本研究の限界であるとともに今後液性因子の解析も必要であると回答した。正常との力学的な差に関しては、本研究は短期での評価であり、経過とともに再生組織の力学的特性の改善が期待され更に長期的な評価が必要であると回答した。臨床における評価に関しては、再鏡視所見や MRI および CT などの評価が可能であると回答した。副査の山本教授から BMAC の軟骨および軟骨下骨の組織再生に関する質問があり、BMAC の液性因子が良好な軟骨様組織再生に関与した可能性があり、今後液性因子の関与に関する解析が必要と回答した。軟骨および軟骨下骨再生に関しては、再生組織の重要な因子の一つは骨髄由来の細胞や液性因子と考えられるため、軟骨下骨に到達していない軟骨表層の損傷では再生する組織が線維性組織である可能性が高いと回答した。副査の高橋教授からは、低濃度の他家 MSC 移植、UPAL の足場、臨床応用に関する質問があった。本研究では BMAC 群と同様の細胞数にするために低濃度の MSC 移植にしたが、今後高濃度の MSC 群との比較も必要と回答した。UPAL は Ca 投与によりで表層をゲル化するが、表層からゲル化する深度については不明であり、今後様々な環境下での計測が必要と回答した。内部がゾル状であることは、細胞増殖等に関しては組織再生に有利である可能性が高いと考えられ、臨床応用に関しては、限定的な軟骨欠損に対する UPAL ゲルの単独移植はすでに臨床治験が始まっており、本研究は、大きな骨軟骨欠損症例に対してもすぐに臨床応用を開始できる方法論を確立し、臨床応用への可能性を強く示唆したと回答した。

本研究は、軟骨再生に関する基礎的研究としてだけでなく軟骨再生医療に対し新たなアプローチとして期待される。審査員一同は、この成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、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。