

氏 名 うえ はら ま き
上 原 真 紀

学 位 の 種 類 博 士 (医学)

学 位 記 番 号 医 第 1 0 2 7 号

学位授与の日付 平 成 22 年 3 月 23 日

学位授与の要件 学位規程第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 ポリグリコール酸-ポリプロピレン複合体スキャ
ホールドはb-FGF徐放性ゼラチンによる自家軟
骨再生を促進する

論文審査委員 (主 査) 教 授 磯 貝 典 孝

(副主査) 教 授 福 田 寛 二

(副主査) 教 授 宗 像 浩

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

軟骨組織の再生誘導において、大動物を用いた自家移植モデルの確立は急務である。本研究では、ポリグリコール酸 (PGA)-ポリプロピレン (PPP) 複合体ポリマーに単離軟骨細胞、塩基性繊維芽細胞増殖因子 (b-FGF) 徐放システム、およびフィブリン薄膜散布法を応用し、ヒト耳介型再生軟骨の①細胞播種効率向上、②軟骨基質の早期誘導、③三次元形状の維持について検討した。

【方法】

実験1では平板型スキャホールドでの軟骨再生効果を検討するために1a群 (PGA/PPP/PGA) および1b群 (b-FGF 徐放型 PGA/PPP/PGA) を設定した。次に、実験2では耳介型スキャホールドでの軟骨再生におけるPGAの有効性を検討するために2a群 (PGA2層型, PGA/PPP/PGA) および2b群 (PGA3層型, PGA/PPP/PGA/PPP/PGA) を設定した。イス耳介軟骨細胞を各スキャホールドに播種し、フィブリンをスプレーにて散布した。移植後5週目に標本を採取し、肉眼的、組織学的および力学的に検討した。

【結果】

平板型スキャホールド表面の播種細胞濃度は、フィブリン未散布群に比べ散布群では極めて有意に改善していた。実験1：両群とも全体に軟骨再生を認めたが、1b群では全体的に肉厚で均一な再生軟骨が認められた。抗CD3抗体による免疫染色では、PPP周囲に陽性反応は認められなかった。機械的強度の検討では、1a群の折り曲げ応力に比べ、1b群の折り曲げ応力は有意に高値であった。実験2：肉眼的に2b群の方が2a群より凹凸が明瞭であった。病理組織学的には、2b群では、表面凹部や凸部だけでなく、裏面においても、より厚く、均一な軟骨形成が認められた。vWFに対する免疫染色では、両群ともに表層から内部にかけて、大小不同の微小血管が多数観察された。また、Sox5に対する免疫染色では陽性細胞が2b群の再生軟骨辺縁において多く観察された。

【考察】

フィブリン散布法により、スキャホールドへの播種細胞濃度は向上した。b-FGF徐放システムは軟骨の再生、成熟過程を加速することが推測された。PPPフレームワークは三次元構造を維持する支持性を有し、組織親和性に優れていることが示唆された。

【結論】

自家移植モデルにおいてPPPフレームワークは異物反応を起こさず、PGAを細胞キャリアとした三次元スキャホールドにおけるb-FGF徐放システムとフィブリン薄膜における軟骨再生を促進できることが結論付けられた。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	平成21年12月 日 公表予定	出版物名
	公 表 内 容	近畿大学医学雑誌 第34巻 第4号
	全 文	平成21年12月 日 発行予定

論文審査結果の要旨

[目的]

軟骨組織の再生誘導において、大動物を用いた自家移植モデルの確立は急務である。本研究では、ポリグリコール酸(PGA)-ポリプロピレン(PPP)複合体ポリマーに単離軟骨細胞、塩基性線維芽細胞増殖因子(b-FGF)徐放システム、およびフィブリン薄膜散布法を応用し、ヒト耳介型再生軟骨の①細胞播種効率向上、②軟骨基質の早期誘導、③三次元形状の維持について検討した。

[方法]

実験1では平板型スキヤホールドでの軟骨再生効果を検討するために1a群(PGA/PPP/PGA)および1b群(b-FGF徐放型PGA/PPP/PGA)を設定した。次に、実験2では耳介型スキヤホールドでの軟骨再生におけるPGAの有効性を検討するために2a群(PGA2層型, PGA/PPP/PGA)および2b群(PGA3層型, PGA/PPP/PGA/PPP/PGA)を設定した。イヌ耳介軟骨細胞を各スキヤホールドに播種し、フィブリンをスプレーにて散布した。移植後5週目に標本を採取し、肉眼的、組織学および力学的に検討した。

[結果]

平板型スキヤホールド表面の播種細胞濃度は、フィブリン未散布群に比べ散布群では極めて有意に改善していた。実験1:両群とも全体に軟骨再生を認めたが、1b群では全体的に肉厚で均一な再生軟骨が認められた。抗CD3抗体による免疫染色では、PPP周囲に陽性反応は認められなかった。機械的強度の検討では、1a群の折り曲げ応力に比べ、1b群の折り曲げ応力は有意に高値であった。実験2:肉眼的に2b群の方が2a群より凹凸が明瞭であった。病理組織学的には、2b群では、表面凹部や凸部だけでなく、裏面においても、より厚く、均一な軟骨形成が認められた。vWFに対する免疫染色では、両群ともに表層から内部にかけて、大小不同の微小血管が多数観察された。また、Sox5に対する免疫染色では陽性細胞が2b群の再生軟骨辺縁において多く観察された。

[考察]

フィブリン散布法により、スキヤホールドへの播種細胞濃度は向上した。b-FGF徐放システムは軟骨の再生、成熟過程を加速することが推測された。PPPフレームワークは三次元構造を維持する支持性を有し、組織親和性に優れていることが示唆された。

[結論]

自家移植モデルにおいてPPPフレームワークは異物反応を起こさず、PGAを細胞キャリアとした三次元スキヤホールドにおけるb-FGF徐放システムとフィブリン薄膜における軟骨再生を促進できることが結論付けられた。

以上をふまえ、主査と副査は規定の各種審査試験、ならびに博士学位論文公聴会(平成22年2月2日)を実施し、慎重に審査した結果、本論文は博士(医学)学位論文に十分値すると判断された。