

論文内容の要旨

氏名 松永吉真
 学位の種類 博士(医学)
 学位記番号 医第965号
 学位授与の日付 平成20年3月22日
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
 学位論文題目 培養ヒト鼻中隔軟骨細胞を用いたヒト耳介形状軟骨の再生誘導

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 村田清高

【目的】

軟骨組織の再生誘導に関する基盤技術の開発は、重要な研究課題である。特に、播種細胞の選択に関する研究は重要と考えられる。そこで本研究では、ヒト鼻中隔軟骨細胞を移植細胞源とする tissue engineering を行い、ヒト耳介形状軟骨の三次元形状を有する再生誘導に関する基礎的実験を行った。

【方法】

実験1では、in vitro において軟骨細胞を培養し、細胞増殖能、細胞形態の変化を検討した。実験2では、生分解性ポリマー (P(LA/CL 50:50)) に培養ヒト鼻中隔軟骨細胞を播種し、ヌードマウス皮下に細胞・ポリマー複合体を移植して、in vivo においてヒト耳介形状軟骨の再生誘導を試みた。

【結果】

実験1では、in vitro においてヒト鼻中隔軟骨細胞を培養し、細胞増殖能、細胞形態の変化を検討した。培養ヒト鼻中隔軟骨細胞は、継代培養をしない群および継代培養をした群の2群に分類した。その結果、両群ともに良好な細胞増殖能を示した。細胞形態は、培養開始直後はやや細長く線維芽細胞様を呈し、その後次第に小円型に変化した。また、RT-PCR を用いて軟骨細胞マーカーである typeII collagen および aggrecan の遺伝子発現を検討した。その結果、良好に分化していることが判明した。

実験2では、生分解性ポリマーに培養ヒト鼻中隔軟骨細胞を播種し、ヌードマウス皮下において、ヒト耳介形状軟骨の再生誘導を試みた。その結果、新生軟骨組織の再生誘導が認められた。また RT-PCR を用いた検討より、ヒト typeII collagen および aggrecan の primer に対する遺伝子発現が亢進していた。マウス primer に対する発現は認められなかった。

【考察】

実験1より、少量の軟骨組織より採取した軟骨細胞を培養することにより、軟骨再生に必要な細胞量を細胞表現型を失わずに確保しえることが示唆された。実験2では、新生軟骨組織の産生を認めた。新生軟骨組織の組織学的検索では、軟骨膜が全周性に認められず、細胞密度が不規則で、核密度が高いという形態的特徴を有していた。RT-PCR を用いて新生軟骨組織の遺伝子発現を検討した結果、ヒト由来の播種細胞・ポリマー複合体が移植された後は、外部環境の変化に影響されず、複合体内でヒトの typeII collagen および aggrecan に対する細胞表現型が保持されつつ、新生軟骨組織が再生誘導されることが明らかとなった。

【結論】

ヒト鼻中隔軟骨細胞を軟骨細胞供給源として、ヒト耳介形状軟骨の再生誘導が可能となった。今後、自家移植モデルを用いて、ヒト耳介特有な三次元形態を長期間維持する技術を確認する必要があると考えている。

| | | |
|-----------|----------------|----------------------|
| 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20年 月 日 公表予定 | 出版物名 |
| | 公 表 内 容 | 近畿大学医学雑誌 第33巻 第1号 |
| | 全 文 | 平成20年 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関する基盤技術の開発は、重要な研究課題である。特に、播種細胞の選択に関する研究は重要と考えられる。そこで本研究では、ヒト鼻中隔軟骨細胞を移植細胞源とする tissue engineering を行い、ヒト耳介形状軟骨の三次元形状を有する再生誘導に関する基礎的実験を行った。

[方法]

実験1では、in vitro において軟骨細胞を培養し、細胞増殖能、細胞形態の変化を検討した。実験2では、生分解性ポリマー (P(LA/CL 50:50)) に培養ヒト鼻中隔軟骨細胞を播種し、ヌードマウス皮下に細胞・ポリマー複合体を移植して、in vivo においてヒト耳介形状軟骨の再生誘導を試みた。

[結果]

実験1では、in vitro においてヒト鼻中隔軟骨細胞を培養し、細胞増殖能、細胞形態の変化を検討した。培養ヒト鼻中隔軟骨細胞は、継代培養をしない群および継代培養をした群の2群に分類した。その結果、両群ともに良好な細胞増殖能を示した。細胞形態は、培養開始直後はやや細長く線維芽細胞様を呈し、その後だいに小円型に変化した。また、RT-PCR を用いて軟骨細胞マーカーである type II collagen および aggrecan の遺伝子発現を検討した。その結果、良好に分化していることが判明した。

実験2では、生分解性ポリマーに培養ヒト鼻中隔軟骨細胞を播種し、ヌードマウス皮下において、ヒト耳介形状軟骨の再生誘導を試みた。その結果、新生軟骨組織の再生誘導が認められた。また RT-PCR を用いた検討より、ヒト type II collagen および aggrecan の primer に対する遺伝子発現が亢進していたマウス primer に対する発現は認められなかった。

[考察]

実験1より、少量の軟骨組織より採取した軟骨細胞を培養することにより、軟骨再生に必要な細胞量を細胞表現型を失わずに確保しえることが示唆された。実験2では、新生軟骨組織の産生を認めた。新生軟骨組織の組織学的検索では、軟骨膜が全周性に認められず、細胞密度が不規則で、核密度が高いという形態的特徴を有していた。RT-PCR を用いて新生軟骨組織の遺伝子発現を検討した結果、ヒト由来の播種細胞・ポリマー複合体が移植された後は、外部環境の変化に影響されず、複体内でヒトの type II collagen および aggrecan に対する細胞表現型が保持されつつ、新生軟骨組織が再生誘導されることが明らかとなった。

[結論]

ヒト鼻中隔軟骨細胞を軟骨細胞供給源として、ヒト耳介形状軟骨の再生誘導が可能となった。今後、自家移植モデルを用いて、ヒト耳介特有な三次元形態を長期間維持する技術を確立する必要があると考えている。

本学位研究論文では、ヒト鼻中隔軟骨細胞を細胞移植源として、ヒト耳介形状の三次元形状を有する軟骨組織の再生誘導を行った。in vitro の研究では、ヒト軟骨細胞を増殖、分化させた。次に、in vivo の研究では、生分解性ポリマーに培養ヒト軟骨細胞を播種した後、ヌードマウス皮下に移植し、ヒト耳介形状軟骨を再生誘導し、ヒト由来細胞からある特定の形状を有する軟骨組織の再生誘導が可能なることを証明した臨床的意義の高い論文である。

よって本論文は、医学博士の学位論文に値すると判断される。