

論文内容の要旨

【目的】

組織再生に用いられる動物血清は、感染性因子の混入のリスクが高い、人に投与された場合、重篤な感染症(例えば、狂牛病)を引き起こす可能性があり、再生医療における安全性が損なわれるという問題点が指摘されている。そこで、本研究では、細胞増殖因子を含有する調製自家血清 (Cytokine Rich Autologous Serum, CRAS) システムを導入して軟骨細胞を培養し、新生軟骨組織の再生誘導における有用性を検討した。

【方法】

実験1:血清中細胞増殖因子量 (PDGF-BB, TGF- $\beta$ , b-FGF) を ELISA 法を用いて比較検討した。実験2 (in vitro study) : イヌ耳介軟骨細胞を培養し、細胞増殖能、細胞形状および分子生物学的に検討した。実験3 (in vivo study) : イヌ耳介軟骨細胞をヒト耳介形状を有する生分解性ポリマーに播種・培養した。その後、ヌードマウス皮下に移植し、移植後10週および20週目に再生軟骨を採取し、組織学的および免疫組織学的に検討した。

【結果】

実験1より、TGF- $\beta$ 量は、CRAS群において有意に高値を示した。また、b-FGF量は、仔牛胎児血清群において有意に高値を示したが、いずれの群も、細胞増殖に有効な濃度に達してはいなかった。実験2より、仔牛胎児血清群と比較して、CRAS群およびb-FGF添加CRAS群の細胞増殖能が高いことが判明した。また、アグリカンおよびII型コラーゲン合成能は、b-FGF添加CRAS群において最も高い発現が認められた。実験3より、いずれの群においても、耳介の三次元形態は良好に維持されていた。また、軟骨組織の基本構造(軟骨、軟骨膜、新生血管)も再生されていた。特に、軟骨再生は、b-FGF添加CRAS群において最も促進していた。

【結論】

軟骨再生は、調製自家血清に含まれる細胞増殖因子とb-FGFの両方の作用を受けた場合、最も促進した軟骨細胞の増殖・分化が認められた。また、本法を用いた調製自家血清は、仔牛胎児血清の代用となり得ることが明らかになった。

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18年 月 日 公表予定	出版物名 近畿大学医学雑誌 第31巻 第3号
	公 表 内 容	平成18年 月 日 発行予定
	全 文	

氏 名	中 川 由美子
学位の種類	博 士 (医学)
学位記番号	医 第 9 2 1 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 22 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	調 製 自 家 血 清 (Cytokine Rich Autologous Serum, CRAS) システムを導入し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 村 田 清 高
(副主査)	教 授 義 江 修

論文審査結果の要旨

小耳症に対する耳介形成術では、1960年代に開発された肋軟骨をドナーとする術式が標準術式となっている。この手術では、自己の肋軟骨を3本使用して、耳介形状フレームワークに加工し、次に耳介部の皮膚を挙上した後、耳介形状フレームワークを移植する。この利点として、移植する軟骨が自己組織であるため拒絶反応がないことが上げられる。一方、フレームワーク作製とその移植には、長時間の手術と高い習熟度が要求されること、肋軟骨を多量に使用するため胸部変形を来たしやすきことなど数多くの欠点が指摘されている。

近年、組織工学によるヒト耳介形状軟骨の再生誘導法が注目を集めている。この方法では、軟骨細胞を増殖・分化する目的で子牛胎児血清 (Fetal Bovine Serum, FBS) が必須であることが知られている。しかし、FBSには重篤な感染症 (例えば、狂牛病) を引き起こす可能性が強く指摘されており、臨床応用の大きな障害となっている。これまで、代用血清や無血清培地に種々なサイトカインを補充する方法などが検討されてきたが、それらの効果は十分得られていない。

本研究では、血小板内に含まれる細胞増殖因子を血清内に大量に放出する調整自家血清採取法を開発した。さらに、このシステムを軟骨細胞の培養に応用してヒト耳介形状軟骨の再生誘導を試みた。その結果、調整自家血清採取法によってPDGF およびTGF- $\beta$ を高濃度に含む自家血清の作製が可能となった。また、調整自家血清にb-FGFを添加することにより、ヒト耳介形状軟骨の再生誘導過程を促進することが可能となった。

本研究は、軟骨細胞をする際に仔牛胎児血清の代用となりえる自家血清採取法を開発した点で画期的である。再生医療を臨床応用する上で、本培技術を導入した細胞培養は、不可欠な基盤技術と考えられ、学位論文に値する。

氏名	森 富美子
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	医 第 9 2 2 号
学位授与の日付	平成 19 年 3 月 22 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	気管支喘息と好中球 : IL-8, ENA-78, IL-18 遺伝子プロモーター多型と気管支喘息との関連
論文審査委員 (主査)	教授 東 田 有 智
	(副主査) 教授 川 田 暁
	(副主査) 教授 義 江 修