

氏名(国籍)	常 <sup>じょう</sup> 非 <sup>ひ</sup> (中国)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第4407号		
学位授与年月日	平成19年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	<b>Repair of large full-thickness articular cartilage defects by transplantation of bone-marrow derived mononuclear cell</b> (骨髄単核細胞移植による広範囲軟骨欠損の治療)		
主査	筑波大学教授	博士(医学)	大根田 修
副査	筑波大学教授	医学博士	高橋 智
副査	筑波大学助教授	博士(医学)	堤 明人
副査	筑波大学講師	博士(医学)	稲留 征典

## 論文の内容の要旨

### 背景

軟骨再生研究には近年骨髄間葉系幹細胞が使用されているが、手法としては培養細胞の移植研究のみである。臨床応用を考えたときに、細胞培養は技術面で安全性と簡便性に問題を有する。培養を行わない骨髄血穿刺液よりの骨髄由来単核細胞移植はより安全性と簡便性に優れており、心筋梗塞の再生医療に臨床応用されているが、広範囲軟骨再生への応用研究の報告はない。

### 目的

骨髄由来単核細胞移植による広範囲軟骨再生への応用を検討するため、家兎の広範囲軟骨全層欠損モデルを用い、その有用性について研究する。

### 方法

日本白色家兎48羽を用いた。右膝に創外固定を装着後、脛骨高原の関節軟骨全面を全層切除した。術後1週で以下の3群の移植を行った。骨髄細胞移植群は、左大腿骨より骨髄血を10ml採血し、遠心分離して単核細胞を採取した。担体として自家血漿とヒトロンビンでフィブリンゲルを作製し、採取した骨髄単核細胞と一緒に関節内へ注入移植した。末梢血細胞移植群は耳より末梢血10mlを採血し、同様の手技で注入移植した。ゲル移植群はフィブリンゲルのみを移植した。また移植操作を行わないコントロール群と合わせた4群は、いずれも創外固定下の自由運動を許可した。術後8週(n=6)、12週(n=6)で検体を採取し、内・外側の脛骨顆部中央矢状面の組織標本を作製し、サフラニンO染色、抗I、II型コラーゲン抗体免疫染色を行った。組織標本は、ICRS法を改変した組織スコアリングで評価した。また形態計測として、サフラニンO及びII型コラーゲン陽性面積、陽性染色面積対再生した軟部組織面積の比率を計測した。

## 結果

組織観察において、術後12週では骨髄細胞移植群その次に末梢血移植群のサフラニンO・抗II型コラーゲンの染色性が良好であった。術後12週の組織スコアリング値では、骨髄細胞移植群は、8項目のうち3項目、末梢血細胞移植群が4項目、コントロール群は2項目においてゲル移植群より有意に高かった。また末梢血細胞移植群は、コントロール群より1項目が有意に高かった。術後8週の形態計測では、II型コラーゲン陽性面積でコントロール群がゲル移植群に比して有意な増加であった以外各群間に有意な差はなかった。術後12週では、サフラニンO陽性面積の比率は骨髄細胞移植群が他の3群より有意に高く、II型コラーゲン陽性面積の比率も骨髄細胞移植群がゲル移植群より有意に高かった。

## 考察

術後12週において、骨髄細胞移植群は、サフラニンO染色および抗II型コラーゲン抗体染色での染色性に優れ、良好な軟骨再生の形態計測指標であるサフラニンO陽性面積比率が有意に高かったことは、臨床応用における同群の有用性を示唆している。また末梢血移植群よりも同指標で有意に良好だったことより、移植された骨髄間葉系細胞が有効に作用した可能性が考えられる。更に12週におけるゲル移植群との比較で、末梢血細胞移植群がコントロール群より多くの評価項目で有意な差を認めたことは、移植された末梢血細胞よりのparacrine因子が軟骨再生の場に働いていると考えられる。

## 結論

骨髄由来単核細胞移植は、広範囲軟骨欠損の軟骨再生を促進した。末梢血の単核細胞移植も、細胞因子作用と考えられる軟骨再生の促進が観察された。この方法は、簡便且つ安全であり、軟骨修復の治療法として臨床応用可能であると考えられる。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、ウサギ広範囲軟骨再生モデルを用いて、骨髄由来単核細胞移植群が末梢血細胞移植群と比較して軟骨再生が有意であることを明らかにした。軟骨再生の評価では、特にサフラニンO陽性面積比率とコラーゲンII型陽性面積比率において、骨髄由来単核細胞移植群が有意であることをスコア化することで証明した。今後の研究の進展に際して、骨髄由来単核細胞群に含まれる細胞が、どのような機能をもって軟骨再生に関わっているのかについて、明らかにすることが望まれる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。