

## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 馬場 力哉

### 学位論文題名

高純度アルギン酸ゲルを使用した軟骨修復治療法の開発

(The development of a surgical technique for cartilage repair using an ultra-purified alginate gel)

#### 【背景と目的】

関節軟骨損傷は難治性の病態であり、さまざまな治療法が開発されているが、その有効性に関しては一定の見解が得られていない。一般的な軟骨修復治療法の一つである骨髄刺激法は、損傷部局所の軟骨下骨を穿孔することによって、同部位へ未分化細胞の導入を促し、治癒を期待する手法であり、その手技の簡便さと低侵襲さを特徴とする。それ故に、若いスポーツ選手のみならず、中高年者に対しても多用されている手技である。しかし、損傷部局所への細胞導入が不十分であったり、局所が必ずしも軟骨分化に適した条件ではないため、対応できる損傷部のサイズは小さなものが主体となり、その修復組織は主に線維軟骨から成る。そのため、修復組織が徐々に劣化することが知られており、長期成績は満足のものではない。術後成績の向上のためには、関節軟骨の本来の形である硝子様軟骨による修復が望まれる。

当科で開発した UPAL gel は、スキャホールドとして、未分化細胞に対して優れた細胞増殖能、軟骨分化誘導能を持つ。また動物の骨軟骨欠損モデルにおいても、骨髄間葉系幹細胞移植を併用することで良好な軟骨修復が得られ、このマテリアルは硝子様軟骨による軟骨修復を促進するスキャホールドとして期待される。一方、損傷部局所への細胞導入を促進するケモカインである stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) をこのマテリアルに包埋して併用したところ、一期的に可能な無細胞移植の手技によっても硝子様軟骨による修復が得られることを見出した。これらの先行研究の結果から、今回、損傷部局所への細胞導入を増加させる方法として骨髄刺激法を用い、そこへ UPAL gel 移植を併用することで、導入された未分化細胞がこのマテリアルを足場として効率的に軟骨分化し、結果として硝子様軟骨による本来の組織に近い修復が得られるとの仮説を立てた。本研究の目的は①家兎骨軟骨欠損モデル、②ビーグル犬骨軟骨欠損モデルを用いて、この治療法の効果を検討することである。

#### ①家兎骨軟骨欠損モデル

##### 【対象と方法】

日本白色家兎 30 羽の膝蓋骨滑車部に骨軟骨欠損を作成した。欠損のみの無治療群 (D 群)、骨髄刺激法単独群 (MS 群)、骨髄刺激法+UPAL gel 埋植群 (MSG 群) に分けた。術後 4、16 週に肉眼的・組織学

的評価、また Micro-CT を用いた軟骨下骨の修復に関する評価、力学試験を行なった。

【結果】術後 16 週時、MSG 群の欠損部は十分な硝子様軟骨で修復されており、肉眼的スコア ( $p < 0.01$ )、組織学的スコア ( $p < 0.05$ ) とともに、他の群よりも有意に優れていた。軟骨下骨の修復量は、3 群間でほぼ同等であった。修復軟骨の剛性値 (N/mm) は、MSG 群では正常軟骨の 91 %に達したが、MS 群では 74 %であった。

## ②ビーグル犬骨軟骨欠損モデル

### 【対象と方法】

TOYO ビーグル犬(計 27 頭)の両膝蓋骨滑車部に骨軟骨欠損を 2 つずつ作成した。これらの骨軟骨欠損を追加治療なしの control 群、ドリリングのみを追加した drilling 群、drilling と UPAL gel 埋植を併用した combined 群の 3 群に分けた。術後 27 週で屠殺し、修復組織の肉眼的、組織学的評価、力学試験、マイクロ CT による軟骨下骨の修復に関する評価を行なった。

### 【結果】

Combined 群の欠損部は透明性をもった硝子様軟骨組織で修復されており、深層においてはコラーゲンの配向性も再現されていた。Combined 群の肉眼的スコアは control 群と比較し有意に良好であり ( $p < 0.05$ )、またその組織学的スコアは、control 群、drilling 群と比較し、有意に良好な結果を示した( $p < 0.01$  vs control 群,  $p < 0.05$  vs drilling 群)。軟骨下骨の修復量は 3 群間でほぼ同等量であったが、修復組織の圧縮剛性値は、combined 群のものが drilling 群のものよりも有意に優れていた( $p < 0.05$ )。

### 【考察】

骨髄刺激法に UPAL gel 移植を併用することにより、家兎モデル、またさらに大動物であるビーグル犬モデルにおいても、骨髄刺激法単独群と比較して軟骨修復は促進された。骨髄刺激法によって導入されたより多くの細胞がこのマテリアルを足場として局所で軟骨へ分化することによって、良好なコラーゲン配向性をもった軟骨修復が可能となり、結果として力学強度の向上につながったと考えられる。近年、手術手技の低侵襲化を目指し、スキャホールドを併用した細胞移植を必要としない 1 期的に可能な軟骨修復治療法がいくつか開発され、良好な軟骨修復促進効果を認めている。しかし、スキャホールドとして用いたマテリアルの軟骨損傷部局所での安定性を獲得するために、スクリューやピンなどの固定用材料を必要とするものが多い。これらの固定用材料が正常軟骨組織や、修復軟骨組織に悪影響を及ぼす可能性が完全には否定できず、できれば使用を避けたいものである。一方、当科で開発した UPAL gel は、これらの固定用材料の使用は不要であり、溶液の状態で局所へ移植し、塩化カルシウム溶液と接触させることによって、瞬時に安定化可能な基材である。これらの即時に安定性の獲得が可能である点、また構造適合性が高い点は UPAL gel の最大の利点であり、本研究における手術手技に最適なマテリアルであると考えられる。

### 【結論】

骨髄刺激法に UPAL gel 移植を併用することにより、軟骨修復は促進された。本手技は骨髄刺激法の簡便さやコストパフォーマンスの高さを損なうことなく、治療成績を向上させる可能性があり、また、従来比較的小さなサイズの欠損に限られていたその手術適応を拡大できることが期待される。