

論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

熊井 隆智

主論文の題目
および
掲載・審査委員

題 目 A Novel, Self-Assembled Artificial Cartilage-Hydroxyapatite Conjugate for Combined Articular Cartilage and Subchondral Bone Repair: Histopathological Analysis of Cartilage Tissue Engineering in Rat Knee Joints

（軟骨、軟骨下骨修復に向けた自己組織化技術を用いた人工軟骨—人工骨複合バイオマテリアルの創製—ラット膝関節における軟骨組織の組織学的分析—）

掲載誌 International Journal of Nanomedicine 2019;14:1283-1298

主査 池森 敦子

副査 清水 潤

副査 小倉 裕司

[論文の要旨・価値]

関節の変性疾患である変形性関節症 (osteoarthritis, OA) は、進行性に関節機能が低下し、患者の QOL/ADL を著しく低下させる。そのため、変性した関節軟骨を健全化するための様々な再生医療法が試みられているが、未だ十分とは言えない。そこで、申請者らは、進行した OA では、関節の軟骨変性に加え、軟骨下の骨組織にまで変性が認められる事実に着目し、軟骨および骨を含めた生体組織成分由来の人工軟骨—人工骨複合体のバイオマテリアルを創製し、関節の再生・再建を目指している。本論文では、申請者らにより人工軟骨—人工骨複合体が作成されたことが示され、その特性および複合体移植後の軟骨・軟骨下骨の組織学的修復の有無が検討された。

申請者らは、細胞を用いずに関節軟骨の基質成分（ヒアルロン酸、プロテオグリカン、II 型コラーゲン）を至適条件下で自己組織化した人工軟骨を作製し、この人工軟骨へ軟骨細胞が生着することを、ヒト培養軟骨細胞を使用し検討した。その結果、1, 2 週間の共培養により、軟骨細胞が、人工軟骨へ生着かつ増殖したことが示された。次に、人工軟骨の片面に人工骨（ハイドロキシアパタイト）を固着した人工軟骨—人工骨複合体を作製し、その微細構造を電子顕微鏡で観察したところ、生体組織に類似した組織構造を認めた。さらに、人工軟骨のみと軟骨—骨複合体の力学的特性を評価するため、湿潤した場合、乾燥した場合、再湿潤化した場合の 3 つの条件下でそれぞれの粘弾性を測定したところ、乾燥した場合に最も強い粘弾性が認められ、2 番目が再湿潤化した場合であった。軟骨—骨複合体の粘弾性は、人工軟骨のみと比較し再湿潤化した場合にのみ有意に高値であった。この結果は、実臨床への応用が可能となった際、感染予防のため殺菌を目的に複合体を乾燥させても、複合体の粘弾性に異常をきたさない事を示し、かつ、そのような処置によって、より正常関節の特性に近い複合体が得られることを示している。最後に、人工軟骨に固着させる適正な人工骨の性状を明らかにするため、ラットを使用し作成した軟骨—骨欠損モデルで検討した。ラット左膝関節の軟骨および骨の一部（直径 2mmx 深さ 2mm）を欠損させたのち、4 群 {人工軟骨のみ移植群、ブロック状の人工骨との複合体移植群、5 μ m 径パウダー状人工骨との複合体移植群、40nm 径パウダー状人工骨との複合体移植群} に分け、移植 4, 8 週間後に膝関節を摘出し、軟骨および骨組織修復程度を International cartilage repair society II scoring system スコアを使用し評価した。その結果、パウダー状人工骨との複合体を移植した群でもっとも組織修復が認められたことから、複合体作製には、パウダー状人工骨の使用が適していることが示された。

以上の検討結果から、申請者らが作製した人工軟骨—人工骨複合体は、進行した OA の関節再生・再建に有用なバイオマテリアルになりうる可能性が示された。本研究は、様々な側面からこの複合体の有用性が立証され、研究の獨創性は極めて高く、OA 治療における今後の展望が強く期待されることから、学術的価値が高いと判断した。

[審査概要] 審査は主査、副査 2 名および 10 名の陪席者のもとで行われた。約 20 分間のプレゼンテーションの後、質疑応答が行われた。プレゼンテーションでは、背景、研究目的、方法、結果、limitation および今後の展望を含む考察、結論について、簡潔にまとめられたスライドが提示され、その発表内容は分かりやすいものであった。質疑応答では、(1) 人工軟骨—人工骨複合体移植が必要となる OA の病態、(2) 細胞移植と比較した際の人工軟骨—人工骨複合体移植のメリット、(3) 異種蛋白の移植による免疫反応の有無、(4) 移植後のラット軟骨細胞による軟骨産生の有無など、多岐にわたる質問がされたが、申請者は、概ね的確に回答した。

最終試験結果の要旨

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価] プレゼンテーションでは、OA の病態から現在の再生医療の現状、OA に対する新規再生医療法開発の必要性、本研究の特色や獨創性、limitation、今後の展望に至るまで明確に述べられ、申請者は、当該研究領域に関する専門知識、研究能力、研究意欲、発表能力を十分に有していると判断された。また、英語読解力は引用文献の一部を指定し、和訳により十分な読解力があると判断した。発表態度は真摯であり、学位授与に値すると判断された。