

[課程一2]

審査の結果の要旨

氏名 柯 政全

本研究は、ヒト耳介軟骨細胞とアテロコラーゲン足場素材を用いて作製した再生軟骨ペレットの培養において、成長因子の投与部位や投与時期を検討し、再生軟骨組織の成熟を促す培養法の確立を目指したものであり、以下の結果を得ている。

1. 再生軟骨ペレットの培養液に骨形成因子(BMP)-2、インスリン、甲状腺ホルモン (T3) を添加した場合、5 μ L のペレットでは glycosaminoglycans (GAG)の蓄積を認めたが、ペレットサイズを大きくすると良好な GAG 産生は得られなかった。

2. インスリン投与部位の検討

(1) 再生軟骨ペレットの培養時にペレット内にインスリンを添加すると、軟骨細胞の生存性と GAG 産生の増加を認めた。

(2) アテロコラーゲンにインスリンを添加した場合、インスリンが経時的に培養液中へ徐放されることが明らかとなった。

(3) ヒト耳介軟骨細胞、ポリ乳酸足場素材およびアテロコラーゲンで構築される再生軟骨組織をヌードマウスへ移植する際、ゲルにインスリンをあらかじめ添加しておく、移植後の軟骨成熟が促進することが観察された。

3. 成長因子の組み合わせおよびその投与部位の検討

(1) 3種の成長因子 (BMP-2、インスリン、T3) を3通りの投与部位 (培養液、アテロコラーゲン、投与なし) と組み合わせ、合計27通りの培養法で再生軟骨ペレットを培養した。培養3週間後の GAG 蓄積を検討したところ、アテロコラーゲンへ添加した T3 は GAG 産生を抑制することが明らかとなった。また、インスリンはその投与部位に関わらず GAG 産生を促進する傾向を示した。

(2) 再生軟骨ペレット内の細胞生存性に関しては、T3 が濃度依存的に細胞死を誘導した。

(3) 再生軟骨ペレットの培養に添加したインスリンは、BMP-2 併用の有無に関わらず GAG 産生を有意に増加させることが明らかとなった。また、BMP-2 と高い相同性を有するとされる BMP-4 は、GAG 産生に関して BMP-2 ほどの効果を発揮しなかったため、再生軟骨ペレットの培養時に BMP-4 を BMP-2 の代用に用いることは望ましくないことが推察された。

(4) 10 μ L 再生軟骨ペレットの培養において BMP-2 をペレットへ添加した場合、インスリ

ンを併用すると T3 の有無に関わらず良好な GAG 産生がもたらされることが明らかとなった。同培養法では、ペレットサイズを 20 μL まで増大させても良好な GAG 産生が得られた。

(5) 培養液中へ添加した T3 は、軟骨細胞の肥大化を抑制することが示された。

4. 成長因子の投与時期の検討

(1) 再生軟骨ペレットの培養初期において、インスリンが軟骨細胞の増殖ならびに GAG 産生の促進に重要であることが示された。

(2) BMP-2 をペレット内へ、インスリンを培養液中へ添加する組み合わせが、再生軟骨ペレットの培養 2 週で最も高い GAG 蓄積を示した。この組み合わせを用いることにより、再生軟骨ペレットの培養期間を短縮させ、培養コストを削減することが可能になると考えられる。

以上、本論文はヒト再生軟骨組織の培養において、成長因子の種類、投与部位、投与時期に関する検討を行い、再生軟骨組織の成熟を効果的に促進し培養期間を短縮させる培養法を検討した。本研究は軟骨再生医療の発展に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。