

# 論文内容要旨

## 論文題目

ラット大腿骨部分欠損モデルを用いた recombinant human bone morphogenetic protein 2 併用同種骨髄幹細胞移植による骨形成能に関する研究

責任講座：代謝再生統御学講座運動機能再建・回復学分野

氏名：高野 満夫

### 【内容要旨】

【緒言】骨髄由来の間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell 以下 MSC) は、再生医療材料の一つとして関心が寄せられている。MSC 移植による骨再生を効果的に行うためには、MSC に加えて骨形成を刺激する因子の併用が必要である。Bone morphogenetic protein (以下 BMP) 遺伝子を MSC に導入する方法や、recombinant human BMP 2 (以下 rhBMP 2) 成長因子を使用する方法で良好な骨形成が報告されており、臨床応用も試みられている。しかし、臨床応用に際しては未解決の問題がある。骨髄に異常があり、十分な MSC が採取できない場合には同種移植もその対策の一つであるが、免疫抑制薬の併用が必要になる。また、良好な骨形成には大量の rhBMP 2 が必要であり、その量をコントロールする必要もある。さらに MSC を移植した際、再生骨における移植細胞の役割についても不明な点が多い。そこで今回、MSC 同種異系移植に rhBMP 2 を併用した骨再生ラットモデルにおいて、免疫抑制薬 (FK506) の投与条件による骨形成の違い、また、移植細胞の骨形成における役割の検討を目的に本研究を行った。【対象と方法】ドナーは Lewis 雄ラット、レシピエントは Brown Norway 雌ラット (同種異系) と Lewis 雌ラット (同種同系) を用いた。ドナー大腿骨から採取し培養した MSC に rhBMP 2 を添加後コラーゲンゲルで 3 次元培養し、レシピエントの大腿骨に作成した欠損部に移植した。対象は同種異系移植モデルで FK506 の投与条件が異なる A、B の 2 群と、同種同系移植モデルの C 群とした。A 群は、FK506 (1mg/1kg 体重) を術後 1 週間連日投与後に隔日投与を 1 週間行った 20 匹、B 群は手術当日に FK506 (10mg/1kg 体重) を単回投与した 20 匹、C 群は FK506 を使用しない 8 匹である。移植後 2、4、6 および 8 週で軟 X 線撮影を用いた骨形成量を、また組織学的に骨形態を評価した。移植細胞の生存期間と生存部位は fluorescence in situ hybridization (FISH) により評価した。【結果と考察】3 群とも良好な骨形成が得られた。組織学的には、術後 2 週で線維性骨、術後 6 週では層状骨を認めた。軟 X 線像の 6 ポイントスケールによる骨形成の評価では、3 群間に統計学的有意差は認められなかった。FISH による移植細胞の観察では、術後 4-6 週で B 群が A 群よりも生存していた移植細胞が少なかった。rhBMP 2 併用ラット MSC 同種異系移植では、FK506 の単回投与により術後 4-6 週で移植生存細胞が少ないにも関わらず、2 週間投与群と同程度の骨形成が得られた。このことより、移植細胞は術後早期の骨形成のみに関与していると考えられ、長期の免疫抑制は不要と考えられた。

山形大学大学院医学系研究科長 殿

## 学位論文審査結果報告書

申請者氏名：高野 満夫

論文題目：ラット大腿骨部分欠損モデルを用いた recombinant human bone morphogenetic protein 2併用同種骨髄幹細胞移植による骨形成能に関する研究

審査委員：主審査委員

早 三 清

副審査委員

加藤 丈夫

副審査委員

山川 光徳



審査終了日：平成 / 8 年 / 月 日

## 【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

整形外科領域においては、骨再生医療は重要な研究課題である。高野満夫氏は、ラット大腿骨部分欠損モデルを用いて、同種骨髄幹細胞移植による骨再生に関する基礎的研究を行った。研究目的は、骨髄由来の間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell:MSC) を分離し、骨成長因子recombinant human bone morphogenetic protein (rhBMP2)存在下に培養し移植する実験系において、免疫抑制薬 (FK506) の投与方法による骨形成への影響と骨形成における移植細胞の役割を明らかにすることである。方法として、Lewis雄ラットをドナー、Brown Norway雌ラット (同種異系) もしくはLewis 雌ラット (同種同系) をレシピエントとし、ドナー大腿骨から調整したMSCをrhBMP2存在下に3次元培養し、レシピエントの大腿骨欠損部に移植した。対照である同種同系移植モデルをC群とし、A群には、術後にFK506 (1mg/1kg体重) を術後1週間連日投与、続いて隔日に1週間投与した。B群にはFK506 (10mg/1kg体重) を単回投与した。移植後2, 4, 6, 8週に軟X線撮影により骨形成量を、また組織学的に骨形態を評価した。FISH法により移植細胞の局在と生存期間を評価した。結果として、FISH法では、術後4-6週でA群における生存する移植細胞数はB群よりも多い傾向を認めたが、最終的には全てレシピエントの細胞に置換され、3群とも良好な骨形成が確認された。

高野満夫氏は以上の研究から、長期の免疫抑制は不要であり、また移植間葉系幹細胞は術後早期の骨形成にのみ関与していると考察した。本研究は骨再生医療に有用な基礎的研究と考えられ、学位 (医学) の授与に値するものと判定した。