

## 論文審査の要旨

報告番号	㊦・乙 第 2874 号	氏名	糸瀬 昌克
論文審査担当者	主査 教授 美島 健二 副査 教授 山本 松男 副査 教授 高見 正道 副査 教授 豊根 知明		
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>学位申請論文「Knee Meniscus Regeneration using Autogenous Transplantation of Adipose Tissue-derived Regenerative Cells」について、上記の主査 1 名、副査 3 名が個別に審査を行った。</p> <p>本研究では膝関節半月板損傷治療の新規細胞ソースとして、ADRCs の有用性を検討した。8-10 週齢、雄 SD-Tg (CAG-EGFP) グリーンラットの両側鼠蹊部の脂肪組織から ADRCs を分離し、ADRCs 混入アテロコラーゲンスポンジをヌードラット内側半月板の前方切除部位に移植した。対照としてアテロコラーゲンスポンジ単体を移植した。その結果、ADRCs 混入のアテロコラーゲンスポンジを移植した群において、半月板切除部位に GFP 陽性細胞の生着と Toluidine Blue 染色陽性・II 型コラーゲン陽性の線維性軟骨様の組織修復が認められた。GFP 陽性細胞は術後 12 週でもその生着が確認され、II 型コラーゲン陽性を示した。一方、コントロール群では半月板の組織修復が認められなかった。また、ナノインデンテーション法による解析では、細胞移入群で形成された線維軟骨様組織は既存の軟骨組織と比較し高い弾性係数を示した。半月板損傷モデルへの ADRCs 移植において効果を認めたことや ADRCs は骨髄などに比べ低侵襲かつ移植時に十分量の新鮮な細胞が採取可能であることから、ADRCs は半月板再生医療の理想的な細胞ソースとして応用可能なことが示唆された。</p> <p><b>山本委員の質問とそれらに対する回答：</b></p> <p>1. 加齢による軟骨損傷は具体的にどのようなことが生じるのか。          (加齢により軟骨は退行性変化を呈し、主要構成要素であるプロテオグリカンや II 型コラーゲンの減少が生じる。軟骨は加齢とともに弾力性を失い、そこへさらに外力が加わることでより継年的に摩耗し、半月板の断裂や亀裂を生じやすくなる。結果的には大腿骨や脛骨の骨端軟骨変性、いわゆる変形性膝関節症となる。)</p> <p>2. 白色・褐色脂肪細胞に含まれる幹細胞に違いはあるのか。          (褐色脂肪細胞は骨格筋細胞との共通前駆細胞である筋芽細胞に由来することが</p>			

(主査が記載)

示されている。本研究において脂肪組織は鼠蹊部の皮下脂肪組織を採取しており、白色脂肪細胞を用いていると考えられ、幹細胞の含有および、移植結果にもおいても優位である可能性が示唆されるが、脂肪組織の採取部位をふることで解析が必要であると考えられる。）

**高見委員の質問とそれらに対する回答：**

1. 本研究で用いたラットの半月板損傷モデルにおいて、軟骨組織がいかなる過程を経て再生したか、時間・細胞・遺伝子発現などの観点から考察せよ。

（未分化間葉系細胞から軟骨組織特異的な細胞への分化は特異的な Sox5, Sox6 および Sox9 といった転写調節因子によって制御されることが知られていることから、半月板でも同様な軟骨細胞の分化が進行し、修復組織の形成に参加すると考えられる。）

2. ナノインデンテーションにより再生軟骨の質的評価を行っているが、より詳細に評価するためにはどのようなパラメーターを必要とするか。

（今回は修復組織に対して各種染色法および物性評価から組織の評価を行っている。物性について、硬組織との対比や、様々な部位の軟骨組織との値を比較し近似した値を示すかの検討を行うことで、さらに軟骨組織としての評価を詳細に行うことができると考える。）

**豊根委員の質問とそれらに対する回答：**

1. 獲得できた幹細胞の比率約4%は高いのか。

（脂肪組織中に含有される幹細胞は数%（約2～3%）とされており、本研究のフローサイトメトリーによって得られた結果は、過去の報告と同様の結果を示した。また骨髄中に含有する幹細胞は約0.01%と報告されており、本研究で用いたADRCs中の幹細胞比率は骨髄との比較で高いと考えられる。）

1. ラットの膝関節は体幹と近いのか。

（実際にかかる荷重量や荷重方向、膝関節の屈曲などの違いが人とラットではある。ラット膝関節は、人の膝関節と体幹との距離よりも近い。これは、歩行方法が異なるためによる構造の違いと考えられる。よって、さらに荷重量や方向についての検討も求められる。）

**美島委員の質問とそれらに対する回答：**

1. 脂肪由来細胞を軟骨細胞に分化誘導せずにアテロコラーゲンと混合して移植したことに理由はあるのか。

（ADRCsを目的細胞に分化誘導させてから移植に用いる報告もあるが、本研究ではより臨床現場を想定し、手術室内で完結できる手法を目指して行った。皮下脂肪は比較的low侵襲で簡潔的に採取できるため、短期で新鮮な組織が獲得できる。より効率的かつより臨床に即した手法を目指し、培養を介さずに即日移植することで、ADRCs自身の特性を活かすことに着目した。）

主査の美島委員は、3人の副査の質問に対する回答の妥当性を確認するとともに、本論文の主張をさらに確認するために上記の質問をしたところ、明確かつ適切な回答が得られた。

以上の審査結果から、本論文を博士（歯学）の学位授与に値するものと判断した。

（主査が記載）