

## 論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 医博甲第 2533 号 氏名 黒田 一成  
論文審査担当者 主査 原田 憲一 印  
副査 平尾 敦 印  
横田 崇 印



### 学位請求論文

題 名 The paracrine effect of adipose-derived stem cells inhibits osteoarthritis progression  
掲載雑誌名 BMC Musculoskeletal Disorders  
2015 年掲載予定

脂肪由来間葉系幹細胞 (ADSCs) は、皮下組織より安全、容易に抽出、培養が可能であり、幹細胞治療の新しい source として注目されている。我々は、変形性膝関節症 (OA) に対する細胞治療として ADSCs の臨床応用を目指している。今回、家兎 OA モデルを用いて、ADSCs 関節内投与の軟骨変性抑制作用について検討した。また、ADSCs の paracrine effect に注目し、軟骨細胞との共培養系を用いて軟骨細胞増殖作用ならびに軟骨基質保護作用について検討した。日本白色家兎を用い、両膝の前十字靭帯切離術 (ACLT) を施行して OA モデルを作成した。術後 3 週で皮下脂肪より ADSCs を回収し培養した。術後 4、5、6 週の計 3 回、ヒアルロン酸 (HA) を担体として ADSCs を片側膝関節内に投与し、対側膝には HA のみを投与した。術後 8 週、12 週で大腿骨顆部を摘出し、ADSCs 側と HA 側を肉眼的、組織学的、免疫組織学的に比較検討した。また、DiI でラベリングした ADSCs を用いて、膝関節内に投与した ADSCs を追跡した。さらに、家兎関節軟骨より培養した軟骨細胞と ADSCs を共培養し、ADSCs の分泌する液性因子が軟骨細胞に与える影響について調べた。

術後 8 週では、ADSCs 群で有意に軟骨変性が抑制されており、MMP-13 陽性細胞は、ADSCs 群で少ない傾向にあった。また、関節内軟部組織に DiI でラベリングした ADSCs の沈着を認めた。術後 12 週では有意な軟骨変性抑制は認めなかった。ADSCs と軟骨細胞を共培養した結果、軟骨細胞の増殖効果を認めた。TNF- $\alpha$  刺激下でも同様の結果を示した。TNF 刺激後の培養液中の MMP-13 濃度を測定すると、ADSCs 群で有意に減少していた。OA に対して、ADSCs を関節内投与することで軟骨変性の改善を認めたとする報告は散見されているが、その明確な evidence は示されていない。一方、投与した ADSCs が、サイトカインや成長因子を分泌することで得られる軟骨保護作用の可能性が報告されている。今回、家兎の OA モデルにおいて、ADSCs の関節内投与が軟骨変性抑制作用を呈することが示された。また、ADSCs と軟骨細胞を共培養することで、ADSCs の有する paracrine effect を評価し、軟骨細胞増殖作用、軟骨基質保護作用を有する事が示された。

審査結果：本研究は脂肪由来間葉系幹細胞の関節内投与が軟骨保護作用を来すことを解析した基礎的研究であり、変形性膝関節症に対する間葉系幹細胞の有効性が期待され、医学博士の学位授与に相当する労作であると評価された。