

論文内容の要旨

報告番号		氏名	清水 隆昌
Osteogenesis of cryopreserved osteogenic matrix cell sheets (冷凍保存骨芽細胞シートの骨形成能評価)			

論文内容の要旨

【背景】

再生医療技術を用いて作製した培養人工骨は、採取部の問題が生じる自家骨に代わり、新たな骨移植法として最近注目を集めているが、培養人工骨の作製には培養に時間が必要である。このことは、培養人工骨が臨床で広く普及する上で問題となっている。培養人工骨の冷凍保存は、解凍後すぐに使用でき非常に有用であるが、解凍後骨形成能が低下することが指摘されており、冷凍保存培養人工骨の骨形成能を維持するための研究が広く行われている。

我々は、培養骨髄由来の間葉系幹細胞から作製した骨芽細胞シートが高い骨形成能を報告してきた。冷凍保存した骨芽細胞シートが解凍後も高い骨形成能を維持できれば、解凍後に人工骨と組み合わせることで容易に培養人工骨の作製が可能となる。本研究では、冷凍保存骨芽細胞シートの骨形成能を評価し、冷凍保存培養人工骨の新たな作製方法を検討することを目的とした。

【方法】

7 週齢 Fischer 344 ラットの大腿骨骨髄を採取し、初期培養で獲得した間葉系幹細胞を 10cm 径培養皿に播種する。デキサメサゾン (10nM)、アスコルビン酸 (82 μ g/ml) を添加した培地で二次培養を行い、骨芽細胞シートを採取した。保存期間が 4 週間 (4 週群) と 12 週間 (12 週群) の 2 群を作製し、採取後直ちに移植したものを対照群として比較を行った (各群 n=6)。冷凍保存液はセルバンカーを用い、冷凍保存は -80 $^{\circ}$ C のフリーザーで行った。それぞれ細胞シートを円盤状ハイドロキシアパタイト (HA) にラップし、同系ラットの背部皮下に移植した。移植後 4 週目で摘出し、X 線画像および組織像、さらにアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性、オステオカルシン (OC) 含有量 (ELISA) を測定し骨形成を評価した。

【結果】

冷凍保存した骨芽細胞シートは、解凍後も細胞シートの形態を維持しており、顕微鏡下の観察でも、4 週群、12 週群ともに対照群と比較しその形態に変化を認めなかった。摘出標本は、3 群とも X 線画像、組織像で HA 周囲に新生骨を認めた。ALP 活性、OC 含有量は、保存期間が長期になるにつれ低下する傾向があったが、3 群とも骨形成能を維持していた。

【考察】

本研究によって骨芽細胞シートは冷凍保存後も骨形成能が維持できることが示された。臨床においてすぐに使用できる培養人工骨の新たな作製方法の一つとして本法は有用であると考えられた。