

学 位 論 文 要 旨

研究題目

Polydactyly bone marrow-derived mesenchymal stem cell-conditioned medium can prevent cartilage degeneration and alleviate knee pain in a rat model of osteoarthritis

(ラット変形性膝関節症モデルにおいて多指症骨髄由来間葉系幹細胞培養上清は軟骨変性を抑制し疼痛を軽減する)

兵庫医科大学大学院医学研究科
医科学専攻 高次神経制御系
整形外科科学 (指導教授 橘 俊哉)
氏 名 赤井 俊介

変形性関節症 (Osteoarthritis; OA) は関節軟骨の変性を特徴とし、間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cell; MSC) を用いた治療が検討されているが、臨床導入は限定的である。MSC の分泌因子を含む培養上清 (Conditioned medium; CM) が OA に対し有用となる可能性があり、乳児多指症骨髄由来の MSC は軟骨分化において優位性を示す可能性がある。本研究は、モノヨード酢酸 (Monoiodoacetate; MIA) 誘発性ラット膝 OA モデルを用いて多指症骨髄由来 MSC 培養上清 (Polydactyly bone marrow MSC-derived conditioned medium; pBMSC-CM) の治療効果を検討した。

乳児多指症患者の切除指骨髄から MSC を樹立し CM を作製した。pBMSC-CM 存在下での軟骨細胞の細胞増殖と軟骨基質関連遺伝子の発現を評価し、pBMSC の網羅的遺伝子発現を確認するために RNA シーケンスを行った。SD ラットを無治療群、培養液単独群、pBMSC-CM 群の 3 群 (各 n=6) に分け、右膝 MIA 投与 1 週後に生理食塩水、培養液である α -Minimum Essential Medium、または pBMSC-CM をそれぞれ右膝関節内に注射した。行動試験として、膝関節伸展角を毎週測定し、健患差を評価した。治療注射の 2 週間後に逆行性神経トレーサーである Fluoro-Gold (FG) を両膝に投与し、1 週間後に膝関節と第 5 腰椎後根神経節 (Dorsal root ganglion; DRG) を採取した。関節軟骨はサフラニン O 染色標本から OARSI スコアを、滑膜炎は HE 染色標本から膝蓋下脂肪体 (Infrapatellar fat pad; IFP) 炎症スコアを用いて組織学的に評価した。DRG では CGRP に対する免疫染色を行い、膝由来を示す FG 陽性ニューロンに占める FG・CGRP 二重陽性ニューロンの割合を算出した。

pBMSC-CM は軟骨細胞の増殖を促進し、軟骨基質関連遺伝子の発現を上昇させた。RNA シーケンスでは、pBMSC で軟骨分化・成熟および疼痛・神経保護関連遺伝子の高発現が認められた。行動試験では、4 週時点で pBMSC-CM 群が他の 2 群より有意に改善していた。組織学的評価では、pBMSC-CM 群は他の 2 群よりも OARSI スコアが低く軟骨変性が有意に少なかった。IFP 炎症スコアは 3 群間で有意差は認められなかった。DRG において、FG 陽性ニューロンに占める FG・CGRP 二重陽性ニューロンの割合は pBMSC-CM 群で低かった。DRG での CGRP 発現低下は膝由来侵害受容経路の活性が抑えられたことを示唆し、行動試験の結果とも一致した。本研究において、細胞を含まない pBMSC-CM は軟骨変性及び疼痛の抑制を介して、OA に対する有望な治療候補であることが示唆された。