

医研第341号

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Artificial cartilage made from a novel double-network hydrogel: In vivo effects on the normal cartilage and ex vivo evaluation of the friction property

(ダブルネットワーク・ハイドロゲル製人工軟骨の有用性の検討: In Vivo における正常軟骨に与える影響と Ex Vivo での摩擦特性の評価)

氏名

梶谷 和伸



【はじめに】我々は実用可能な人工軟骨の開発を目指した一連の研究を行ってきた ( Yasuda, Biomaterials 2005 など ) . その結果、開発した P A M P S / P D M A A m ダブルネットワーク ( D N ) ハイドロゲルは約 3 M P a の圧縮破断強度と約  $10^{-3}$  の摩擦係数を有し、安全性試験においても人工軟骨の素材として有望であることが解った . そこで本研究では、この D N ゲル製人工軟骨が膝関節内で相対する正常軟骨に与える効果を *in vivo* で検討した . また、*ex vivo* で正常軟骨との摩擦係数を測定した .

【方法】日本白色家兎 16 羽を用いた . 右膝 P F 関節大腿骨側に径 4 . 3 m m の骨欠損を作成し、径 4 . 5 m m の D N ゲル円柱をプレスフィットし ( D N 群 ) , 左膝には関節包切開のみの S h a m 手術を施行した . 術後 4 , 12 週で 8 羽ずつ屠殺し、組織学的評価 ( H E , S a f r a n i n - O ) と走査型共焦点

レーザー顕微鏡 ( C L S M ) による表面評価に供した。組織学的評価においては、大腿骨・膝蓋骨を矢状面にて切片作製し、Mankinスコアで評価した。また、C L S M により相対する膝蓋骨軟骨表面に認められる p i t ( 表面小窪み ) 数と表面粗さを測定した。また、関節シミュレーター装置を用いて、D N ゲル対正常軟骨、正常軟骨対正常軟骨の摩擦係数を測定した。統計解析には分散分析を用いた。

【結果】肉眼的には炎症所見、関節水腫は認めなかった。組織学的には滑膜肥厚や細胞浸潤増加、血管新生は認めず、周囲軟骨に影響なく D N ゲル境界に新生骨による骨壁が認められた。膝蓋骨の軟骨細胞の数・配列はほぼ正常であったが D N 群において一部の検体に軽度の軟骨輝板の表面不整 ( g r a d e 1 ) がみられた ( 4 週 1 膝 , 1 2 週 3 膝 ) 。 C L S M による評価では、表面粗さ ( n m ) の平均は D N 群 4 週 0 . 1 1 7 , 1 2 週 0 . 1 5

5, Sham群 4週 0.142, 12週 0.167であり有意差はなかった ( $p = 0.618$ )。pit数(個)の平均はDN群 4週 8.5, 12週 6, Sham群 4週 10.5, 12週 10であり有意差は認めなかった ( $p = 0.436$ )。が、DN群において12週は4週に比べpit数の減少傾向を認めた ( $p = 0.066$ )。摩擦係数はDNゲル対正常軟骨は0.029, 正常軟骨対正常軟骨は0.188であり、DNゲルの対正常軟骨摩擦係数の方が有意に低かった ( $p < 0.0001$ )。

【考察】PAMP S / PDMAAm DNゲルは滑膜組織に明らかな炎症反応を惹起せず、正常軟骨に対する摩擦係数も有意に低かった。また相対する正常軟骨に与える影響は無治療群と比べても良好であった。このDNゲルは過去に存在した人工軟骨用素材と比べて多くの点において優れており、人工軟骨開発の素材として有望である。

(別紙様式第 7 号)

## 論文審査結果の要旨

報告番号	* <u>課程博</u> 論文博 第 341 号	氏名	新垣 和伸
論文審査委員	審査日	平成 22 年 / 月 5 日	
	主査教授	斎藤 誠一	<u>斎藤</u> 印
	副査教授	村山 貞之	<u>村山</u>
	副査教授	加藤 誠也	<u>加藤</u>
(論文題目)			
<p>Artificial cartilage made from a novel double-network hydrogel:          In vivo effects on the normal cartilage and ex vivo evaluation of the friction property          (ダブルネットワーク・ハイドロゲル製人工軟骨の有用性の検討          : In Vivo における正常軟骨に与える影響と Ex Vivo での摩擦特性の評価)</p>			
(論文審査結果の要旨)			
<p>上記論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準等につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。</p>			
1. 研究に至る背景と目的			
<p>関節軟骨(硝子軟骨)は血流に乏しいため、一度損傷されると自己回復は困難とされている。全層の軟骨欠損に対する現在の治療戦略として、軟骨下骨に多数の小穿孔を加えるマイクロフラクチャー法、自家骨軟骨柱を採取し欠損部に移植する自家骨軟骨柱移植術、採取・培養した自家軟骨細胞を3週後に移植する培養自家軟骨細胞移植術などが行われているが欠点も多く、十分な臨床成績も得られていない。全層軟骨欠損に対する治療法の一つとして、これまで PVA (ポリビニルアルコール)などを素材とした人工軟骨の開発が行われてきたが、強度・水分含量・低摩耗性などの材料特性が不十分であり臨床応用には至っていない。</p>			
<p>著者らは臨床応用可能な人工軟骨の開発を目指して一連の研究を行い、その結果、開発した PAMPS/PDMAAm ダブルネットワーク(DN)ハイドロゲルは約 3MPa の圧縮破断強度と 94%の水分含量、約 <math>10^{-3}</math>の摩擦係数と関節軟骨の特性に類似し、ウサギの皮下及び筋肉内包埋による生体適合性試験においても細胞反応が少ないことを報告した。本研究では、この DN ゲル製人工軟骨が膝関節内で対向する正常軟骨に与える効果を in vivo で検討し、ex vivo で正常軟骨と DN ゲルの摩擦係数を測定した。</p>			

- 備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。  
 2 要旨は800字~1200字以内にまとめること。  
 3 \*印は記入しないこと。

## 論文審査結果の要旨

## 2. 研究内容

実験1: 日本白色家兎20羽を用いた。右膝蓋大腿関節大腿側に径4.3mm×9mmの骨欠損を作成し、径4.5mm×9mmのDNゲル円柱をプレスフィットするように移植したものをDN群とし、左膝は関節包切開のみを行いSham群とした。術後4、12週で10羽ずつ屠殺し、組織学的評価(HE、Safranin-O、Type2コラーゲン)と共焦点走査型レーザー顕微鏡(CLSM)による表面形状評価に供した。組織学的評価においては、大腿骨・膝蓋骨を矢状面にて切片を作製し、Mankinスコアで評価した。また、CLSMMでは移植部に対向する膝蓋骨軟骨表面に認められるpit(表面小窪み)数と表面粗さを測定した。統計解析には分散分析を用いた。

実験2: 日本白色家兎5羽を用いて関節シミュレーター装置による正常軟骨対正常軟骨、DNゲル対正常軟骨の摩擦係数を測定した。統計解析にはunpaired-tテストを用いた。

結果: 実験1: 肉眼的所見では炎症所見、関節水腫は認めなかった。組織学的には滑膜肥厚や細胞浸潤増加、血管新生を認めず、DNゲルと海綿骨境界に新生骨形成を認めた。対向する膝蓋骨の軟骨細胞の数・配列はほぼ正常であったがDN群において一部の検体に軽度の軟骨輝板の表面不整像がみられた(4週1膝, 12週3膝)。CLSMMによる評価では、pit数の平均値及び表面粗さの平均値共に有意差を認めなかった。実験2では、摩擦係数はDNゲル対正常軟骨は0.029、正常軟骨対正常軟骨は0.188であり、DNゲルの対正常軟骨の摩擦係数の方が有意に低かった( $p < 0.0001$ )。

## 3. 研究成果の意義と学術的水準

PAMPS/PDMAAm DNゲルは関節内において明らかな炎症反応を惹起せず、また移植部に対向する正常軟骨に与える影響は無治療群と比べても有意差を認めなかった。正常軟骨に対する摩擦係数も有意に低かった。このDNゲルは過去に存在した人工軟骨用素材と比べて生体親和性、軟骨への影響、強度、低摩耗性において優れており、人工軟骨開発の素材として有用な可能性が考えられた。

以上より、本論文は学位授与に十分値するものであると判断した。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
  - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。