審 査 結 果 の 要 旨

論文題目　「関節軟骨治療に向けた多指症組織由来同種軟骨細胞シートと成人軟骨細胞シートの特性比較」

学位申請者　前原　美樹

本論文は、疼痛・運動制限などが長期に続く変形性関節症に対する関節軟骨治療のための基盤研究である。現在先進的研究として進んでいる自己軟骨細胞シート移植治療は臨床成果を得ているが、自己軟骨組織の採取とシート移植の手術による侵襲性、品質管理の難しさなどから、同種軟骨細胞移植の重要性を鑑み、今回の多指症手術時廃棄組織からの同種軟骨細胞のセルソース研究開発に至っている。

本論文では、多指症手術時廃棄組織 22 検体より軟骨細胞を単離し、作成した多指症組織由来同種軟骨細胞シート（PD シート）および成人軟骨細胞シート（TKA シート）について比較試験している。シートの性状、微細構造の確認、細胞表面マーカーの発現、Saflanin-O などの染色性確認、免疫組織染色による細胞外マトリックスの評価を行い、さらに 12 種類の軟骨関連因子について、マイクロアレイデータによる遺伝子発現、ELISA 法による培養上清中の蛋白産生量を定量して、それぞれのシートのパラクライン効果による軟骨修復能を検討した。

その結果、PD シートは増殖能に優れ、操作性良好な層状構造を有し、豊富な細胞外マトリックスを有していた。PD シート、TKA シートともに血球系細胞マーカーの陽性率は低く、間葉系幹細胞マーカーを強く発現したが、軟骨細胞肥大化抑制や軟骨形成分化に関与する DKK1 や THBS2 は PD シートで特徴的に産生が認められ、優れた治療効果が得られるものと推測された。以上から、本論文は PD シートの臨床応用を示唆する重要な知見を含み、博士論文に十分値すると考えられる。

各委員から以下のような質問が寄せられた。

１．シートの厚み・細胞数の違いはどういった意味を持つものなのか。

２．それぞれの分泌軟骨関連液性因子は膝関節軟骨修復という目的に照らして、どのような効果を有するものか。

３．軟骨細胞の肥大化とその抑制について。

４．同種細胞移植の場合の免疫反応は存在するのか。

５．関節内の免疫担当細胞はどのようなものが存在するのか。

６．多指症組織のサンプリングからその後の処理についての説明。

７．細胞シートの脱分化の可能性について。

８．シートに混入する幹細胞について。

９．身体の各部位における軟骨の違いについて。

１０．腫瘍化のリスクの評価方法について。

１１．再生医療製品としての今後の開発方針について。

１２．PD シートと TKA シートの HLA 抗原発現量の違いについて。

１３．PD 細胞の長期凍結での安定性について。

１４．多指症ドナーの個体差による細胞特性の違いについて。

１５．多数回継代を経た細胞でもシートは作成可能か。

１６．成人軟骨シートは積層化を必要とし、多指症シートは必要ないのか。

上記内容に対して申請者は、自らの研究成果と文献的考察を含めて冷静に回答し、この論文が関節軟骨治療に役立つものとなる可能性を示し、価値ある論文内容と考えられた。質疑応答においては、自らのデータの引用も適格で、関連する過去の論文・知識によりわかりやすく論文内容を説明し、的確な回答を行ったため、博士の学位を授与するのに十分な資格があると判断された。変形性関節症の細胞開発の今後の研究に対して、さらに期待したい。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。したがって、申請者　前原　美樹は東海大学博士（医学）の学位を授与されるに値すると判断した。

論文審査委員

主査	博士（医学）	浅原　孝之	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	矢部　普正	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	佐藤　正人	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	赤松　　正	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	酒井　大輔	医学部准教授	（医学研究科先端医科学専攻）