



## Electrospun Synthetic Polymer Scaffold for Cartilage Repair Without Cultured Cells in an Animal Model

豊川, 成和

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2010-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲4958

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004958>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏 名 豊川 成和  
博士の専攻分野の名称 博士（医学）  
学 位 記 番 号 博い第 4958 号  
学位授与の 要 件 学位規則第 5 条第 1 項該当  
学位授与の 日 付 平成 22 年 3 月 25 日

#### 【 学位論文題目 】

Electrospun Synthetic Polymer Scaffold for Cartilage Repair Without Cultured Cells in an Animal Model(動物実験モデルにおけるエレクトロスピニング法にて作成した生体吸収性 scaffold による培養細胞を使用しない軟骨修復)

#### 審 査 委 員

主 査 教 授 古森 孝英  
教 授 平井 みどり  
教 授 上野 易弘

## 学位論文の内容の要旨

### Electrospun Synthetic Polymer Scaffold for Cartilage Repair

#### Without Cultured Cells in an Animal Model

動物実験モデルにおけるエレクトロスピニング法にて作成した  
生体吸収性 scaffold による培養細胞を使用しない軟骨修復

神戸大学大学院医学系研究科医科学専攻  
整形外科学  
(指導教員： 黒坂 昌弘 教授)

豊川 成和

#### 【目的】

変形性関節症に代表されるように、広範な骨軟骨欠損は自然治癒しない。今日までに、骨軟骨欠損に対する治療には様々な治療法が開発されてきたが、決定打ともいえる治療法はない。最近では多分化能を持つ細胞を用いた治療法も報告されてきているが、細胞採取・培養・移植など、複雑な行程や二次的手術を要する等の問題点を未だ含んでいる。これまでに我々は多分化能を持つ骨髓由来細胞を局所にとどめて軟骨修復を誘導する生体吸収性高分子 scaffold を開発してきた。本研究では、生体吸収性高分子であるポリ乳酸-ポリグリコール酸共重合体 (PLG) を用いて、electrospinning 法でナノファイバー scaffold を 2 種類作成し、動物実験モデルにて骨軟骨欠損の修復過程を検討した。

#### 【方法】

scaffold は electrospinning 法にて作成した。まず PLG 溶液 (酪酸 : グリコール酸 = 50 : 50) を正に帯電させ、負に帯電させた電極に向けて高電圧下に噴出させる。そうすることで一定の径の fiber を作成可能であり、この fiber を負の電極棒を回転させて巻き取る。この方法により、ほぼ均一な空隙をもつバームクーヘン状の構造物を作成できる。80°C、10 分間の熱処理後これを直径 5mm 高さ 5mm の円柱サイズにくり抜いて scaffold を作成する (solid 群)。この solid 型 scaffold 中央部に、径 2.5mm の穴をハンドドリルにて作成した (tubular 群)。この 2 種類の日本白色家兎の大脛骨頸部に自然修復不可能な 5x5mm の骨軟骨欠損を作成し、同部位に今回作成した 2 種類の PLG scaffold を挿入、術後 2、4、12、24 週 (各週 n=6) で組織学的評価を行った。対照として骨軟骨欠損を放置した群を作成 (control 群) し 3 群間で比較検討した。

#### 【結果】

肉眼的所見では、control 群では骨軟骨の再生は認めるものの、表面は不整であったのに対し、solid 群、tubular 群とも 24 週までに良好な軟骨下骨・関節軟骨の再生を認めた。組織学的にもトルイジンブルー染色標本の関節軟骨の再生を点数化した評価法で、12、24 週で tubular・solid 群とも control 群間で有意差を認めた。24 週モデルにおいては、tubular 群、solid 群ではヘマトキシリン・エオジン染色にて tidemark を認めた。II 型コラーゲンに対する免疫染色でも陽性な再生軟骨を認めた。

#### 【考察】

これまでに、3mm 以内の軟骨欠損は、欠損部に生じた fibrous tissue が細胞を留めることで自然治癒可能であり、その一方で径 6mm の骨軟骨欠損は自然治癒しない、と報告されている。我々は以前に、凍結乾燥法にて作成した PLG scaffold を用いて骨髓由来細胞を留めることで良好な骨軟骨再生が得られる報告している。electrospinning 法で作成した scaffold は凍結乾燥法

に比べ均一な空隙率を持つ scaffold を容易に作成できる。また中央部に穴を作成した tubular 型でも良好な軟骨再生が得られたが、この形状により鏡視下手術の際にガイドワイヤーを使用した、より簡易で安全な導入できる可能性がある。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2073 号	氏名	豊川 成和
論文題目 Title of Dissertation	Electrospun Synthetic Polymer Scaffold for Cartilage Repair Without Cultured Cells in an Animal Model		
			動物実験モデルにおけるエレクトロスピニング法にて作成した 生体吸収性 scaffold による培養細胞を使用しない軟骨修復
審査委員 Examiner	主査 Chief Examiner	古森孝美	
	副査 Vice-examiner	上野房彌	
	副査 Vice-examiner	平井みどり	

(要旨は1,000字～2,000字程度)

## はじめに

変形性関節症に代表されるように、広範な骨軟骨欠損は自然治癒しない。今日までに、骨軟骨欠損に対する治療には様々な治療法が開発されてきたが、決定打ともいえる治療法はない。最近では多分化能を持つ細胞を用いた治療法も報告されてきているが、細胞採取・培養・移植など、複雑な行程や二次的術手術を要する等の問題点を未だ含んでいる。これまでに研究者らは多分化能を持つ骨髓由来細胞を局所にとどめて軟骨修復を誘導する生体吸収性高分子 scaffold を開発してきた。本研究では、生体吸収性高分子であるポリ乳酸-ポリグリコール酸共重合体 (PLG) を用いて、electrospinning 法でナノファイバー scaffold を 2 種類作成し、動物実験モデルにて骨軟骨欠損の修復過程を検討した。

## 材料と方法

scaffold は electrospinning 法にて作成した。まず PLG 溶液 (酪酸:グリコール酸=50:50) を正に帯電させ、負に帯電させた電極に向けて高電圧下に噴出させる。そうすることで一定の径の fiber を作成可能であり、この fiber を負の電極棒を回転させて巻き取る。この方法により、ほぼ均一な空隙をもつバームクーヘン状の構造物を作成できる。80°C、10 分間の熱処理後これを直径 5mm 高さ 5mm の円柱サイズにくり抜いて scaffold を作成する (solid 群)。この solid 型 scaffold 中央部に、径 2.5mm の穴をハンドドリルにて作成した (tubular 群)。

この 2 種類の日本白色家兎の大腿骨頸部に自然修復不可能な 5x5mm の骨軟骨欠損を作成し、同部位に今回作成した 2 種類の PLG scaffold を挿入、術後 2、4、12、24 週 (各週 n=6) で組織学的評価を行った。対照として骨軟骨欠損を放置した群を作成 (control 群) し 3 群間で比較検討した。

## 結果

肉眼的所見では、control 群では骨軟骨の再生は認めるものの、表面は不整であったのに対し、solid 群、tubular 群とも 24 週までに良好な軟骨下骨・関節軟骨の再生を認めた。組織学的にもトルイジンブルー染色標本の関節軟骨の再生を点数化した評価法で、12、24 週で tubular・solid 群とも control 群間で有意差を認めた。24 週モデルにおいては、tubular 群、solid 群ではヘマトキシリソ・エオジン染色にて tidemark を認めた。II 型コラーゲンに対する免疫染色でも陽性な再生軟骨を認めた。

考察ならびに結論

これまでに、3mm 以内の軟骨欠損は、欠損部に生じた fibrous tissue が細胞を留めることで自然治癒可能であり、その一方で径 6mm の骨軟骨欠損は自然治癒しない、と報告されている。研究者らは以前に、凍結乾燥法にて作成した PLG scaffold を用いて骨髓由来細胞を留めることで良好な骨軟骨再生が得られるこことを報告している。electrospinning 法で作成した scaffold は凍結乾燥法に比べ均一な空隙率を持つ scaffold を容易に作成できる。また中央部に穴を作成した tubular 型でも良好な軟骨再生が得られたが、この形状により鏡視下手術の際にガイドワイヤーを使用した、より簡易で安全な導入できる可能性がある。

本研究は、広範な骨軟骨欠損に対し、骨髓由来細胞を欠損部に留めることで治癒できる可能性を研究したものである。体外からの培養細胞移植を用いないことに加え、その scaffold の形状から鏡視下手術が可能であることから、一期的術で済む低侵襲治療法となりうる点において価値ある業績であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。