

「Tissue engineering によって作成した骨・軟骨組織の臼蓋形成術への応用」

広島大学医学部整形外科

安永裕司

はじめに、このような研究の機会をいただきました、日本股関節研究振興財団理事長の伊丹康人先生に深謝いたします。

研究のタイトルは「Tissue engineering によって作成した骨・軟骨組織の臼蓋形成術への応用」です。最初に、この研究に至りました背景について、少し説明させていただきます。

寛骨臼回転骨切り術は臼蓋形成不全に対する標準的な手術ですが、術後レントゲンの経過を見ていますと、この軟骨下骨が術後経過とともに広がっていく、すなわち Soucil line の延長が見られる症例があります。これは、臼蓋形成不全においては、単に骨の被覆不足だけではなく、臼の軟骨面積の潜在的な狭小性もあるということの意味しているのだと思います。

この軟骨面積の狭小性というのは、術後の関節モデリングによって初めて獲得できるものだと思います。実際にCT画像の三次元構築から臼の軟骨面積を測ってみますと、臼蓋形成不全と正常群を比較しましたら、有意差をもって軟骨面積の狭小性が認められています。

従来の臼蓋形成術というのは、ご存じのように、この骨性の被覆をつくるのみです。それに対してRAOは関節軟骨を伴った臼蓋被覆ができるわけですが、先ほども述べましたように術直後にはこの面積は増えません。し

かも、手術侵襲を考えますと、RAOは非常に侵襲が大きいという短所もあります。ということで、最近注目されています Tissue engineering によりまして、この軟骨を自家組織から培養しまして増殖させて、そして臼蓋形成術に応用できないかと考えたわけです。

Tissue engineering におきましては、その足場となる吸収性の材料が必要なわけですが、我々はこのポリグリコール酸 (PGA) を使いました。過去の研究から見ますと、やはりこのPGAは力学的に少し弱いということで、関節軟骨移植に用いるには何らかの力学的な強化が必要であるということが考えられました。

そこで、私たちは、このPGAのメッシュに骨膜を付着させまして、骨膜そのものの力学的強度と骨膜の未分化間葉形細胞の軟骨細胞、あるいは骨芽細胞への分化を期待して併用することとしました。研究材料はウサギを使いました。軟骨細胞は膝周囲から取りまして、骨膜も同様に膝から取っています。PGAメッシュの形状はこのようなものを使っています。

まず、取り出した新鮮関節軟骨を酵素処理しまして、単離した後に、1週間の単層培養を行います。この培養によって、約10倍の細胞数の増加が得られます。骨膜のほうは大きさ6×6mm程度の大きさですが、これをPGAメッシュにナイロン紙で縫着します。そし

て、PGA骨膜複合体のPGAのメッシュの部分にこの単層培養で増やしました培養軟骨細胞、 1×10^8 の8乗個をメッシュ部分に注入・播種します。そして、その三次元培養を6週、9週、12週間行いました。これが三次元培養3週の肉眼所見です。これが12週です。

組織学的検討におきましては、接点を作成しましてHE、サフラニンO、それから2型コラーゲンによる免疫染色を行いました。検討項目としては軟骨細胞の細分化の程度、再生軟骨の骨膜との癒合状態、骨膜の軟骨形成の有無、再生軟骨と骨膜の厚さなどについて検討しました。

これは三次元培養6週の組織です。こちら側がメッシュの中で増殖した軟骨組織です。こちらが骨膜になります。サフラニンOによる基質の染色性は良好だと思います。それから、骨膜組織とメッシュ部分の癒合も良好です。2型コラーゲンによる染色性も良いと考えられます。

三次元培養12週になりますと、さらに軟骨組織の分化は進みまして、表層では特にこのようにlacunaeが非常に大きくなりますし、一部分分裂像も認められます。それから、深層でありますと少しまだ分化が未熟な所見が認

められています。骨膜におきましては、一部サフラニンOの染色が見られまして、骨膜組織からの軟骨化生ができたものと考えています(図)。

厚さについて検討しますと、6週から12週にかけて、軟骨組織の厚さ並びに骨膜の厚さともに増加する傾向が認められました。このようなin vitroでの実験結果を踏まえまして、ウサギの白蓋形成術を試みたわけですが、何ぶんウサギの股関節が非常に小さかったものですから、なかなか手技的にうまくいきませんでした。

そこで、一般的に現在軟骨培養移植で使われていますウサギの膝の全層欠損に対して、これを自家移植しました。これは断面像ですが、術後6週で非常に癒合はいいと考えられます。これは術後6週の組織像ですが、軟骨変性は特にありません。それから、骨膜と母床の骨組織との癒合も比較的良好に行われつつあると思われます。現在、白蓋形成術に対する応用としては、少し大きな動物、ビーグル犬を使いまして引き続き検討させていただきます。

まとめです。Tissue engineeringの手法を用いて培養軟骨細胞と骨膜からなる複合組織の



作成を試みました。再生された軟骨は硝子軟骨であり、骨膜によく癒合していました。骨膜片には軟骨化生を認めました。

今後、膝に対する自家移植の検討とともに、ビーグルを使いました臼蓋形成術の応用に対して引き続き研究を進めたいと思っています。これらの研究結果は、第15回・16回の

日本整形外科学会基礎学術集会並びに第4回の日米欧加整形外科基礎学会で、共同研究者の金沢が発表させていただきました。どうもありがとうございました。

伊丹 どうもありがとうございました。