慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Repair of full-thickness cartilage defects using liposomal transforming growth factor-β1.
Sub Title	Trensfortning growth factor-β1リボソームの関節内注入による関節軟骨修復
Author	阿部, 智行
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.2 (2003. 6) ,p.39-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030602-0039

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Repair of full-thickness cartilage defects using liposomal transforming growth factor-β1.

(Transforming growth factor-β1リポソームの関節内注入による関節軟骨修復)

阿　部　　智　行

内容の要旨

関節軟骨は関節機能維持のため最も重要な組織である。いったん軟骨が損傷されると、その修復は困難とされているが、最近では成長因子を関節内に注入することにより軟骨を修復する試みがある。Transforming growth factor（以下TGF）-β1は*in vitro*で軟骨再生を促進することが示されている成長因子の一つである。しかし、TGF-β1の関節内注入については滑膜炎や軟骨マトリックス代謝障害による悪影響が危惧されており、現在まで軟骨修復を促進したという報告はない。リポソームは封入された薬剤を緩徐に漏出することにより持続的な薬効を与えること、また薬剤の急性毒性を軽減できることなどの特徴がある。本研究では、TGF-β1をリポソームに封入し、家兎全層軟骨欠損モデルの膝関節内に注入することにより軟骨修復を促進できるか否かについて組織学的に検討した。

53羽の日本白色種家兎の膝関節の膝蓋大腿関節面に全層軟骨欠損を作製した。1週後にTGF-β1リポソーム溶液を膝関節内に注入し、3週および12週後に膝関節を摘出した。軟骨欠損部に形成された修復組織を組織学的に観察し、脇谷らのscoringを用いて軟骨修復を評価した。また、修復組織中のglycosaminoglycan（以下GAG）含量を定量した。軟骨マトリックスとして重要なⅡ型コラーゲンについては、免疫染色およびⅡ型プロコラーゲンmRNAに対する*in situ* hybridizationを行った。

3週での観察では、TGF-β1を封入したリポソーム溶液を注入した群の修復組織では対照群に比べトルイジンブルー染色による異染性が良好な厚い線維軟骨の形成が観察された。脇谷らのscoringにおいても同群は対照群に比べ有意に低値を示し、良好な修復が得られていた。修復組織のGAG含量も同群は対照群に比べ有意に高値を示した。また、Ⅱ型コラーゲンの免疫染色および*in situ* hybridizationの結果から、対照群に比して同群においてⅡ型コラーゲンの蛋白およびmRNAレベルでの発現が亢進していることが示された。しかしながら、TGF-β1封入リポソーム群の軟骨修復における組織学的な優位性は12週後には消失していた。

本研究では、TGF-β1封入リポソーム溶液を注入した群で軟骨修復早期と考えられる3週目に組織学的scoringおよびGAG含量の両者において軟骨修復の促進が認められた。以上の結果は、リポソームを利用した単回の関節内注入によりTGF-β1は軟骨修復をその早期において促進できることが証明された。

論文審査の要旨

関節軟骨の損傷は、関節機能を障害し、早期に変形性関節症に至る原因となる。現在、関節軟骨損傷の修復は様々な手法が行われており、その手法の一つに成長因子を関節内に注入することにより軟骨を修復する試みがある。Transforming growth factor（TGF）-β1はin vitroで軟骨再生を促進することが示されている成長因子の一つである。しかし、TGF-β1の関節内注入は滑膜炎や軟骨マトリックスの代謝障害による悪影響が危惧されているため関節軟骨の修復について報告がない。リポソームは封入された薬剤を緩徐に漏出することにより持続的な薬効を与えることなどの特徴がある。本研究では、TGF-β1をこのリポソームに封入し、家兎全層軟骨欠損モデルの膝関節内に注入することにより軟骨修復を促進できるか否かについて組織学的に検討した。その結果、モデル作製後早期例において、TGF-β1を封入したリポソーム溶液を注入した群では、対照群に比してglycosaminoglycan（GAG）含量が豊富でかつ軟骨様細胞がその多くを占める厚い線維軟骨の形成が観察された。また、同群の修復組織では対照群に比してⅡ型コラーゲンの蛋白およびmRNAの発現が亢進していることが観察された。しかしながら、モデル作製後長期例において、TGF-β1封入リポソーム群では軟骨修復における組織学的な優位性が消失したことが示された。以上より、TGF-β1の関節内注入は関節軟骨修復の早期において軟骨修復を促進することが明らかとなった。

審査では、まず本実験で関節内注入したTGF-β1の用量が至適用量であるかについて質問された。これに対し、本研究においては予備実験で様々な用量を確認した上で、至適と考えられるTGF-β1の用量を使用したと回答された。また今回の実験におけるTGF-β1による軟骨再生のメカニズムについて質問された。これに対し、今回の実験においてはTGF-β1が未分化間葉系幹細胞を軟骨細胞への分化を促進した可能性が高いと回答された。また修復軟骨に対して圧力を負荷する実験が行われているかと質問された。これに対し、修復軟骨に対して荷重をかけるなどの圧力負荷実験は、軟骨修復の研究の上で検討すべき重要な点であり、今後研究を進めて行きたいと回答された。またモデル作製後長期には対照群に対する優位性が無くなることから、一時的に軟骨修復を促進していただけであり、軟骨修復を得たことにはならないのではと指摘された。これに対し、今回の実験ではTGF-β1が軟骨修復の早期において軟骨修復を促進する効果があることを認めたことに意義が有り、さらに長期にわたり軟骨修復を得るには、今後薬剤の工夫などを検討する必要があると回答された。

以上のように、本論文ではさらに検討されるべき課題を残しているものの、TGF-β1の関節内注入によって関節軟骨の修復が促進され得ることを明らかにした点が有意義であると評価された。

論文審査担当者　主査　整形外科学　戸山　芳昭
　　病理学　岡田　保典　リハビリテーション医学　千野　直一
形成外科学　中島　龍夫　　発生・分化生物学　須田　年生
学力確認担当者：北島　政樹、岡田　保典
　　審査委員長：岡田　保典

試問日：平成15年4月2日