

血領域に比べ大であった (1.22 ± 0.17 vs 0.96 ± 0.09 , $p < 0.0001$). PCI 後では, 虚血領域の ATP 負荷時 TPSc は安静時に比べ短縮し, TPSc ratio は PCI 前より有意に改善した ($1.22 \pm 0.17 \rightarrow 0.98 \pm 0.05$, $p < 0.0001$). 心筋虚血を判断するための TPSc ratio の cut off 値は 1.04 で, 感度 93%, 特異度 93% (AUC0.97) が得られた. 非虚血領域では PCI 前後の TPSc ratio に有意差を認めなかった.

[考察]

組織ドプラ超音波検査法により, 虚血心筋部位では ATP 負荷に伴う収縮遅延により TPSc の有意な延長を認めた. さらに, TPSc ratio が非虚血心筋部位と比して有意に大であることから, 虚血心筋の判定に有用と考えられた. また, 虚血心筋部位における TPSc の延長は, PCI 後の決行改善に伴い速やかに改善することが確認された.

[結論]

ATP 負荷組織ドプラ超音波検査法で TPSc を測定し TPSc ratio を算出することは, 虚血心筋の診断に有用であり, 高い感度, 特異度が得られた. また, TPSc の延長は PCI 後に速やかに消失した. 収縮遅延現象が虚血解除によって速やかに消失したことより, 本法が治療的效果判定にも有用であると考えられた.

論 文 審 査 の 要 旨

虚血心筋モデルでは, 肉眼的な壁運動異常を生じる前に, 収縮遅延を呈することが知られている. 本研究の目的は, ATP 負荷組織ドプラ超音波検査法を用いた収縮遅延現象を strain 法により定量的解析し, 虚血心筋の診断および経皮的冠動脈形成術 (PCI) 後の治療効果判定に有用か否かを検討することである. 狭心症患者 26 例に対し, PCI 前後に, ATP 投与前後で組織ドプラ超音波検査を行い, 収縮遅延現象を定量化するために虚血領域および非虚血領域において, 安静時と ATP 負荷時の time to peak strain (TPSc) 比を測定した. また ATP 負荷時と安静時 TPSc の比を算出し TPSc ratio とし, 比較検討を行った. その結果, 組織ドプラ超音波検査法により, 虚血心筋部位では ATP 負荷に伴う収縮遅延により TPSc の有意な延長を認め, さらに TPSc ratio が非虚血心筋部位として有意に大であった. また, 虚血心筋部位における TPSc の延長は, PCI 後の血行改善に伴い速やかに正常化することが確認された. したがって, ATP 負荷組織ドプラ超音波検査法は虚血心筋の診断に有用であると共に, PCI 後の治療効果判定にも有用であることが確認された.

58

氏 名 ウチ ヤマ ヒロ ト 内 山 博 人

学位の種類 博士 (医学)

学位授与の番号 乙第 2662 号

学位授与の日付 平成 22 年 12 月 17 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当 (博士の学位論文提出者)

学位論文題目 **In vivo 3D analysis with micro-computed tomography of rat calvaria bone regeneration using periosteal cell sheets fabricated on temperature-responsive culture dishes**

(温度応答性培養皿で作製した培養骨膜細胞シートによるラット頭蓋冠の骨再生, および μ -CT によるその三次元的解析)

主論文公表誌 Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine 第 5 巻 第 6 号 483-490 頁, doi: 10.1002/term.340. 2010 年

論文審査委員 (主査) 教授 安藤 智博
(副査) 教授 岡野 光夫, 佐々木 宏

論文内容の要旨

〔目的〕

従来、腫瘍や外傷による骨欠損症例に対して自家骨移植が行われていた。近年自家骨移植に代わる方法として、骨髄由来の間葉系幹細胞と細胞の足場となる生分解性の scaffold を利用した組織工学の分野が脚光を浴びている。しかし多分化能を持つ細胞の分化制御機構は未だ解明されておらず、腫瘍化等の問題もある。また外来性の scaffold の使用は生物学的不活性、炎症反応といった問題に直面する。こうした懸念の回避に骨膜由来細胞と、scaffold を使用しない温度応答性培養皿の利用を考えた。骨膜は歯槽骨から簡便かつ低侵襲で採取でき、骨膜内の骨前駆細胞が骨再生能力を所持していると言われており、温度応答性培養皿を利用し骨膜シートを作製することにより、scaffold の使用も行わなくてすむ。我々はラットの頭蓋冠欠損モデルに温度応答性培養皿で作製した骨膜シートを移植し、 μ CT を用いて骨再生の様子を観察し、培養骨膜シートが骨再生を誘導、加速させる能力があるか検証を行った。

〔方法〕

ルイスラットより骨膜組織片を採取し、温度応答性培養皿で骨膜細胞シートを作製した。ヌードラットの頭頂骨に全層骨欠損モデルを作製し、シートを移植する群と移植しないコントロール群に分け、 μ CT を用いて 3D の再生骨画像を構築した。

〔結果〕

作製した骨膜シートには骨形成マーカーである ALP 陽性を示す骨芽細胞様の細胞が認められた。ラット頭頂骨欠損モデルにこのシートを移植した 3D 画像ではコントロール群と移植群では異なる骨再生を示し、移植群では欠損中心部に異所性に再生骨が出現した。コントロール群では異所性再生骨は観察されず、骨欠損部位は硬組織で再生されなかった。

〔考察〕

コントロール群の骨再生は欠損辺縁のみに認め、この再生骨が母床骨由来であることを意味している。移植群では欠損部の中心に、異所性に再生骨の出現を認めたがその成長は途中で停止した。これは骨膜シートに含まれている線維芽細胞の成長により骨再生を途中から妨害したと思われる。培養条件の改良によりシート内の骨形成細胞を増やすことで、骨再生能の高い骨膜細胞シート作製が可能と思われる。

〔結論〕

作製した培養骨膜細胞シートは異所性に骨を作り出す能力を所持しており、骨再生医療分野において、有効な治療法になる可能性が示唆された。

論文審査の要旨

骨欠損に対しては自家骨移植、人工物あるいは骨髄細胞と scaffold を使用した再建方法が行われてきた。この論文は細胞シート工学を応用して骨膜から作製した培養骨膜シートが骨の再生医療に応用できるか否かを検討した論文である。方法はルイスラットより骨膜組織片を採取し、温度応答性培養皿で骨膜細胞シートを作製しその性状を検討した。また、ヌードラットの頭頂骨に骨欠損モデルを作製してシートを移植する群と移植しない群に分け μ CT を用い観察した。結果は作製した骨膜シートには ALP 陽性を示す骨芽細胞様の細胞が認められた。ラット頭頂骨欠損モデルに骨膜シートを移植した群では欠損中心部に異所性に再生骨が出来たことが μ CT 画像で確認された。コントロール群では骨再生は欠損部の辺縁のみに認められた。以上のことから作製した培養骨膜シートは異所性に骨を作り出す能力を所持しており骨再生医療分野において有効な治療法になる可能性が示唆された。