

論文内容の要旨

報告番号		氏名	倉知 孝
Use of Cryopreserved Osteogenic Matrix Cell Sheets for Bone Reconstruction 凍結骨髄間葉系幹細胞由来骨芽細胞シートの骨再建における有用性			

我々は、培養骨髄由来の間葉系幹細胞(MSCs)を用いて、骨形成能をもつ骨髄間葉系幹細胞由来細胞シート(OMCSs)の有用性を報告してきた。しかしながら、細胞培養・シート作成に準備期間がかかることが臨床応用における一つの課題である。そこで本実験において凍結した細胞シートの骨形成能を評価した。凍結方法は、急速凍結法・緩速凍結法の二つの方法を新鮮シートも含め比較検討した。

In vitro では、それぞれの凍結方法にて保存したシートを解凍し、新鮮シートも含め、Cell Counting Kit8 用いてシートの活性を評価した。In vivo においては、各群の凍結シート及び新鮮シートをラットの背部皮下に注入移植し、4 週後摘出しレントゲン・病理 (HE/Sirius Red 染色)・オステオカルシンの mRNA を比較した。さらに、ラットの大腿骨を用いて骨欠損モデルを作製し、各群の解凍したシートを移植し、3・6 週レントゲン/病理・6 週力学試験にて骨形成能を比較検討した。In vitro での細胞活性は 3 群比較にて、急速凍結群が新鮮群より有意差をもって低下していた。緩速凍結群は、新鮮群に比較し約 7 割程度であったが有意差は認めなかった。背部皮下の注入移植においては、各群(新鮮群・急速凍結群・緩速凍結群)ともレントゲン・病理にて骨形成を認めた。オステオカルシンの mRNA の発現も各群とも有意差を認めず、骨誘導能を保っていることが証明された。骨欠損部に対する移植においては比較においては、非移植群・急速凍結群・緩速凍結群の 3 群比較において、緩速凍結群が有意差をもって力学的強度を保っていた。

我々は新鮮細胞シートの注入移植で壊死骨や偽関節部に骨形成能を付与できることを報告している。本結果より、新鮮細胞シートと同様に、凍結保存細胞シートによっても骨形成能を付与することができると思う。一度の採取と培養操作で細胞シートを複数作製し保存、必要時に解凍して注入を行うことができるため、繰り返し移植が必要な際に有用と考える。凍結保存方法としては、シート活性の比較及び力学試験の結果をふまえると緩速凍結方法が適当であると示唆される。