

論 文 要 旨

Development of a salmon-derived crosslinked atelocollagen sponge disc containing osteogenic protein-1 for articular cartilage regeneration: *in vivo* evaluations with rabbits

(OP-1 含有鮭皮由来アテロコラーゲンスポンジ充填による、家兎膝関節骨軟骨欠損部における軟骨再生効果)

関西医科大学整形外科学講座
(指導：飯田寛和 教授)

森 裕之

【研究目的】

魚類由来コラーゲンは、生体親和性に優れ、人獣共通感染症のリスクを回避できる、人体に安全な細胞培養基材として期待されている。しかしながら、魚類由来コラーゲンは変性温度が低いため、ヒトへの応用は困難であった。我々の研究グループは、コラーゲン分子間に架橋を施す独自の技術により、鮭皮由来コラーゲンの変性温度を、47°Cに上げることに成功し、ヒトへの応用が可能となった。一方、近年 Osteogenic Protein-1 (以下 OP-1) が、線維芽細胞の増殖能、およびマトリクス合成能を、増加することが報告されている。OP-1 は、すでに骨再生のための臨床応用に使用されており、関節への害が少なく、軟骨再生に関しても、効果が期待されるサイトカインである。本研究の目的は、家兎の膝関節骨軟骨欠損部における、架橋を施した鮭皮由来アテロコラーゲン (以下 SC) スポンジ充填による軟骨再生効果、及び、OP-1 を含有させた SC スポンジ充填による軟骨再生効果を、明らかにすることである。

【材料と方法】

24羽の日本白色家兎を使用した (体重 3.0~5.0 kg、3~4ヶ月齢)。体重 1kgあたり 12.5mg のペントバルビタールナトリウム (商品名: ソムノペンチル) を静脈内注射して導入後、Halothane (Fluothane) による吸入麻酔で維持して、手術を行った。両膝関節に、内側傍膝蓋切開にてアプローチし、膝蓋骨を外側脱臼させ、膝蓋大腿関節の大腿骨に、直径 4.3 mm、深さ 3 mm の軟骨欠損を作成した。欠損部に SC スポンジを充填の後 OP-1 (10µg) を投与した群 (I 群)、SC スポンジのみ充填した群 (II 群)、何も充填しない群 (III 群) の計 3 群を作成した。術後は固定や免荷は行わず、ゲージ内飼育とした。12 週後に、ソムノペンチルによる静脈麻酔下、KCl 静脈注射にて屠殺し、それぞれ肉眼的、組織学的評価、およびリアルタイム PCR 分析を行い、各群の比較検討を行った。

【結果及び考察】

肉眼的評価 (Wayne's score 使用) において、I 群は II 群に対し、また II 群は III 群に対し、いずれも有意に高得点であった。組織学的評価 (Wayne's score 使用) においても、I 群は II 群に対し、また II 群は III 群に対し、いずれも有意に高得点であった。リアルタイム PCR 分析においても、I 群と II 群において、Sox9 は有意差が見られなかったものの、共に高く発現されており、type-2 collagen、Aggrecan に関しては、いずれも I 群が II 群よりも有意に高く発現されていた。これにより、架橋を施した鮭皮由来アテロコラーゲン (SC) スポンジの充填は、家兎の膝関節骨軟骨欠損部において、有意な軟骨再生効果を認め、OP-1 を含有

した SC スポンジの充填は、更に有意な軟骨再生効果を認めた。以上のことより、架橋を施した鮭皮由来アテロコラーゲンスポンジは、生体親和性に優れ、人畜共通感染症のリスクを回避しつつ、軟骨再生効果を有意に増強させる有用な scaffold、デバイスとなり得る可能性が示唆され、更に OP-1 は、この軟骨再生効果をより増強させ得る、有用なサイトカインであることが示唆された。