

学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	阿部里見
<p>学位論文題目</p> <p>Human articular chondrocytes derived from osteoarthritis cartilage are non-alloreactive and inhibit mitogenic activity of polyclonally activated CD4+ T cells via cell-to-cell contact in vitro</p> <p>(変形性関節症から採取した関節軟骨はin vitro実験において同種免疫寛容がありポリクローナルに活性化されたCD4+T細胞の増殖を細胞間接触を通して抑制する)</p> <p>共著者名 能地 仁、伊藤 浩</p> <p>Journal of Orthopaedic Surgery December 2016 or April 2017 掲載予定</p> <p>研究目的</p> <p>関節軟骨は免疫学的寛容であると考えられており同種移植を用いた再生医療に期待される。子どもの関節軟骨は、免疫学的寛容で免疫調整能を持つことが（我々の）基礎研究により示され、臨床的に、すでに関節軟骨損傷の治療に用いられている。本研究は、関節軟骨の免疫特性が加齢、変性により影響をうけるか検討することである。</p> <p>材料・方法</p> <p>ヒト関節軟骨は変形性関節症より採取し単離培養した。同種免疫反応と免疫抑制特性を調べるため、同種リンパ球増殖試験、細胞周期試験、活性化CD4+T細胞増殖試験、細胞障害性CD8+T細胞反応試験を行った。また、関節軟骨細胞の表面抗原をフローサイトメトリー試験で検討した。</p>			

(1)

※用紙の大きさは、A 4判とし23×17cmの枠内におさめ、パソコン等で印字すること。

※用紙は、各自で作成すること。

成 績

変形性関節症から採取したヒト関節軟骨細胞は、同種リンパ球増殖試験において、アポトーシスは誘発しないものの、同種ヒト末梢血単核球細胞の増殖を起さず、同種免疫反応を惹起させなかった。また、関節軟骨は、ポリクローナルに活性化されたCD4+ T細胞の増殖を細胞間接触を通して抑制し、同種CD8+ T細胞による細胞障害反応を惹起しなかった。フローサイト試験では、軟骨細胞は、MHC class I分子を発現しているが、CD4+ T細胞の増殖に関与するMHC class II分子とB7-1/-2 positive co-stimulatory分子の発現を認めなかった。

考 案

軟骨細胞は抗原提示細胞の機能をもち同種反応を引き起こすという報告もある。しかし、過去の研究は、関節軟骨ではない軟骨の実験であったり、リンパ球増殖試験にウシ血清を用いたり、異種移植の条件を反映している。この影響を避けるため、本研究では血清を含んでいないメディウムを使用した。結果、変形性関節症由来の関節軟骨もまた、子どもや成人由来の関節軟骨と同様に、同種免疫反応を惹起しなかった。

細胞接着がない状態ではリンパ球は増殖したため、関節軟骨の表面分子もしくは細胞外マトリックス、もしくは、細胞外マトリックスに付着するタンパクが、CD4+T細胞の増殖を抑制している可能性があると考えた。そこで、関節軟骨細胞の表面分子を調べ、T細胞増殖に関与する補助因子の発現がないことおよび、T細胞増殖抑制に関与する補助因子の発現があることを示した。しかし、過去の論文と、本実験でアポトーシスが増えなかったことから、これらは主の要因ではないと考えられる。

動物を用いた関節軟骨組織のin vivoの移植実験ではCD8+T細胞などの細胞障害性因子による免疫反応があるため、CD8+T細胞の関与も検討したが、In Vitroの条件では、関節軟骨は細胞障害性CD8+T細胞の反応を惹起しなかった。過去のIn vivo実験は、動物種、軟骨の種類、移植部位や手技がすべて異なり、参考対象とならないと考える。

近年は間葉系幹細胞の免疫寛容および免疫調整能について多くの報告がなされ、液性因子や幹細胞の表面分子の関与が検討されている。幹細胞から再生した軟骨細胞では、表面分子の発現は異なり、同種幹細胞を用いた軟骨修復は、免疫学的にまだ解決すべき問題がある。

結 論

加齢および変性の環境下にある変形性関節症から採取した関節軟骨も、子どもや成人の関節軟骨と同様に免疫寛容特性と免疫抑制能を維持していると考えられた。





引用文献

- Bocelli-Tyndall C, Barnero A, Candrian C, Ceredig R, Tyndall A, Martin I. Human articular chondrocytes suppress in vitro proliferation of anti-CD3 activated peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Cellular physiology* 2006;209:732-734.
- Adkisson HD, Milliman C, Zhang X, Mauch K, Maziarz RT, Streeter PR. Immune evasion by neocartilage-derived chondrocytes: Implications for biologic repair of joint articular cartilage. *Stem Cell Res.* 2010;4:57-68.
- Adkisson HD, Martin JA, Amendola RL, Milliman C, Mauch KA, Katwal AB, et al. The potential of human allogeneic juvenile chondrocytes for restoration of articular cartilage. *Am J Sports Med.* 2010;38:1324-1333.

参考論文

- 阿部里見、能地仁、類家拓也、佐々木祐介、伊藤浩. ギャップテクニックにおける大腿骨コンポーネントの回旋はPatella tiltとShiftに影響を与えない. *日本人工関節学会誌* 45巻 705-706 2015
- 阿部里見、抗生剤入りセメントスパーサーを使用した足根骨骨髓炎の2例. *日本足の外科学会雑誌* 36巻 第1号 412-415 2015
- Bocelli-Tyndall C, Barnero A, Candrian C, Ceredig R, Tyndall A, Martin I. Human articular chondrocytes suppress in vitro proliferation of anti-CD3 activated peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Cellular physiology* 2006;209:732-734.
- Adkisson HD, Milliman C, Zhang X, Mauch K, Maziarz RT, Streeter PR. Immune evasion by neocartilage-derived chondrocytes: Implications for biologic repair of joint articular cartilage. *Stem Cell Res.* 2010;4:57-68.

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士 (医学)	氏 名	阿部里見
審査委員長 小林 博也  審査委員 吉田 成孝  審査委員 国澤 卓之  審査委員 松野 丈夫 			
学 位 論 文 題 目 <p style="text-align: center;">Human articular chondrocytes derived from osteoarthritis cartilage are non-alloreactive and inhibit mitogenic activity of polyclonally activated CD4+ T cells via cell-to-cell contact in vitro</p> 変形性関節症から採取した関節軟骨は <i>in vitro</i> 実験において同種免疫寛容がありポリクローナルに活性化された CD4+T 細胞の増殖を細胞間接触を通して抑制する 掲載雑誌 <p style="text-align: center;">Journal of Orthopaedic Surgery (December 2016 / April 2017 掲載予定)</p> <p>【目的】関節軟骨は自己修復能力に乏しい組織であるが、免疫学的に寛容であり同種移植を用いた再生医療に期待されている。本研究は、関節軟骨の免疫特性が加齢、変性により影響をうけるか検討する。</p> <p>【方法】ヒト関節軟骨を変形性関節症より採取し培養した。同種免疫反応と免疫抑制特性を調べるため、同種リンパ球増殖試験、細胞周期試験、活性化 CD4+T 細胞増殖試験、細胞障害性 CD8+T 細胞反応試験を行った。関節軟骨細胞の表面抗原をフローサイトメトリーで検討した。</p>			

【結果】変形性関節症から採取したヒト関節軟骨細胞は、同種ヒト末梢血単核球細胞の増殖を起こさず、アポトーシスは誘発しなかった。また、関節軟骨は、ポリクローナルに活性化された CD4+ T 細胞の増殖を細胞間接触を通して抑制し、同種 CD8+ T 細胞による細胞障害反応を惹起しなかった。フローサイトメトリで、軟骨細胞は、MHC class I 分子を発現しているが、CD4+ T 細胞の増殖に参与する MHC class II 分子と B7-1/2 分子の発現を認めなかった。

【結論】加齢および変性の環境下にある変形性関節症から採取した関節軟骨も、免疫寛容特性と免疫抑制能を維持していると考えられた。

論文提出者は、各審査委員からの当該論文に対する質問に的確に答え、また関連領域に関する知識も十分に有することが確認された。臨床応用をみすえた独創的な内容で、データ解析も十分なされていた。

以上より当審査委員会は、本論文が博士（医学）の学位に値するものと判断した。