

平成22年 3月31日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2010 年度

課題番号：19790896

研究課題名 (和文) 間葉系幹細胞を用いた再生軟骨の MRI による多角的組織組成評価

研究課題名 (英文) Evaluation of three-dimensional tissue engineered articular cartilage with a combination of quantitative MR imaging techniques

研究代表者

渡辺 淳也 (WATANABE ATSUYA)

帝京大学・医学部・准教授

研究者番号：40375712

研究代表者の専門分野：放射線科学、整形外科

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：1. 再生軟骨、2. 間葉系幹細胞、3. 三次元培養軟骨、4. 磁気共鳴撮像

### 1. 研究計画の概要

増殖能の高い間葉系幹細胞を用いた軟骨再生法は、変形性関節症の有効な軟骨治療法になると期待されている。間葉系幹細胞を用いた軟骨再生技術の確立には、間葉系幹細胞を効率的に軟骨細胞へと分化誘導し、さらに軟骨細胞を軟骨組織に成熟させることが重要な鍵となる。最近の MRI 撮像技術の進歩とともに、関節軟骨の基質構成高分子の詳細な情報を非侵襲的に評価可能な MRI 撮影法が開発され、基礎研究が行われている。本研究の目的はこれらの新しい MRI 撮影法である、dGEMRIC、T2 mapping、3D-SPGR MRI を用いて、再生軟骨の多角的組織組成評価を行う方法を確立すること、及び間葉系幹細胞を用いた再生軟骨の成熟過程での組織組成変化を MRI を用いて評価し、より良好な再生軟骨を得るための至適条件を明らかにすることである。

### 2. 研究の進捗状況

(1) 平成 19 年度は、①ウサギ末梢血より間葉系幹細胞を単離・培養し、これを用いた三次元培養軟骨作成の至適条件の検討、②in vitro における再生軟骨の MRI 撮像条件の設定と、その多角的組織組成評価法としての精度の検討、を行った。この結果、①では in vitro で均一で良好な三次元培養軟骨組織を得るための播種細胞数、軟骨厚、培養期間などの至適な条件が判明し、②では三次元培養軟骨の組織像、組織中のグリコサミノグリカン含有量、コラーゲン含有量などは dGEMRIC、T2 mapping、及び 3D-SPGR 法による MRI 評価と相関することがわかった。

(2) 平成 20 年度は前年度に得られた in

vitro での研究結果をもとに、ヌードマウス背部脂肪層内に移植した三次元培養軟骨の in vivo MRI 評価を行った。また再生軟骨の in vivo MRI 評価と、組織学的、生化学的評価との比較を行った。

この結果、in vitro で作成された三次元培養軟骨は、マウス生体内に移植することにより、組織のグリコサミノグリカン含有量、コラーゲン含有量はともに経時的に大きく上昇し、健常関節軟骨に近づくことが確認された。また摘出軟骨組織の組織学的、生化学的評価は in vivo MRI 評価と良く相関していた。

(3) 平成 21 度は前年度までに得られた研究結果をもとに、より精度の高い MRI 評価法の確立、より良好な再生軟骨を得るための至適条件の解明を行った。

dGEMRIC 及び T2mapping では、3D-SPGR 法による MRI 画像を参照画像として、半自動的に軟骨部分の抽出を行う解析システムを開発し、より再現性の高い客観的評価が可能となった。また本解析システムを用いて、生体内に移植した後、最終的に最も良好な再生軟骨が得られる三次元培養軟骨の至適な作成条件が判明した。

### 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)

本研究の目的である dGEMRIC、T2 mapping、3D-SPGR MRI を用いて、再生軟骨の多角的組織組成評価を行う方法の確立、及び間葉系幹細胞を用いた再生軟骨の成熟過程での組織組成変化を MRI を用いて評価し、より良好な再生軟骨を得るための至適条件を明らかに

すること、に関しては in vitro、in vivo ともに当初の計画より早い時期に達成できた。研究中に問題となったのは、ヌードマウスを用いた in vivo MRI 評価で、マウスの呼吸、心拍動、及び軟骨組織がコイルの中心から外れてしまうこと等が主因と考えられる評価精度の低下が確認されたことである。この問題に対しては、放射線医学総合研究所及び Harvard Medical School の両施設より技術提供、指導を受け、撮像シーケンス及びコイルの改良、最適化等を行うことで撮像精度の改善が可能であった。また本研究では、当初予定されていた以上の解析ソフトウェアの多機能化と測定精度の向上が達成できた。以上の点を踏まえ、研究の達成度を上記のように判断した。

#### 4. 今後の研究の推進方策

昨年度までに予定していた研究目的は順調に達成することができた。本年度は当初の計画通り、これまでに得られた研究成果の学会発表や論文発表などを行っていく予定である。現在本年度に開催される、国内、海外学会での発表や英語論文への投稿を予定している。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計4件)

- ① 渡辺淳也、dGEMRIC 及び T2 マッピングを用いた三次元培養軟骨組織の多角的組織組成評価、第 36 回 日本磁気共鳴医学会大会、2008 年 9 月 12 日、旭川
- ② 渡辺淳也、三次元培養軟骨の MRI による多角的組織組成評価、第 23 回 日本整形外科学会基礎学術集会、2008 年 10 月 23 日、京都
- ③ 渡辺淳也、Evaluation of three dimensional tissue engineered articular cartilage with a combination of quantitative MR imaging techniques、第 8 回 国際軟骨再生学会、平成 22 年 5 月 23 日、米国、マイアミ
- ④ 渡辺淳也、In vitro assessment of three dimensional tissue engineered articular cartilage with a combination of quantitative MR imaging techniques、2009 年度 国際関節症学会、平成 22 年 9 月 10 日、カナダ、モントリオール