





審査結果報告書

平成 26 年 1 月 16 日

主査	氏名	高桐 晶士	
副査	氏名	行野 有作	
副査	氏名	中山 明仁	
副査	氏名	成瀬 康治	

1. 申請者氏名 : 熊澤 憲一

2. 論文テーマ : Osteogenic Potential, Multipotency, and Cytogenetic Safety of Human Bone Tissue-Derived Mesenchymal Stromal Cells (hBT-MSCs) after long-term cryopreservation.
(長期凍結保存されたヒト骨組織由来間葉系細胞における多分化能・骨形成能と安全性)

3. 論文審査結果 : 唇顎口蓋患者の治療は顎裂部骨移植以前には口唇裂形成手術や口蓋形成手術を受けており、術野や隣接部位からの骨組織からの自家骨組織由来間葉系細胞を単離・長期凍結保存し、培養増殖させて移植骨に用いることが理想であり、患者負担軽減にもつながる。しかし、自己ヒト骨組織由来間葉系細胞 (hBT-MSCs) を臨床応用していくためには 10 年以上の凍結保存が必要である。本研究は 10 年以上凍結保存された hBT-MSCs を解凍、培養し、in vitro および in vivo で評価を行ったものである。in vitro では ALP 活性と Ca 産生能の評価を行った。ALP 活性は骨分化誘導群が非誘導群に比べ、いずれに時期にも優位に高かった。非誘導群は ALP 活性上昇があるも、Ca 産生能上昇は認めなかった。誘導群では Ca 産生能は上昇していた。この結果から、間葉系細胞の中には前骨芽細胞に類似する細胞が存在することが示された。また、骨分化誘導すると ALP 活性が上昇するため、保存細胞が前骨芽細胞に分化すると結論された。Ca 産生能は骨分化誘導群でのみ認められたことから、凍結保存細胞の中には分化した前骨芽細胞はあまりなく前骨芽細胞に類似した細胞が多いと考えられた。また、hBT-MSCs が未分化幹細胞が存在した。In vivo では骨分化誘導群と非誘導群とにわけヌードマウス内で骨組織産生を検討したところ、両方で骨組織産生を認めたが、前者で優位に旺盛な骨産生を認めた。このことは、凍結保存骨組織由来細胞には未分化な細胞と前骨芽細胞類似の細胞とが含まれていると結論した。これらの結果から、凍結保存細胞は 10 年経過しても、骨形成能、多分化能が維持されていると結論された。また、がん遺伝子検査からも異常なく安全性が確かめられた。本研究は骨移植を必要とする手術に今後大きな影響を与える可能性があるものとして、主査および副査の審査の結果、医学博士の学位を与えるのにふさわしいものと結論した。