

論 文 要 旨

論 文 題 目

Effect of irrigation solutions for arthroscopic surgery on intraarticular tissue: comparison in human meniscus-derived primary cell culture between lactate Ringer's solution and saline solution.

(関節鏡手術における関節内組織に対する関節灌流液の影響
—ヒト半月板由来初代培養細胞における乳酸化リンゲルと
生理食塩水との比較—)

氏 名 新城 宏隆



【目的】本邦では関節鏡手術において生理的食塩水が主に用いられているが、諸外国では、乳酸化リンゲル液が細胞外液の組成により近く生体組織に対してより非侵襲的であるとの考えから、臨床にて多く使用されている。そこで、乳酸化リンゲル液のヒト関節内組織に対する影響を、生理的食塩水を比較対照として検討した。

【材料および方法】ヒト関節内組織として、多断裂などにて半月板切除術を余儀なくされた半月板組織より分離培養したヒト初代培養半月板細胞を用いた。患者は術前に文書による承諾を得た7例（男4、女3）で平均年齢29.3歳（14～50歳）であった。切除半月板より0.4%コラゲナーゼ酵素消化にて細胞を分離し、10% Fetal Bovine serum 添加 Ham's F-12 Nutrient /D-MEM 培養液にて単層培養を行った。3日間培養後、培養液を1) 乳酸化リンゲル液、2) 生理的食塩水、3) 血清無添加 Ham's F-12 Nutrient /D-MEM 培養液のいずれかとした。3時間または6時間培養後に位相




差顕微鏡にて細胞形態を撮影し、その後細胞を回収した。写真を盲目化したのち3検者が細胞形態の異常、細胞膜の不整、細胞の萎縮度、細胞密度の4項目につき5段階に点数化し評価した。また回収した細胞より mRNA を抽出し、I型、II型コラーゲン、アグリカン mRNA 発現量を ABI Prism 7700 を用いたリアルタイム RT-PCR 法にて定量化し比較した。また、ストレス蛋白 (HSP 70) の mRNA 発現量についても comparative RT-PCR 法にて半定量化し比較した。

【結果】細胞形態は、生理的食塩水群にて3時間で細胞形態の異常、細胞膜の不整、接着細胞数の減少を呈し、6時間後でさらにその傾向が増強した。乳酸化リンゲル液では、細胞形態、細胞膜形態とも比較的保たれており、細胞密度の減少も軽度であった。細胞形態の評価点数は、すべての項目で生理的食塩水は、乳酸化リンゲル液、血清無添加培養液より有意に低かった ($p < 0.05$)。乳酸化リンゲルと血清無添加培養液との間には有意差を認

めなかった。細胞外マトリックス mRNA 発現量は、I 型、II 型コラーゲン、アグリカン mRNA とともに各群で有意差はなかった。また HSP70mRNA は、乳酸リングエル、生理的食塩水にて発現量が増加していたが、有意差は認めなかった。

【結論】関節内組織である半月板の培養細胞に対して、乳酸化リングエル液の方が生理的食塩水より細胞の形態的变化をもたらすことが少なかった。関節鏡手術における灌流液として、乳酸化リングエル液は軟骨や滑膜、半月板などのヒト関節内組織に対し、より生理的であると考えられる。

論文審査結果の要旨

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏名	新城 宏隆
		平成 14 年 5 月 28 日		
論文審査委員	主査教授		澤口 昌一	
	副査教授		小杉 忠誠	
	副査教授		西巻 正	

(論文題目)

Effect of irrigation solutions for arthroscopic surgery on intraarticular tissue: comparison in human meniscus-derived primary cell culture between lactate Ringer's solution and saline solution.

(論文審査結果の要旨)

上記論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義と学術的水準について慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。

1. 研究の背景と目的

本邦では関節鏡手術において生理的食塩水が主に用いられているが、諸外国では、乳酸化リンゲル液が細胞外液の組成により近く生体組織に対してより非侵襲的であるとの考えから、臨床にて多く使用されている。乳酸化リンゲル液は、生理的食塩水に比してより生理的組成をもち、眼内組織、血管内皮細胞、線維芽細胞に対して非侵襲的であるといわれている。しかしながら、関節軟骨に対しては実験動物を用いた研究結果からの評価は一定しておらず、ヒト関節内組織に対する影響は不明であった。本研究は、乳酸化リンゲル液のヒト関節内組織に対する影響を培養半月板細胞を用い、生理的食塩水と比較として検討することを目的として行われたものである。

2. 研究内容

ヒト関節内組織として、切除術にて得られた半月板組織より分離培養したヒト初代培養半月板細胞を用いた。単層培養した細胞の培養液を、乳酸化リンゲル液、生理的食塩水、血清無添加培養液のいずれかとし、3時間または6時間培養後に位相差顕微鏡にて細胞形態を観察し評価した。細胞の機能評価として、培養細胞よりmRNAを抽出し、I型、II型コラーゲン、

- 備考
- 1 要旨の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
 - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
 - 3 *印は記入しないこと。

アグリカンおよびストレス蛋白(HSP70)のmRNA発現量をRT-PCR法にて半定量化し比較した。細胞形態は、生理的食塩水群にて3時間で細胞形態の異常、細胞膜の不整、接着細胞数の減少を呈し、6時間後でさらにその傾向が増強した。乳酸化リンゲル液では、それらの変化が軽度であり、有意差を認めず。mRNA発現量は、I型、II型コラーゲン、アグリカンmRNAおよびHSP70mRNAともに各群で有意差はなかった。関節内組織である半月板の培養細胞に対して、乳酸化リンゲル液の方が生理的食塩水より細胞の形態的变化をもたらすことが少なかった。関節鏡手術における灌流液としての乳酸化リンゲル液は、軟骨や滑膜、半月板などのヒト関節内組織に対し、より生理的であり、侵襲が低い可能性をもつものである。

3. 研究成果の意義と学術的水準

本研究は、ヒト関節内組織を用いた研究であり、生理的食塩水と乳酸化リンゲル液の影響を比較した初めての報告であり、論文のオリジナリティーは高い。乳酸化リンゲル液の有用性が示唆されたことは、低侵襲手術である関節鏡手術において、手術侵襲をさらに低くさせることに展望が開ける結果であり、本研究は国際的に認められる高水準にあるものと判断される。

以上の結果から本論文は学位授与に十分値するものと判断した。