

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 再生医療の実現化ハイウェイ(再生医療実現拠点ネットワークプログラム)
(英語) Highway Program for Realization of Regenerative Medicine

研究開発課題名：(日本語) 滑膜幹細胞による膝半月板再生
(英語) Meniscus regeneration by mesenchymal stem cells derived from Synovium

研究開発担当者 (日本語) 東京医科歯科大学 再生医療研究センター 教授 関矢 一郎
所属 役職 氏名：(英語) Director and Professor
Center for Stem Cell and Regenerative Medicine,
Tokyo Medical and Dental University
SEKIYA Ichiro

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 半月板再生医療の産業化に向けた研究
開発課題名：(英語) Research towards industrialization of regeneration medicine for meniscus

研究開発分担者 1 (日本語) 東京医科歯科大学大学院 運動器外科学分野 教授 宗田 大
所属 役職 氏名：(英語) Professor,
Department of Joint Surgery and Sports Medicine, Graduate School of
Medical Science, Tokyo Medical and Dental University,
MUNETTA Takeshi

研究開発分担者 2 (日本語) 東京医科歯科大学大学院 発生発達病態学分野/医学部附属病院 細胞治療センター 教授 森尾友宏
所属 役職 氏名：(英語) Professor,
Center for Cell Therapy, Tokyo Medical and Dental University Medical
Hospital, Department of Pediatrics and Developmental Biology,
Graduate School of Medical

Science, Tokyo Medical and Dental University,
MORIO Tomohiro

研究開発分担者 3 (日本語) 東京医科歯科大学 再生医療研究センター 准教授 清水則夫
所属 役職 氏名 : (英語) Associate Professor,
Center for Stem Cell and Regenerative Medicine, Tokyo Medical and
Dental University,
SHIMIZU Norio

II. 成果の概要（総括研究報告）

日本語

研究代表者らは関節包の内面を覆う結合組織である滑膜に由来する間葉系幹細胞（滑膜幹細胞）が軟骨・半月板への分化能が高く、軟骨・半月板損傷の自然治癒過程に寄与することを明らかにするとともに、滑膜幹細胞を培養し、低侵襲な鏡視下手術で移植し、軟骨・半月板を再生する手法を開発してきた。本研究では臨床研究の実施と治験への進展、さらに再生医療の産業化推進によって、滑膜幹細胞を用いた膝半月板再生医療の実現化を目指す。これまでに基礎研究の成果に基づき、2つの臨床研究「半月板縫合後の滑膜幹細胞による治癒促進」および「逸脱を伴う半月板損傷を対象とした滑膜幹細胞による治癒促進」を実施した。平成28年度は、これらの臨床研究を治験に移行するための取り組みとして、研究開発項目を「半月板再生医療の産業化」に絞って、次の3つの課題を実施した。

1) 滑膜組織および滑膜幹細胞の染色体検査

半月板損傷を対象とした滑膜幹細胞移植症例の培養細胞に7番染色体が認められたことから、発生原因やその治療への影響を検証するために、移植実績のある臨床研究で生じたサンプルを用いた解析を行い、染色体異常が滑膜幹細胞に特徴的な現象でないことを証明した。

2) 滑膜組織および滑膜幹細胞の造腫瘍性検査

滑膜幹細胞の増殖が停止するまで継代を繰り返し、低頻度に認められる異常でも検出可能とする検査を実施し、継代を繰り返しても腫瘍化しないことを明らかにした。

3) 滑膜組織および滑膜幹細胞の微生物検査

治験計画届の品質管理項目として、必要最小限の項目を決定した。無菌試験の迅速診断法を検討し、開発を試みた。

英文

We have found that mesenchymal stem cells derived from the synovial tissue (synovial stem cells), which is a connective tissue covering the inner surface of the joint capsule, have a high ability to differentiate into cartilage / meniscus and promote natural healing process. We also have developed a method of culturing synovial stem cells and transplanting them by minimally invasive surgical operation. In this project, we aimed to realize knee meniscus regenerative medicine using synovial stem cells by conducting clinical researches, progressing to clinical trials approved by PMDA, and promoting industrialization of regenerative medicine. Based on the results of basic researches, we conducted two clinical studies "Promotion of healing by synovial stem cells after meniscal suture" and "Promotion of healing meniscal lesion with extrusions using by synovial stem cells". As an effort to shift these clinical studies to clinical trials, we focused on research and development projects to "industrialization of meniscal regeneration medicine" and carried out the following three tasks. First, chromosome examination of synovial tissue and synovial stem cells. It proved that chromosomal abnormality was not a specific phenomenon of synovial stem cells. Second, for tumorigenicity test of synovial tissue and synovial stem cells, long-term culture (CAL test) was performed until cell

proliferative capacity stopped, and we denied acquisition of tumorous proliferative capacity in synovial stem cells. Third, for microbial examination of synovial tissue and synovial stem cells, we established the minimum necessary items for the quality control of the clinical trial. We developed a rapid diagnostic method to detect bacteria.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌8件、国際誌8件）

1. Ozeki N, Muneta T, Koga H, Nakagawa Y, Mizuno M, Tsuji K, Mabuchi Y, Akazawa C, Kobayashi E, Matsumoto K, Futamura K, Saito T, Sekiya I. Not single but periodic injections of synovial mesenchymal stem cells maintain viable cells in knees and inhibit osteoarthritis progression in rats. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2016, 24(6):1061-70.
2. Udo M, Muneta T, Tsuji K, Ozeki N, Nakagawa Y, Ohara T, Saito R, Yanagisawa K, Koga H, Sekiya I. Monoiodoacetic acid induces arthritis and synovitis in rats in a dose- and time-dependent manner: proposed model-specific scoring systems. *Osteoarthritis Cartilage*. 2016, 24(7):1284-91
3. Yanagisawa K, Muneta T, Ozeki N, Nakagawa Y, Udo M, Saito R, Koga H, Tsuji K, Sekiya I. Weekly injections of Hylan G-F 20 delay cartilage degeneration in partial meniscectomized rat knees. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016, 17(1):188
4. Miyatake K, Muneta T, Ojima M, Yamada J, Matsukura Y, Abula K, Sekiya I, Tsuji K. Coordinate and synergistic effects of extensive treadmill exercise and ovariectomy on articular cartilage degeneration. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016, 17(1):238
5. Ohara T, Muneta T, Nakagawa Y, Matsukura Y, Ichinose S, Koga H, Tsuji K, Sekiya I. Hypoxia enhances proliferation through increase of colony formation rate with chondrogenic potential in primary synovial mesenchymal stem cells. *J Med Dent Sci*. 2016, 63(4):61-70
6. Katagiri K, Matsukura Y, Muneta T, Ozeki N, Mizuno M, Katano H, Sekiya I. Fibrous synovium releases higher numbers of mesenchymal stem cells than adipose synovium in a suspended synovium culture model. *Arthroscopy*. 2016, [Epub ahead of print]
7. Saito R, Muneta T, Ozeki N, Nakagawa Y, Udo M, Yanagisawa K, Tsuji K, Tomita M, Koga H, Sekiya I. Strenuous running exacerbates knee cartilage erosion induced by low amount of mono-iodoacetate in rats. *BMC Musculoskelet Disord*. 2017, 18(1):36
8. Matsumura E, Tsuji K, Komori K, Koga H, Sekiya I, Muneta T. Pretreatment of IL-1 β enhances proliferation and chondrogenic potential of synovium-derived mesenchymal stem cells. *Cytherapy*. 2017, 19(2):181-193
9. 関矢 一郎, 福井 尚志, 大森 豪, 中田 研. 早期変形性膝関節症をめぐる。 *Bone Joint Nerve*. 2016, 6(3):625-640
10. 中川 裕介, 宗田 大, 片野 尚子, 関矢 一郎. 変性半月板に対する縫合+細胞治療. *Bone Joint Nerve*. 2016, 6(3):595-601

11. 大関 信武, 宗田 大, 齋藤 知行, 関矢 一郎. 変形性膝関節症に対する幹細胞の関節内投与 ラットモデルでの解析. *Bone Joint Nerve*. 2016, 6(3):579-588
12. 水野 満, 関矢 一郎. 変形性膝関節症と染色体異常. *Bone Joint Nerve*, 2016, 6(3):503-509
13. 大関 信武, 宗田 大, 齋藤 知行, 関矢 一郎. 早期変形性膝関節症の概念. *Bone Joint Nerve*, 2016, 6(3):473-479
14. 関矢一郎. 再生医学による関節軟骨疾患治療の展望. *BIO Clinica*. 2016, 31(11):1150-1154
15. 堀江 雅史, 関矢 一郎. 関節軟骨損傷に対する滑膜幹細胞を用いた軟骨再生医療. *カレントセラピー*. 2016, 34(10):997-1002
16. 河野 佑二, 関矢 一郎. 滑膜幹細胞による半月板再生. *Keynote R・A*. 2016, 4(4):146-150

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 滑膜幹細胞による軟骨・半月板再生, 口頭, 関矢 一郎, 愛知県整形外科医会, 2016/4/9, 国内
2. Adult stem cell-based approaches (Intraarticular delivery, model systems vs humans) Overview, 口頭, Ichiro Sekiya, 3rd ICRS Summit, 2016.4/10, 国内
3. ヒト幹指針開始前・後から再生医療新法に至る整形外科領域の再生医療 その進捗と今後の展望 滑膜幹細胞による軟骨・半月板を対象とした再生医療, 口頭, 関矢 一郎, 古賀 英之, 堀江 雅史, 小田邊 浩二, 中村 智祐, 中川 裕介, 大関 信武, 片野 尚子, 水野 満, 大川 淳, 宗田 大, 第 89 回日本整形外科学会学術総会, 2016/5/14, 国内
4. 外科手術による機能回復・膝軟骨・半月板再生による変形性膝関節症の機能回復, 口頭, 関矢 一郎, 第 16 回日本抗加齢医学会総会, 2016/6/10, 国内
5. 変形性膝関節症の再生医療を目指して, 口頭, 関矢 一郎, 第 106 回有機デバイス研究会, 2016/7/22, 国内
6. 滑膜幹細胞を用いた膝関節再生, 口頭, 関矢 一郎, 古賀 英之, 堀江 雅史, 小田邊 浩二, 大関 信武, 中川 裕介, 中村 智祐, 渡邊 敏文, 片桐 健太, 河野 佑二, 宗田 大, 第 8 回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会, 2016/7/29, 国内
7. 外科手術と組み合わせた変形性膝関節症の再生医療, 口頭, 関矢 一郎, 運動器/骨・関節フォーラム, 2016/9/3, 国内
8. 膝の再生医療, 口頭, 関矢 一郎, 第 159 回日本獣医学会学術集会, 2016/9/8, 国内
9. Scientific update: the synovial joint milieu - implications for cartilage repair, 口頭, Ichiro Sekiya, 13th ICRS World Congress, 2016/9/24, 国外
10. 滑膜幹細胞による軟骨再生の臨床: その現状と課題, 口頭, 関矢 一郎, 古賀 英之, 大関 信武, 堀江 雅史, 小田邊 浩二, 中川 裕介, 片野 尚子, 水野 満, 小森 啓一郎, 大川 淳, 宗田 大, 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2016/10/14, 国内
11. 幹細胞移植と手術を組み合わせた変形性膝関節症の再生医療, 口頭, 関矢 一郎, 第 5 回日本 Knee Osteotomy フォーラム, 2016/10/15, 国内
12. 変形性膝関節症(軟骨・半月板)の再生医療, 口頭, 関矢 一郎, 埼玉トピック・リエゾンセミナー, 2016/10/20, 国内

13. 変形性膝関節症の再生医療を目指して, 口頭, 関矢 一郎, 第 47 回神奈川膝 21, 2016/10/27, 国内
14. 滑膜幹細胞による膝の軟骨・半月板の再生医療, 口頭, 関矢 一郎, 第 31 回日本臨床リウマチ学会, 2016/10/29, 国内
15. 変形性膝関節症の再生医療を目指して, 口頭, 関矢 一郎, 板橋区整形外科医会, 2016/11/9, 国内
16. 変形性膝関節症に対する再生医療を目指して, 口頭, 関矢 一郎, 北九州膝関節懇話会, 2016/11/18, 国内
17. 変形性膝関節症(軟骨・半月板)の再生医療, 口頭, 関矢 一郎, 大阪臨床整形外科医会, 2016/11/25, 国内
18. 変形性膝関節症(軟骨・半月板)の再生医療, 口頭, 関矢 一郎, 北大 Orthopaedic Research Seminar, 2016/11/28, 国内
19. 治療の現状と将来 滑膜幹細胞治療, 口頭, 関矢 一郎, 第 33 回膝関節フォーラム, 2016/12/03, 国内
20. Regenerative medicine for osteoarthritis of the knee by synovial stem cells: from bench to clinic, 口頭, 関矢 一郎, 熊本大学発生医学研究所ジョイントセミナー, 2017/2/24, 国内
21. 変形性膝関節症の再生医療を目指して, 口頭, 関矢 一郎, 片野 尚子, 大関 信武, 水野 満, 小森 啓一郎, 藤井 静花, , 小田邊 浩二, 堀江 雅史, 古賀 英之, 宗田 大, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/9, 国内
22. Preclinical and Clinical Studies of Meniscus Regeneration by Synovial Stem Cells, Ichiro Sekiya, Orthopaedic Research Society 2017 Annual Meeting, 2017/3/19, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 軟骨・半月板の再生治療、桜蔭高等学校の生徒による研究室訪問、2016/8/22 (台風接近により当日中止)

(4) 特許出願

該当なし