

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) 再生医療実用化研究事業  
(英語) Research Project for Practical Applications of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) 関節鏡視下自己骨髄間葉系幹細胞移植による関節軟骨欠損修復  
- 多施設共同、非盲検、ランダム化、並行比較試験 -  
(英語) Multi-central, non-blinded, randomized controlled study of articular cartilage repair with arthroscopic autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation

研究開発担当者 (日本語) 武庫川女子大学 健康スポーツ科学部 教授 脇谷滋之  
所属 役職 氏名： (英語) School of Health and Sports Sciences, Mukogawa Women's University,  
Professor, Shigeyuki Wakitani

実施期間： 平成25年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 手術患者フォロー：有害事象の有無確認・対応、データ収集  
開発課題名： (英語) follow up of the patients  
研究開発分担者 (日本語) 広島大学大学院医歯薬保健学研究院 整形外科 主任教授 安達伸生  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Orthopaedic Surgery, Hiroshima University Hospital  
Professor Nobuo Adachi

分担研究 (日本語) 手術患者フォロー：有害事象の有無確認・対応、データ収集  
開発課題名： (英語) follow up of the patients  
研究開発分担者 (日本語) 広島大学大学院医歯薬保健学研究院 学長 越智 光夫  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Orthopaedic Surgery, Hiroshima University Hospital  
President Professor Mitsuo Ochi

分担研究 (日本語) 手術患者フォロー：有害事象の有無確認・対応、データ収集  
開発課題名： (英語) follow up of the patients  
研究開発分担者 (日本語) 兵庫医科大学 整形外科 教授 吉矢晋一  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Orthopaedic Surgery, Hyogo Medical University Hospital  
Professor Sin-ichi Yoshiya

分担研究 (日本語) 手術患者フォロー：有害事象の有無確認・対応、データ収集  
開発課題名： (英語) follow up of the patients  
研究開発分担者 (日本語) 奈良県立医科大学 整形外科 助教 稲垣有佐  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Orthopaedic Surgery, Nara Medical University Hospital  
Assistant Professor Yusuke Inagaki

分担研究 (日本語) 手術患者フォロー：有害事象の有無確認・対応、データ収集  
開発課題名： (英語) follow up of the patients  
研究開発分担者 (日本語) 大阪市立大学大学院医学研究科 整形外科 講師 橋本祐介  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Orthopaedic Surgery, Osaka City University Hospital  
Associate Professor Yusuke Hashimoto

分担研究 (日本語) 手術患者フォロー：有害事象の有無確認・対応、データ収集  
開発課題名： (英語) follow up of the patients  
研究開発分担者 (日本語) 近畿大学医学部整形外科教室 整形外科 教授 赤木 将男  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Orthopaedic Surgery, Kinki University Hospital Assistant  
Professor Masao Akagi

分担研究 (日本語) MRI の解析、臨床データ解析  
開発課題名： (英語) Data Analysis  
研究開発分担者 (日本語) 新潟大学地域医療教育センター魚沼基幹病院 整形外科 医師 目良恒  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Orthopaedic Surgery, Niigata University Uonuma Kikan  
Hospital Orthopaedic Surgeon Hisashi Mera

分担研究 (日本語) データ管理  
開発課題名： (英語) Data management  
研究開発分担者 (日本語) 大阪大学医学部附属病院 未来医療センター 准教授 名井陽  
所属 役職 氏名： (英語) Medical Center for Translational Research, Osaka University Hospital  
Associate Professor Akira Myoi

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### 和文

関節軟骨損傷は疼痛や関節水腫をきたし、放置すると変形性膝関節症をきたすとされている。軟骨損傷に対する手術方法としては骨髄刺激法が行われてきた。これは軟骨下骨を破壊し出血させることで骨髄中の間葉系細胞を動員し修復を得る方法である。簡便な方法ではあるが、線維軟骨での修復しか得られず不十分である。近年は硝子軟骨による修復を目指して、自家骨軟骨柱移植法や自己培養軟骨細胞移植法が行われているが、正常軟骨組織を採取するため欠損が生じるという問題がある。

一方、体性幹細胞の1つである骨髄間葉系幹細胞(Bone marrow mesenchymal stem cells:以下 BMSC)は、採取が容易であること、細胞増殖後でも分化能を維持しているという利点がある。WakitaniらはBMSCが骨軟骨に分化することを応用し、家兎自己BMSC移植によって良好な関節軟骨欠損修復が得られることを報告した。BMSCは自己細胞を増殖できること、採取時に組織損傷を伴わないことから臨床応用が可能であり、ヒトにおいても自己BMSC移植による関節軟骨欠損修復臨床研究を行い、良好な臨床成績と安全性を報告している。

しかしながら、従来法では関節切開を要するため手術侵襲が大きいという欠点があった。我々はビーグル犬の実験系で標準治療法である骨髄刺激法後に自己BMSCの関節内注射で関節軟骨修復が、従来法のみ比べて有意に促進されることを報告した。これらの結果から、より手術侵襲を小さくするために、関節鏡視下手術で自己BMSCを関節内に注入する方法を計画した。

本研究の目的は、関節鏡視下に、骨髄刺激法と自己BMSC移植を併用した新たな関節軟骨修復法の長期(48週)の安全性と有効性を、標準的治療である骨髄刺激法単独と比較し、優れているかを明らかにすることである。多施設共同(広島大学、兵庫医科大学、奈良県立医科大学、近畿大学、大阪市立大学)、非盲検、無作為化、並行群デザインの早期探索試験である。本研究に対する十分な説明を行い、同意を得た患者を、関節鏡視下自己骨髄間葉系細胞移植を行う群(細胞移植群)と、標準治療群(control群)に無作為に分類し、手術を施行した。

術直後は両群とも同じリハビリを行った。術直後膝軟性装具を装着し安静とした。術翌日から装具を外し両松葉杖にて患肢を完全免荷とした。CPM訓練を開始し、退院、術後3週から1/3荷重、4週から1/2荷重、6週で全荷重とした。

対象症例は11例で、細胞移植群が7例、標準治療群が4例となった。平均軟骨欠損面積は3.6cm<sup>2</sup>(細胞移植群3.1cm<sup>2</sup>、骨髄移植群4.4cm<sup>2</sup>)であった。両群間に有意差はなかった。

臨床成績についてはIKDCスコアとKOOSを使用した。術前、術後6週・12週・24週・48週でそれぞれ計測を行った。術後24週でのKOOS-QOLについて、細胞移植群でcontrol群に比べ有意に高値であったが、その他については両群間で有意差は認めなかった。いずれの群も術前に比べスコアの上昇はみられたが、統計学的有意差は見られなかった。移植軟骨評価の指標であるMOCART値については術後6週以降のMRIで計測を行った。術後24週以降で細胞治療群がControl群に比べ有意に改善し、48週でも維持していた。各治療群における、術後6週との改善度は細胞治療群では24週、通常治療群では48週で有意に改善していた。また、各治療群間で、術後24週では項目1、術後48週では項目4において有意に差があった。

関節鏡視下に、骨髄刺激法と自己骨髄間葉系幹細胞移植を併用した新たな関節軟骨修復法は骨髄刺激法単独療法に比較して、48週経過において安全性に問題無く、有効性に関しては臨床成績においてはKOOSのQOLにおいて有意に良好であり、MRIでも有意に改善を認めた。自己骨髄間葉系幹細胞移植は関節軟骨欠損修復に有効な方法である。

Articular cartilage injuries cause pain and hydroarthrosis, and induce osteoarthritis for long time. A standard repair method is bone marrow stimulation technique. This penetrates subchondral bone, cause bleeding from bone marrow, which induces repair by bone marrow mesenchymal stem cells. Although this technique is a useful method, the repair tissue is mainly fibro-cartilage. To repair with hyaline cartilage, mosaic plasty or autologous chondrocyte transplantation are explored, but we have to collect normal articular cartilage in these techniques.

Bone marrow mesenchymal stem cell (BMSC) transplantation has some advantages, such as cell collection is easy and that these cell maintain capacity of differentiation even after cell proliferation. Wakitani et al. reported that autologous BMSC transplantation was effective in repairing rabbit articular cartilage defect. They use this technique in human and reported that this technique was effective.

Although this technique was effective, this had a disadvantage that surgical invasion was large. We reported that BMSC joint injection after bone marrow stimulation technique was effective when compared with bone marrow stimulation technique only in canine model. From these results, we planned arthroscopic autologous BMSC transplantation study to decrease surgical invasion.

The purpose of this study is to show the safety and effectiveness of arthroscopic autologous BMSC transplantation after bone marrow stimulation technique compared with arthroscopic bone marrow stimulation technique only. This study was a Multi-central (Hiroshima University, Hyogo Medical University, Nara Medical University, Kinki University, Osaka City University), non-blinded, randomized control study observed for 48 weeks after transplantation.

Cell transplanted group (7 patients) and control group (4 patients) were the patients. Means width of the defects was 3.6 cm<sup>2</sup>, which was not different between two groups.

48 weeks follow up study of arthroscopic autologous BMSC transplantation revealed that this procedure was safe and that BMSC transplantation with bone marrow stimulation was more effective than bone marrow transplantation alone in QOL score of Knee injury and osteoarthritis outcome score (KOOS) and MRI improvement. These results suggest that autologous BMSC transplantation is useful in repairing articular cartilage repair.

### 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2件、国際誌1件）

1. Effect of the direct injection of bone marrow mesenchymal stem cells in hyaluronic acid and bone marrow stimulation to treat chondral defects in the canine model. Yamasaki S, Hashimoto Y, Takigami J, Terai S, Mera S, Nakamura H, Wakitani S. Regenerative Therapy. 2015, 2, 42-8.
2. 関節軟骨損傷の治療 ―最新の知見―. 目良恒、糸数万紀、脇谷滋之. 関節外科（基礎と臨床）2015, 34, 76-8.
3. 高位頸骨骨切り術と培養細胞移植の併用. 目良恒、脇谷滋之. 関節外科（基礎と臨床）2016, 35, 73-7

#### (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 骨髄間葉系細胞を用いた関節軟骨再生治療の研究開発, 口頭, 目良恒、石橋宰、高木睦、脇谷滋之. 第7回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会、シンポジウム1 最先端の関節軟骨再生 平成27年6月18~20日、札幌（抄録集P114）、国内.
2. 骨髄間葉系幹細胞移植による関節軟骨欠損再生, 口頭, 脇谷滋之、越智光夫、吉矢晋一、田中康仁、橋本祐介、赤木将男. 第29回日本軟骨代謝学会、平成28年2月19日-20日、広島、国内.
3. 骨髄間葉系細胞移植による関節軟骨再生（シンポジウムSY-07 間葉系細胞を移用した再生医療（臨床の観点から））, 口頭, 目良恒、玉村禎宏、脇谷滋之. 第15回日本再生医療学会総会、平成28年3月17日-19日、大阪、国内.
4. 自己骨髄間葉系幹細胞移植による関節軟骨再生（シンポジウムSY-18 運動器の再生医療 -臨床応用への取り組み-）, 口頭, 脇谷滋之、橋本祐介、田中康仁、吉矢晋一、赤木将男、名井陽、越智光夫. 第15回日本再生医療学会総会、平成28年3月17日-19日、大阪、国内.
5. 骨髄間葉系細胞を用いた関節軟骨再生、口頭、目良恒、橋本祐介、稲垣有佐、石川正和、亀井直輔、朝田滋貴、柏薫里、吉矢晋一、脇谷滋之、越智光夫. 第16回日本再生医療学会総会 仙台、2017/3/9、国内.

#### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. Cartilage repair with culture expanded bone marrow mesenchymal stem cells. Wakitani S, Cartilage Injuries -Assessment, management & optimization of outcomes, Ossur Medical Office Congress 2015, Reykjavik, Iceland, 2015/5/28, 国外.
2. 関節軟骨の再生医療の現状, 脇谷滋之, 神戸医療産業都市クラスター交流会 甲南大学フロンティアサイエンス学部 (FIRST) /先端生命工学研究所 (FIBER) 産学連携サロン=Part9=、甲南大学ポートアイランドキャンパス7F レクチャーホール, 2015/6/12、国内.
3. 関節軟骨損傷修復の現状 ―どこまで治せるか―, 脇谷滋之, 第13回阪神リウマチ治療研究会. 二や小ホテルニューアルカイク、2015/10/1、国内.
4. 関節軟骨再生医療の現状と将来, 脇谷滋之, 第35回南河内整形外科カンファレンス. ホテルアゴーラリージェンシー堺. 2016/2/6、国内.

5. 関節軟骨再生医療の現状と将来、脇谷滋之、県北臨床整形外科位階学術講演会、乃木温泉ホテル、2016/2/16、国内。
6. あなたの膝は大丈夫？ —関節軟骨再生医療—、脇谷滋之、蒲郡市民講座「再生医療を知っていますか？」。蒲郡市民会館、2016/2/27、国内。
7. Regenerative medicine product development with iPS and MSC in the field of orthopedics. Wakitani S. 2016 Japan Korea Joint Forum for development of medical devices, COEX, Gangnam-gu, Seoul, Korea, April 14, 2016/4/14, 国外。
8. 関節鏡視下自己骨髄間葉系細胞移植による関節軟骨欠損修復、脇谷滋之。第2回未来医療 Networking Forum、大阪大学吹田キャンパス銀杏会館、2016/5/25、国内。
9. 軟骨再生の現状と将来、脇谷滋之、第122回 Medical Venture C 定例会、2016/9/10、国内。

(4) 特許出願

なし