

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 Application of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) 高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体を用いた  
骨軟骨組織再生の探索的臨床研究  
(英語) Clinical Research of 3D High Density Scaffold-free Cell Construct  
Derived from Adipose for Osteochondral Regeneration

研究開発担当者 (日本語) 大学院医学研究院 整形外科学分野 准教授 岡崎 賢  
所属 役職 氏名： (英語) Associate Professor, Department of Orthopaedic Surgery, Graduate School  
of Medical Sciences, Kyushu University

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### ・ 研究開発代表者による報告の場合

岡崎賢准教授 (九州大学大学院医学研究院整形外科学) を研究代表者とし、中山功一教授 (佐賀大学医学部) らを分担研究者とするグループは、九州大学において開発された独自の特許技術による、担体を用いずに間葉系幹細胞のみからなる立体構造体：高密度スキャフォールドフリー幹細胞構造体 (High Density Mesenchymal stem cell scaffold free Autologous Construct 以下、HDMAC) を用いて、膝関節骨軟骨損傷に対する関節軟骨と軟骨下骨の同時再生の第1相臨床研究を行った。これは、あらかじめ患者の腹部や臀部の脂肪組織を脂肪吸引の手法にて採取し、幹細胞を分離・培養することで HDMAC を作成し、骨軟骨損傷部に移植して再生をうながすものである。非生理的な担体を用いずに軟骨下骨まで達する十分な厚みを持った細胞構造体を作成できるため、安全性が高く、骨病変を有する症例にも対応可能である。本研究では、安全性と有効性を確認するための第1相臨床研究として、骨軟骨病変を有し、自家骨軟骨柱移植手術 (モザイクプラスチック) の適応がある患者に対して、採取した骨軟骨柱のドナーサイトの1つに HDMAC を移植し、安全性の確認と、非移植部と比較した組織修復の優位性を明らかにするものである。

平成28年度は前年度に移植した症例の術後6ヶ月までの安全性追跡調査と、術後1年までの有効性画像評価を行った。安全性は確認され、MRIとCTによる評価でコントロールと比較して良好な軟骨再生と軟骨下骨再生が確認された。

さらに2例の移植を行った。それぞれ移植術後4ヶ月と2ヶ月までの時点での安全性と有効性画像評価が行われた。すべての症例で再生医療に係る有害事象の発生はなく、安全性が確認された。組織再生も現時点まででコントロールと比較して良好な組織修復が得られる傾向が確認された。その結果、本法のPOCが得られると総括した。

Previously, Prof. Koichi Nakayama (Saga University) and Kyushu University had developed a novel technique, a scaffold-free autologous construct derived from mesenchymal stem cells, which is called “High Density Mesenchymal stem cell scaffold free Autologous Construct (HDMAC)”, and successfully used this technique to regenerate cartilage and subchondral bone to repair an osteochondral defect in rabbit and porcine knees. Both bone and cartilage were regenerated, maintaining a constant thickness of cartilage. The advantage of this method is that it enables to make three-dimensional construct with an enough thickness for cartilage and subchondral bone regeneration without using artificial scaffold tissues, which make the clinical application safer.

In this research project, Associate Prof. Ken Okazaki (Kyushu University), Prof. Nakayama and their research group conducted a phase I clinical trial of HDMAC for simultaneous bone and articular cartilage regeneration in patients with a focal cartilage defect to confirm its clinical safety and efficacy. The cartilage lesion was treated by autologous osteochondral transfer, and the HDMAC made from adipose tissue was transplanted into one of the donor sites of the osteochondral transfer.

The transplantation of HDMAC had been performed to three patients by the end of March 2017. Clinical safety was confirmed with their follow-up up to 6, 4 and 2 months after the transplantation, respectively. The efficacy of bone and cartilage regeneration was evaluated by MRI and CT. A better regeneration was confirmed in a case with one year follow-up, and the same tendency was observed in the rest of cases with shorter follow-up.

We conclude that the proof of concept of this method was obtained with this research project.

### 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 1 件、国際誌 2 件）

1. Moldovan N. I., Hibino N, Nakayama K. Principles of the 'Kenzan' method for robotic cell spheroid-based 3D bioprinting. Tissue Engineering Part A(Tissue Engineering Part B: Reviews) . 2016, Online ahead of editing.
2. Toratani T, Nakase J, Numata H, Oshima T, Takata Y, Nakayama K, Tsuchiya H. Scaffold-Free Tissue-Engineered Allogenic Adipose-Derived Stem Cells Promote Meniscus Healing.

Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery. 2017,33(2) : 346-354.

3. 荒井 健一, 中山 功一. バイオ 3D プリンタを用いた立体構造体の作製と将来的な展望. バイオ・医療への 3D プリンティング技術の開発最前線 . 2016, 2016 年 12 月 16 日号Ⅲ編 1 章, 117-125.

## (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Scaffold-free Bio-3D printing for solid organ fabrication., 口頭, Nakayama K, European Chapter Meeting of the Tissue Engineering and Regenerative International Society 2016 (TERMIS), 2016/6/28-7/1, 国外.
2. Osteochondral regeneration by implanting a scaffold-free construct of swine AT-MSCs using a bio 3D printer. , 口頭, Yamasaki A, Matsuzaki S, Murata D, Sunaga T, Tantan S, Kunitomi Y, Harada K, Nakayama K, Misumi K., ICRS 2016 - 13th World Congress, 2016/9/24-27, 国外.
3. Osteochondral regeneration of the loading-bearing site using a scaffold-free 3D construct of swine AT-MSCs., 口頭, Murata D, Tokunaga S, Akieda S, Nakayama K, Setoyama K, Fujiki M, Misumi K., ICRS 2016 - 13th World Congress, 2016/9/27-27, 国外.
4. Bio 3D printed solid cartilage from iPSC-derived chondrocyte., 口頭, Komoda H, Tanaka M, Nagaike M, Nagata S, Toguchida J, Nakayama K., ICRS 2016 - 13th World Congress, 2016/9/27-27, 国外.
5. Scaffold-free bio-3D printing for solid organ fabrication., 口頭, 2016 The 7th Annual Meeting of Asian Cellular Therapy Organization, 2016/11/11-13, 国外.
6. 骨折の治療から着想したあたらしい再生医療とバイオ 3D プリンタの開発について, 口頭, 中山 功一, 第 41 回高分子同友会総合講演会, 2016/4/14, 国内.
7. バイオ 3D プリンタの開発と組織・臓器作成の試み, 口頭, 中山 功一, 日本歯科理工学会 平成 28 年度春期第 67 回学術講演会, 2016/4/16, 国内.
8. スキャフォールドフリーバイオ 3D プリンタを用いた器官・臓器作製の試み, 口頭, 中山 功一, 第 55 回日本生体医工学会大会, 2016/4/26-28, 国内.
9. 臓器再生を目指したバイオ 3D プリンタの開発とその応用について, 口頭, 中山 功一, 第 59 回春季日本歯周病学会, 2016/5/20, 国内.
10. 臓器再生を目指したバイオ 3D プリンタの開発, 口頭, 中山 功一, 化学工学会 第 48 回秋季大会, 2016/9/6-8, 国内.
11. バイオ 3D プリンタを用いた臓器再生の試み, 口頭, 中山 功一, 第 52 回日本移植学会総会, 2016/9/29-10/1, 国内.
12. iPS 細胞由来軟骨細胞とバイオ 3D プリンタを用いた立体的軟骨構造体の作製, 口頭, 田中 麻衣, 薦田 洋, 永池 碧, 永田 早苗, 戸口田 淳也, 中山 功一, 第 31 回 日本整形外科学会基礎学術集会, 2016/10/13-14, 国内.
13. 骨折の治療から着想したバイオ 3D プリンタの開発とその応用について, 口頭, 中山 功一, 第 43 回福岡歯科大学学会総会・学術大会, 2016/12/18, 国内.
14. 再生医療実現に向けての課題と挑戦: アカデミアの技術を患者に届ける, 口頭, 中山 功一, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内.

15. ブタ脂肪組織由来間葉系幹細胞を用いてバイオ 3D プリンターで作製した立体構造体による骨軟骨再生, 口頭, 村田 大紀, 山崎 淳史, 松崎 翔大, 須永 隆文, 宋 丹丹, 國富 芳博, 原田 香織, 中山 功一, 三角 一浩, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内.
16. バイオ 3D プリンタによる iPS 細胞由来硝子軟骨の作製, 口頭, 薦田 洋, 田中 麻衣, 永池 碧, 永田 早苗, 戸口田 淳也, 中山 功一, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内.
17. スフェロイド形成ロボットを用いたスフェロイドの作製, 藤川 眞麗恵, 下戸 健, 秋枝 静香, 宮崎 雄大, 中山 功一, 石川 篤, 日垣 秀彦, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内.
18. バイオ 3D プリンターを用いた立体的 scaffold-free 細胞構造体による小児外科領域の再生医療研究, 柳 佑典, 中山 功一, 小林 英司, 絵野沢 伸, 田村 忠士, 張 秀英, 岩崎 昭憲, 田口 智章, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内.

### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 臓器再生を目指したバイオ 3D プリンタの開発について, 中山 功一, 奈良先端科学技術大学院大学, 2016/4/20, 国内.
2. 高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体, 中山 功一, 国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 平成 28 年度再生医療プログラム間連携のための情報交換会, 2016/5/30-31, 国内.
3. 骨折の治療から着想したバイオ 3D プリンタの開発とその応用について, 中山 功一, 佐賀県医療センター好生館ライフサイエンス研究所 再興記念シンポジウム, 2016/7/9, 国内.
4. バイオ 3D プリンタの開発と組織・臓器作成の試み, 中山 功一, イノベーション研究会 第 19 回セミナー「バイオ 3D プリンタの開発と組織・臓器作成の試み」, 2016/12/13, 国内.
5. 細胞だけでつくる立体構造体を用いた関節軟骨の再生医療について, 中山 功一, 三次元臓器造形研究会, 2017/1/27, 国内.
6. 細胞だけでつくる立体構造体を用いた関節軟骨の再生医療について, 中山 功一, 再生医療セミナー～再生医療の現状と将来～, 2017/2/14, 国内.

### (4) 特許出願

なし

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 Application of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) 高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体を用いた  
骨軟骨組織再生の探索的臨床研究  
(英語) Clinical Research of 3D High Density Scaffold-free Cell Construct  
Derived from Adipose for Osteochondral Regeneration

研究開発担当者 (日本語)

所属 役職 氏名： (英語)

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) 高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体を用いた  
骨軟骨組織再生の探索的臨床研究

開発課題名： (英語) Clinical Research of 3D High Density Scaffold-free Cell Construct  
Derived from Adipose for Osteochondral Regeneration

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人佐賀大学 医学部臓器再生医工学研究室 教授 中山 功一

所属 役職 氏名： (英語) Koichi Nakayama

Professor and Chairman, Department of Regenerative Medicine and  
Biomedical Engineering, Faculty of Medicine, Saga University,  
Saga City, Japan

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者： 国立大学法人 九州大学・大学院医学研究院 整形外科学分野・岡崎 賢 総  
括研究報告を参照。

### 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 1 件、国際誌 2 件)

1. Moldovan N. I., Hibino N, Nakayama K. Principles of the 'Kenzan' method for robotic cell spheroid-based 3D bioprinting. Tissue Engineering Part A(Tissue Engineering Part B: Reviews) . 2016, Online ahead of editing.
2. Toratani T, Nakase J, Numata H, Oshima T, Takata Y, Nakayama K, Tsuchiya H. Scaffold-Free Tissue-Engineered Allogenic Adipose-Derived Stem Cells Promote Meniscus Healing. Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery. 2017, 33(2) : 346-354.
3. 荒井 健一, 中山 功一. バイオ 3D プリンタを用いた立体構造体の作製と将来的な展望. バイオ・医療への 3D プリンティング技術の開発最前線 . 2016, 2016 年 12 月 16 日号 III 編 1 章, 117-125.

#### (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Scaffold-free Bio-3D printing for solid organ fabrication., 口頭, Nakayama K, European Chapter Meeting of the Tissue Engineering and Regenerative International Society 2016 (TERMIS), 2016/6/28-7/1, 国外.
2. Osteochondral regeneration by implanting a scaffold-free construct of swine AT-MSCs using a bio 3D printer. , 口頭, Yamasaki A, Matsuzaki S, Murata D, Sunaga T, Tantan S, Kunitomi Y, Harada K, Nakayama K, Misumi K., ICRS 2016 - 13th World Congress, 2016/9/24-27, 国外.
3. Osteochondral regeneration of the loading-bearing site using a scaffold-free 3D construct of swine AT-MSCs., 口頭, Murata D, Tokunaga S, Akieda S, Nakayama K, Setoyama K, Fujiki M, Misumi K., ICRS 2016 - 13th World Congress, 2016/9/27-27, 国外.
4. Bio 3D printed solid cartilage from iPSC-derived chondrocyte., 口頭, Komoda H, Tanaka M, Nagaïke M, Nagata S, Toguchida J, Nakayama K., ICRS 2016 - 13th World Congress, 2016/9/27-27, 国外.
5. Scaffold-free bio-3D printing for solid organ fabrication., 口頭, 2016 The 7th Annual Meeting of Asian Cellular Therapy Organization, 2016/11/11-13, 国外.
6. 骨折の治療から着想したあたらしい再生医療とバイオ 3D プリンタの開発について, 口頭, 中山 功一, 第 41 回高分子同友会総合講演会, 2016/4/14, 国内.
7. バイオ 3D プリンタの開発と組織・臓器作成の試み, 口頭, 中山 功一, 日本歯科理工学会 平成 28 年度春期第 67 回学術講演会, 2016/4/16, 国内.
8. スキャフォールドフリーバイオ 3D プリンタを用いた器官・臓器作製の試み, 口頭, 中山 功一, 第 55 回日本生体医工学会大会, 2016/4/26-28, 国内.
9. 臓器再生を目指したバイオ 3D プリンタの開発とその応用について, 口頭, 中山 功一, 第 59 回春季日本歯周病学会, 2016/5/20, 国内.
10. 臓器再生を目指したバイオ 3D プリンタの開発, 口頭, 中山 功一, 化学工学会 第 48 回秋季大会, 2016/9/6-8, 国内.
11. バイオ 3D プリンタを用いた臓器再生の試み, 口頭, 中山 功一, 第 52 回日本移植学会総会,

2016/9/29-10/1, 国内.

12. iPS 細胞由来軟骨細胞とバイオ 3D プリンタを用いた立体的軟骨構造体の作製, 口頭, 田中 麻衣, 薦田 洋, 永池 碧, 永田 早苗, 戸口田 淳也, 中山 功一, 第 31 回 日本整形外科学会基礎学術集会, 2016/10/13-14, 国内.
13. 骨折の治療から着想したバイオ 3D プリンタの開発とその応用について, 口頭, 中山 功一, 第 43 回福岡歯科大学学会総会・学術大会, 2016/12/18, 国内.
14. 再生医療実現に向けての課題と挑戦: アカデミアの技術を患者に届ける, 口頭, 中山 功一, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内.
15. ブタ脂肪組織由来間葉系幹細胞を用いてバイオ 3D プリンターで作製した立体構造体による骨軟骨再生, 口頭, 村田 大紀, 山崎 淳史, 松崎 翔大, 須永 隆文, 宋 丹丹, 國富 芳博, 原田 香織, 中山 功一, 三角 一浩, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内.
16. バイオ 3D プリンタによる iPS 細胞由来硝子軟骨の作製, 口頭, 薦田 洋, 田中 麻衣, 永池 碧, 永田 早苗, 戸口田 淳也, 中山 功一, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内.
17. スフェロイド形成ロボットを用いたスフェロイドの作製, 藤川 眞麗恵, 下戸 健, 秋枝 静香, 宮崎 雄大, 中山 功一, 石川 篤, 日垣 秀彦, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内.
18. バイオ 3D プリンターを用いた立体的 scaffold-free 細胞構造体による小児外科領域の再生医療研究, 柳 佑典, 中山 功一, 小林 英司, 絵野沢 伸, 田村 忠士, 張 秀英, 岩崎 昭憲, 田口 智章, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内.

### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 臓器再生を目指したバイオ 3D プリンタの開発について, 中山 功一, 奈良先端科学技術大学院大学, 2016/4/20, 国内.
2. 高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体, 中山 功一, 国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 平成 28 年度再生医療プログラム間連携のための情報交換会, 2016/5/30-31, 国内.
3. 骨折の治療から着想したバイオ 3D プリンタの開発とその応用について, 中山 功一, 佐賀県医療センター好生館ライフサイエンス研究所 再興記念シンポジウム, 2016/7/9, 国内.
4. バイオ 3D プリンタの開発と組織・臓器作成の試み, 中山 功一, イノベーション研究会 第 19 回セミナー「バイオ 3D プリンタの開発と組織・臓器作成の試み」, 2016/12/13, 国内.
5. 細胞だけでつくる立体構造体を用いた関節軟骨の再生医療について, 中山 功一, 三次元臓器造形研究会, 2017/1/27, 国内.
6. 細胞だけでつくる立体構造体を用いた関節軟骨の再生医療について, 中山 功一, 再生医療セミナー～再生医療の現状と将来～, 2017/2/14, 国内.

### (4) 特許出願

なし