

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09097

研究課題名(和文) 関節液由来間葉系幹細胞は滑膜由来幹細胞移植に代替するか

研究課題名(英文) Can synovial fluid-derived mesenchymal cells substitute for synovium-derived cells?

研究代表者

神野 哲也 (Jinno, Tetsuya)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・非常勤講師

研究者番号：90343152

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は関節液由来幹細胞の増殖能、多分化能検討(滑膜由来幹細胞との非劣性確認)をin vitro、in vivo双方で行うことである。

関節液由来の幹細胞はコロニー形成能、細胞増殖においては滑膜幹細胞よりも低下していたものの、同様の多分化能を有していることが分かった。さらに、ラット関節骨欠損モデルに対して、同数の細胞を移植すれば2群間には有意差がないこともわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

簡便に採取できる関節液由来の間葉系幹細胞が、従来の関節鏡で採取していた滑膜由来幹細胞と比較して軟骨再生においては非劣性であることが分かった。つまり、より患者さんに負担の少ない方法であっても、同等の治療効果が得られることがわかった。今回の結果は今後の再生医療の発展にもつながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to investigate the proliferative potential and pluripotency of synovial fluid-derived stem cells (confirmation of non-inferiority with synovium-derived stem cells), both in vitro and in vivo.

We found that synovial fluid-derived stem cells had the same pluripotency as synovium-derived stem cells, although they showed lower colony forming ability and cell proliferation compared with synovium-derived stem cells. Interestingly, there was no significant difference between the two groups when the same number of cells were transplanted to cartilage defect of rats.

研究分野：整形外科

キーワード：関節液由来間葉系幹細胞 滑膜由来間葉系幹細胞 再生医療

1. 研究開始当初の背景

関節軟骨の損傷やスポーツ外傷で多くみられる前十字靭帯損傷は長期経過で変形性関節症につながる事が知られている。軟骨の退行変性を主体とする変形性膝関節症を発症した場合、保存治療として運動療法、消炎鎮痛剤の内服による消炎鎮痛が主として行われている。しかしながらこれらはすべて対症療法であるため、関節軟骨の退行変性や疼痛の発症の原因を根本的に取り除くものとはなっていない。よって高齢化社会に直面している現代にあって変形性膝関節症を予防することは、我々整形外科に関わるものにとって急務である。近年間葉系幹細胞を用いた変形性関節症における再生医療の研究がされており、元来は無血行組織のため再生しにくいと考えられていた軟骨組織に対しての臨床治験も行われている。これまでは、関節内に滑膜由来間葉系幹細胞を移植する基礎研究での有効な成果をあげ、臨床治験まで行われている。一方、関節液の中にも少量ながら間葉系幹細胞が存在していることがわかっており、その遺伝子発現パターンが滑膜由来間葉系幹細胞に近く、滑膜から関節液内に間葉系幹細胞が誘導されていることも明らかになっている。このことから関節液内に含まれる間葉系幹細胞は滑膜から誘導され、修復に寄与していることが予想されたが、十分な数が損傷後に関節内に存在していないことが軟骨の自然修復ができない原因と考えられた。また、今まで同一患者から関節液、滑膜を双方採取してその違いを比較した報告は渉猟する限り見られない。関節液由来間葉系幹細胞(SF-MSC)の最大の特徴としては cell source としての採取し易さである。これまで滑膜由来間葉系幹細胞の有用性について多く報告があるが、容易に採取できる関節液由来間葉系幹細胞を再生移植の材料とするアイデアは海外を含めて報告されておらず、新しいものであった。

2. 研究の目的

本研究の目的は関節液由来幹細胞の増殖能、多分化能検討(滑膜由来幹細胞との非劣性確認)を in vitro、in vivo 双方で行うことである。背景で述べた通り、簡便に採取できる関節液由来の間葉系幹細胞が従来の滑膜由来幹細胞と比較して非劣性であれば、今後の再生医療の発展につながるかと考えた。

3. 研究の方法

(A) 関節液由来幹細胞の増殖能、多分化能検討(滑膜由来幹細胞との非劣性確認)

人工膝関節全置換術を施行した14例から手術中に廃棄される滑膜と関節液を用いて検討した。それぞれにおいて細胞の増殖能と多分化能(骨分化、脂肪分化、軟骨分化)に関して検討した。さらに、表面抗原の解析を行いその2群の特性を比較検討した。

(B) ラット軟骨欠損モデルに対して、関節液由来幹細胞と滑膜由来幹細胞を投与し、その軟骨再生能を検討

ラット軟骨欠損モデルを作成し、100万細胞のヒト関節液、滑膜双方由来の幹細胞を軟骨欠損部に投与してラット軟骨再生能を検討する。(コントロール群としてPBSを使用し、3群間で比較した。幹細胞は異種移植)

4. 研究成果

(A) 関節液由来幹細胞の増殖能、多分化能検討(滑膜由来幹細胞との非劣性確認)

関節液由来、滑膜由来双方においてコロニー形成能、多分化能を有する間葉系幹細胞が得られた。コロニー形成能、細胞増殖能は滑膜由来の幹細胞の方が優れていた。一方、間葉系幹細胞の分化能に関しては両群とも骨、脂肪、軟骨への分化が確認され、2群の多分化能には有意差はみられなかった。フローサイトメトリーによる細胞表面抗原解析では、細胞増殖に関わるCD140が関節液由来の幹細胞では優位に発現が少なく、上記の結果と矛盾しなかった。

(B) ラット軟骨欠損モデルに対する関節液と滑膜由来幹細胞投与における組織学的検討

ラット軟骨欠損モデルを作成し、100万細胞のヒト関節液、滑膜双方由来の幹細胞を軟骨欠損部に投与した。PBSコントロール群と比べ、滑膜、関節液由来の幹細胞を移植した群では優位に軟骨の再生が見られていた。一方、滑膜、関節液由来の幹細胞移植群では有意な差が見られず非劣性であることがわかった。

以上から、関節液由来の幹細胞はコロニー形成能、細胞増殖においては滑膜幹細胞よりも低下していたものの、同様の多分化能を有していることが分かった。さらに、同数の細胞を移植すれば2群間には有意差がないこともわかった。この結果から、滑膜と比べて容易に採取できる関節液由来の幹細胞が、従来用いられている滑膜由来幹細胞と同様に再生医療に応用できる可能性が明らかになった。

今回は100万細胞のみで検討を行ったが、今後、十分な治療効果が得られる細胞数を検討していく予定である。また、ラット滑膜炎モデル等、今回使用したモデルとは違った動物モデルでも検

討を重ねる予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takada Ryohei, Jinno Tetsuya, Miyatake Kazumasa, Hirao Masanobu, Yoshii Toshitaka, Kawabata Shigenori, Okawa Atsushi	4. 巻 10
2. 論文標題 Does surgical body position influence the risk for neurovascular injury in total hip arthroplasty? A magnetic resonance imaging study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research	6. 最初と最後の頁 102817 ~ 102817
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.otsr.2021.102817	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takada Ryohei, Jinno Tetsuya, Miyatake Kazumasa, Hirao Masanobu, Yoshii Toshitaka, Okawa Atsushi	4. 巻 31
2. 論文標題 Incidence of tensor fascia lata muscle atrophy after using the modified Watson-Jones anterolateral approach in total hip arthroplasty	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology	6. 最初と最後の頁 533 ~ 540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00590-020-02806-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ogawa Takahisa, Yoshii Toshitaka, Moriwaki Mutsuko, Morishita Shingo, Oh Yoto, Miyatake Kazumasa, Nazarian Ara, Shiba Koichiro, Okawa Atsushi, Fushimi Kiyohide, Fujiwara Takeo	4. 巻 9
2. 論文標題 Association between Hemiarthroplasty vs. Total Hip Arthroplasty and Major Surgical Complications among Patients with Femoral Neck Fracture	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 3203 ~ 3203
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm9103203	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Araya Naoko, Miyatake Kazumasa, Tsuji Kunikazu, Katagiri Hiroki, Nakagawa Yusuke, Hoshino Takashi, Onuma Hiroaki, An Saisei, Nishio Hirofumi, Saita Yoshitomo, Sekiya Ichiro, Koga Hideyuki	4. 巻 48
2. 論文標題 Intra-articular Injection of Pure Platelet-Rich Plasma Is the Most Effective Treatment for Joint Pain by Modulating Synovial Inflammation and Calcitonin Gene-Related Peptide Expression in a Rat Arthritis Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The American Journal of Sports Medicine	6. 最初と最後の頁 2004 ~ 2012
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0363546520924011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirao Masanobu, Miyatake Kazumasa, Koga Daisuke, Takada Ryohei, Koyano Gaku, Okawa Atsushi, Jinno Tetsuya	4. 巻 31
2. 論文標題 Comparison of 5-year postoperative results between standard-length stems and short stems in one-stage bilateral total hip arthroplasty: a randomized controlled trial	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology	6. 最初と最後の頁 743 ~ 753
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00590-020-02828-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Onuma Hiroaki, Tsuji Kunikazu, Hoshino Takashi, Inomata Kei, Udo Mio, Nakagawa Yusuke, Katagiri Hiroki, Miyatake Kazumasa, Watanabe Toshifumi, Sekiya Ichiro, Muneta Takeshi, Koga Hideyuki	4. 巻 38
2. 論文標題 Fibrotic changes in the infrapatellar fat pad induce new vessel formation and sensory nerve fiber endings that associate prolonged pain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Research	6. 最初と最後の頁 1296 ~ 1306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jor.24580	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Amemiya Masaki, Tsuji Kunikazu, Katagiri Hiroki, Miyatake Kazumasa, Nakagawa Yusuke, Sekiya Ichiro, Muneta Takeshi, Koga Hideyuki	4. 巻 523
2. 論文標題 Synovial fluid-derived mesenchymal cells have non-inferior chondrogenic potential and can be utilized for regenerative therapy as substitute for synovium-derived cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 465 ~ 472
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.12.068	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takada Ryohei, Jinno Tetsuya, Miyatake Kazumasa, Hirao Masanobu, Yoshii Toshitaka, Okawa Atsushi	4. 巻 30
2. 論文標題 Portable imageless navigation system and surgeon's estimate for accurate evaluation of acetabular cup orientation during total hip arthroplasty in supine position	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology	6. 最初と最後の頁 707 ~ 712
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00590-020-02625-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taniguchi Naofumi, Jinno Tetsuya, Koga Daisuke, Ochiai Satoshi, Okawa Atsushi, Haro Hirotaka	4. 巻 105
2. 論文標題 Comparative study of stem anteversion using a cementless tapered wedge stem in dysplastic hips between the posterolateral and anterolateral approaches	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research	6. 最初と最後の頁 1271 ~ 1276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.otsr.2019.08.006	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takada R, Jinno T, Miyatake K, Hirao M, Yoshii T, Okawa A.	4. 巻 Epub
2. 論文標題 Portable imageless navigation system and surgeon's estimate for accurate evaluation of acetabular cup orientation during total hip arthroplasty in supine position.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ikeda T, Matsunaga Y, Kanbara M5, Kamono A, Masuda T, Watanabe M, Nakanishi R, Jinno T,.	4. 巻 28
2. 論文標題 Effect of exercise therapy combined with branched-chain amino acid supplementation on muscle strength in elderly women after total hip arthroplasty: a randomized controlled trial.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Asia Pac J Clin Nutr.	6. 最初と最後の頁 720-26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takada Ryohei, Jinno Tetsuya, Miyatake Kazumasa, Hirao Masanobu, Kimura Akimasa, Koga Daisuke, Yagishita Kazuyoshi, Okawa Atsushi	4. 巻 23
2. 論文標題 Direct anterior versus anterolateral approach in one-stage supine total hip arthroplasty. Focused on nerve injury: A prospective, randomized, controlled trial	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science	6. 最初と最後の頁 783 ~ 787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jos.2018.05.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takada Ryohei, Jinno Tetsuya, Miyatake Kazumasa, Yamauchi Yuki, Koga Daisuke, Yagishita Kazuyoshi, Okawa Atsushi	4. 巻 28
2. 論文標題 Longitudinal morphological change of acetabular subchondral bone cyst after total hip arthroplasty in developmental dysplasia of the hip	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology	6. 最初と最後の頁 621 ~ 625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00590-017-2115-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takada Ryohei, Jinno Tetsuya, Miyatake Kazumasa, Hirao Masanobu, Kimura Akimasa, Koga Daisuke, Yagishita Kazuyoshi, Okawa Atsushi	4. 巻 23
2. 論文標題 Direct anterior versus anterolateral approach in one-stage supine total hip arthroplasty. Focused on nerve injury: A prospective, randomized, controlled trial	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science	6. 最初と最後の頁 783 ~ 787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jos.2018.05.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hoshino Takashi, Tsuji Kunikazu, Onuma Hiroaki, Udo Mio, Ueki Hiroko, Akiyama Masako, Abula Kahaer, Katagiri Hiroki, Miyatake Kazumasa, Watanabe Toshihumi, Sekiya Ichiro, Koga Hideyuki, Muneta Takeshi	4. 巻 19
2. 論文標題 Persistent synovial inflammation plays important roles in persistent pain development in the rat knee before cartilage degradation reaches the subchondral bone	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Musculoskeletal Disorders	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12891-018-2221-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takada Ryohei, Jinno Tetsuya, Miyatake Kazumasa, Yamauchi Yuki, Koga Daisuke, Yagishita Kazuyoshi, Okawa Atsushi	4. 巻 28
2. 論文標題 Longitudinal morphological change of acetabular subchondral bone cyst after total hip arthroplasty in developmental dysplasia of the hip	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology	6. 最初と最後の頁 621 ~ 625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00590-017-2115-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Masaki Amemiya, Kunikazu Tsuji, Ichiro Sekiya, Takeshi Muneta, Hideyuki Koga.
2. 発表標題 Evaluation of articular cartilage repair ability using synovial fluid derived mesenchymal stem cells.
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society 2018 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Etsuko Matsumura, Kunikazu Tsuji, Hideyuki Koga, Ichiro Sekiya, Takeshi Muneta.
2. 発表標題 IL1b enhances proliferation of synovial mesenchymal stem cells independent from its cell surface receptor, CD121a.
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society 2018 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Hoshino, Kunikazu Tsuji, Hiroaki Onuma, Ichiro Sekiya, Takeshi Muneta, Hideyuki Koga.
2. 発表標題 Evaluation Of Pain Behavioral And Joint Change Of Rat Arthritis Model Induced By Low And High Dose Monoiodoacetic Acid.
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society 2018 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kei Inomata, Kunikazu Tsuji, Ichiro Sekiya, Takeshi Muneta, Hideyuki Koga.
2. 発表標題 Inflammatory cell dynamics and pain behavior during acute inflammation in rat knee joint.
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society 2018 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroko Ueki, Hiroki Katagiri, Kunikazu Tsuji, Kazumasa Miyatake, Takashi Hoshino, Hiroaki Onuma, Masaki Ameniya, Ichiro Sekiya, Hideyuki Koga, Takeshi Muneta.
2. 発表標題 Intra-articular Injection of Synovial Mesenchymal Stem Cells in the Anterior Cruciate Ligament Transection Model in Rats :Evaluation of Cell-number Difference on Prevention of Cartilage Damage and Lower Limb Pain .
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society 2018 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroaki Onuma, Kunikazu Tsuji, Takashi Hoshino, Ichiro Sekiya, Takeshi Muneta, Hideyuki Koga.
2. 発表標題 Leg pain behavior correlates fibrosis and angiogenesis of the infrapatellar fat pad induced by monoiodoacetic acid.
3. 学会等名 OARSI 2018 World Congress on Osteoarthritis (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Miyoko Ojima, Kanehiro Hiyama, Kazumasa Miyatake, Hiroki Katagiri, Takeshi Muneta, Ichiro Sekiya, Hideyuki Koga, Kunikazu Tsuji.
2. 発表標題 Acute inflammatory response is prerequisite to initiate proper healing process during meniscal regeneration in mice.
3. 学会等名 OARSI 2018 World Congress on Osteoarthritis (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	宮武 和正 (Miyatake Kazumasa) (00777435)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教 (12602)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	辻 邦和 (Tsuji Kunikazu) (20323694)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・寄附講座准教授 (12602)	
研究分担者	古賀 英之 (Koga Hideyuki) (30594080)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授 (12602)	
研究分担者	片桐 洋樹 (Katagiri Hiroki) (50795028)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師 (12602)	
研究分担者	宗田 大 (Muneta Takeshi) (50190864)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師 (12602)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関