

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10432

研究課題名(和文) 肩腱板断裂の再生治癒を目的とした滑膜間葉系幹細胞移植

研究課題名(英文) Effect of synovial mesenchymal stem cells for the rotator cuff healing

研究代表者

望月 智之 (MOCHIZUKI, Tomoyuki)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：20436637

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)：肩腱板断裂の修復部に関節のふくろを裏打ちする組織から採取した細胞を投与することにより、治癒を早めることができるかの研究を行った。ラットを使用し、まず膝と肩のどちらから採取した細胞を比較し、膝からの細胞のほうがすぐれていることを証明した。ラットの両肩に腱板断裂を作成し、片側には膝からの細胞を投与した後に修復を行い、反対側の肩関節は何も投与せず修復のみを行った。修復後2週、4週、8週の時点で修復部位の評価を行うと、細胞を移植したほうがしっかりとした構造をつくっていた。また修復した部位を引っ張ってみると、修復後2週の時点では細胞を移植した方が強く固着されていた。

研究成果の概要(英文)：We performed a research making sure whether cells, harvested from membrane underling joint capsule, enhance rotator cuff healing. We used a rat model and firstly clarified that cells harvested from knee joint is superior to those from shoulder joint in proliferation potential. Secondly we made a rat model with rotator cuff tear on both shoulder and transplanted harvested cells torn site on one shoulder, and no cells on the other side. We evaluated them on 2, 4 and 8 weeks after transplantation. The shoulders with transplanted cells showed superior to those with no cells in terms of bone-tendon healing in 8 weeks, and biomechanically had a higher ultimate load to failure than those without cell transplantation in 2 weeks.

研究分野：再生医療、肩関節疾患

キーワード：再生医療 肩腱板断裂 滑膜幹細胞

1. 研究開始当初の背景

肩腱板断裂は60歳以上の40%に発症し、断裂が大きく機能低下の著しい症例に対して手術が施行される。再断裂を防ぐためには術後約5週の装具固定が必要とされ、可動域と筋力の回復に6ヶ月程度のリハビリ期間を要する。長期治療期間がネックとなり手術を躊躇される患者さんが多く存在する。腱板修復部の治癒を促進する再生技術を開発出来れば、患者さんの早期社会復帰に貢献することができる。我々はこれまで、膝関節領域において滑膜由来の間葉系幹細胞を局所投与することによって軟骨および半月板が再生することを報告し、現在は臨床応用を行っている。その技術を肩腱板断裂の早期治癒に応用することが可能であると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、肩関節より採取した滑膜由来の細胞が増殖能と多分化能を有することを立証し、動物の腱板断裂モデルに対して局所投与することにより腱板修復治癒が促進されるかを評価することである。

3. 研究の方法

ラットの肩関節と膝関節より滑膜組織を採取後(図1)有核細胞を分離し、増殖能と分化能(軟骨分化能、脂肪分化能、骨分化能)を比較した。

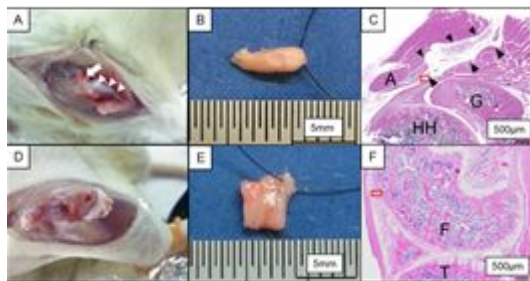


図1

ラットの肩関節に肩甲下筋腱断裂モデルを作成し(図2)片側に膝関節由来の滑膜幹細胞を移植(図3)反対側には細胞を移植せず、両側とも腱板修復を行ったのち、2週、4週、8週間後に組織標本作製して、腱骨移行部の修復状態、ならびに引張試験を行い、腱骨付着部の破断強度を測定した。

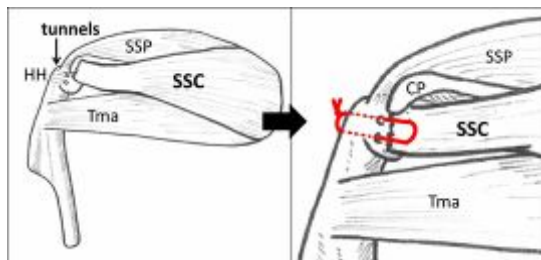


図2

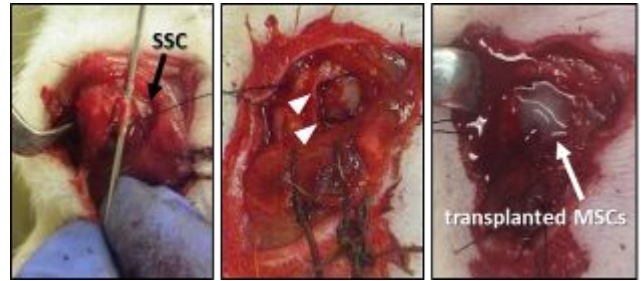


図3

4. 研究成果

滑膜組織から採取された有核細胞数は膝関節由来の滑膜組織のほうが肩関節由来のものよりも多かった(図4)。

肩関節由来の滑膜幹細胞は膝関節由来の滑膜幹細胞よりも1dishあたりのコロニー数が少なく(図5A-C)増殖能が劣っていた(図5D)。

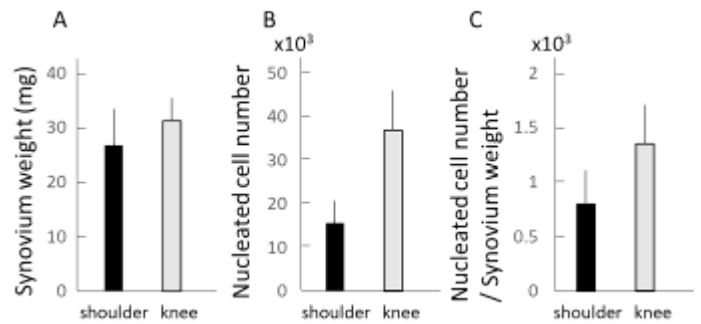


図4

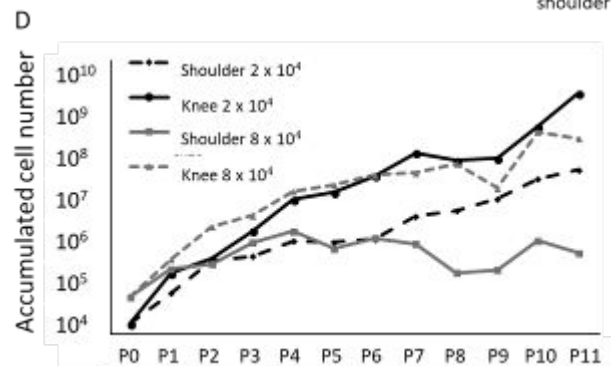
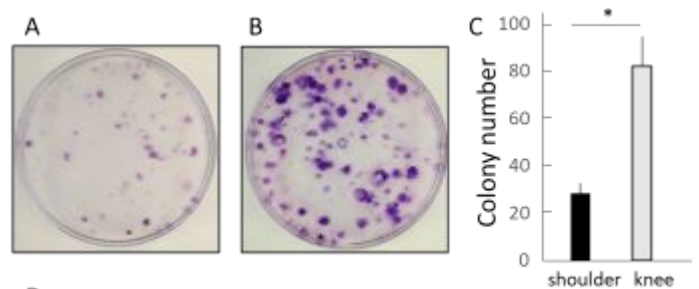


図5

軟骨分化能、脂肪分化能、骨分化能においては、肩関節由来と膝関節由来の滑膜幹細胞は同等の能力を有しており、どちらとも分化能に優れていた(図6)。

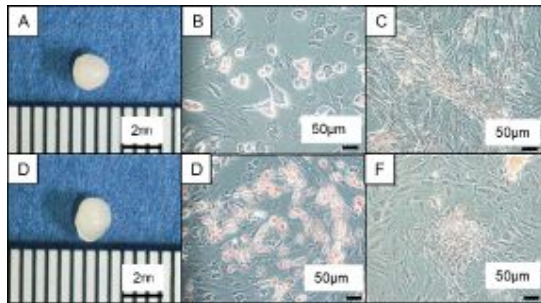


図6

腱板断裂部に膝関節由来の滑膜幹細胞を移植した群が、細胞を移植しない群よりも修復後8週において膠原線維が規則正しく配列していた(図7B)。有核細胞数は細胞を移植した肩のほうが、多く認められた(図7A)。すなわち細胞を移植した肩の方がより正常腱骨接合部に近い構造を呈していた(表1)。

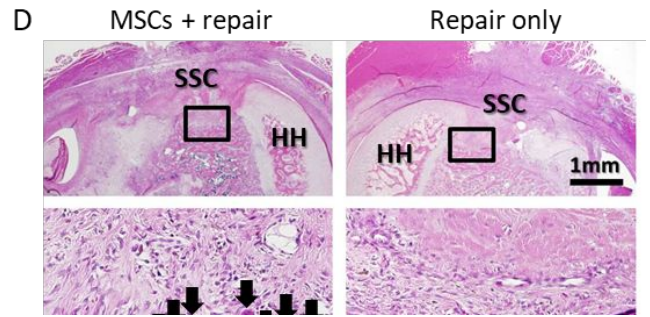
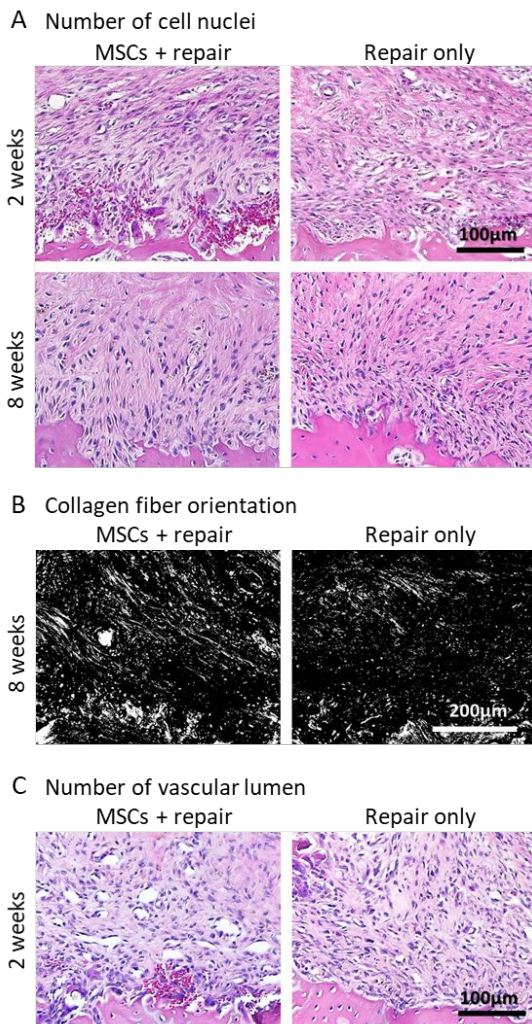


図7

Summary of the histologic evaluation

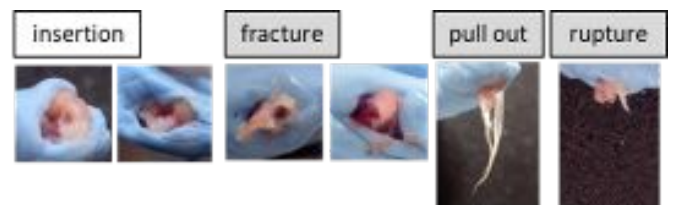
	Number of cell nuclei (10 ³ cells/mm ²)	Collagen fiber orientation (%)	Number of vascular lumen (#/LPF)
2 weeks			
MSC + repair	3.48 ± 0.29	12.5 ± 4.56	21.3 ± 4.50
Repair only	4.60 ± 0.25	6.24 ± 1.96	11.4 ± 4.35
p value	< 0.01	< 0.01	< 0.01
4 weeks			
MSC + repair	2.92 ± 0.18	16.3 ± 5.03	18.1 ± 5.83
Repair only	4.08 ± 0.36	7.62 ± 3.83	16.4 ± 6.53
p value	< 0.01	< 0.01	.582
8 weeks			
MSC + repair	2.29 ± 0.07	22.8 ± 5.65	15.3 ± 6.62
Repair only	3.57 ± 0.45	12.4 ± 5.73	16.1 ± 5.67
p value	< 0.01	< 0.01	.794
Intact	1.06 ± 0.14	65.4 ± 7.99	

vl; vascular lumen, LPF; low power field

* Significantly different between two groups. p < 0.05 by paired t test

表1

引っ張り強度試験(図8)においては、修復後2週において、膝関節由来の滑膜幹細胞を移植した群が、移植しない群に比べると引っ張り強度が高かった。また stiffness においても細胞を移植した群が高値をしめた。(表2) 修復後4週、8週においては細胞を移植した群と移植しない群の有意差はなかった。



B UT-Mazda

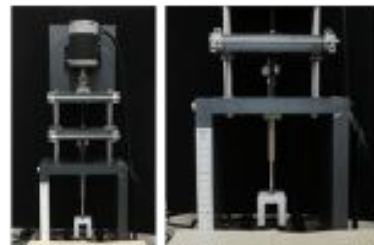


図8

Summary of the biomechanical testing

	Ultimate load to failure (N)	Stiffness (N/mm)
2 weeks		
MSC + repair	8.31 ± 3.72]*	3.46 ± 0.76]*
Repair only	3.06 ± 2.26]*	1.45 ± 1.39]*
p value	.044	.041
4 weeks		
MSC + repair	13.1 ± 3.48	3.86 ± 1.64
Repair only	12.4 ± 6.44	3.03 ± 2.04
p value	.762	.344
8 weeks		
MSC + repair	15.4 ± 7.67	6.59 ± 2.87
Repair only	18.2 ± 8.79	5.91 ± 1.80
p value	.553	.594
Intact	41.9 ± 12.9	13.9 ± 1.45

表 2

膝関節由来の滑膜幹細胞を移植すると、移植後 2 週の破断強度が増強し、移植後 8 週において修復部は正常腱骨付着部に近い構造を呈した。これらの結果より、滑膜由来間葉系幹細胞は腱板断裂の治療において腱板修復を促進する可能性があることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

大原俊之、日山鐘浩、大関信武、宗田大、望月智之、二村昭元、宮本 崇 ラット肩滑膜組織由来細胞の増殖能・多分化能の検討 肩雑誌 39 巻 (2015) 3 号 638 - 641(査読あり)

[学会発表](計 3 件)

Mari Uomizu, Tomoyuki Mochizuki, Toshiyuki Ohara, Junpei Matsuda, Nobutake Ozeki, Kunikazu Tsuji, Akimoto Nimura, Takashi Miyamoto, Masafumi Goto, Ichiro Sekiya, Takeshi Muneta Synovium-derived MSCs promote the restoration of tensile strength of the rotator cuff tendon after repair in a rat model Orthopaedic Research Society 2017 San Diego 2017.

魚水麻里、望月智之、辻 邦和、大関信武、大原敏之、松田純平、後藤昌史、関矢一郎、宗田大 滑膜由来間葉系幹細胞はラットの肩腱板修復を促進する 第 44 回日本肩関節学会 東京 2017.

魚水麻里、望月智之、辻 邦和、古賀英之、大関信武、大原敏之、松田純平、後藤昌史、関矢一郎、宗田大 第 31 回滑膜由来間葉系幹細胞はラットの肩腱板修復を促進する 第 32 回日本整形外科基礎学術集会 沖縄 2017.

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

望月 智之 (MOCHIZUKI, Tomoyuki)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師
研究者番号：20436637

(2) 研究分担者

関矢 一郎 (SEKIYA, Ichiro)
東京医科歯科大学・再生医療研究センター・教授
研究者番号：10345291

二村 昭元 (NIMIRA, Akimoto)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・運動器機能形態学講座・准教授
研究者番号 40622098

宗田 大 (MUNETTA, Takeshi)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師
研究者番号：50190864