

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月10日現在

機関番号：10101
研究種目：基盤研究（B）
研究期間：2010～2012
課題番号：22390285
研究課題名（和文） 高純度硬化性ゲルを用いた無細胞移植軟骨再生治療法の開発
研究課題名（英文） Development of an acellular cartilage tissue engineering technique using an ultra-purified in-situ forming gel
研究代表者
岩崎 倫政（IWASAKI NORIMASA）
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：30322803

研究成果の概要（和文）：Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) を高純度硬化性ゲルに添加し、ウサギ膝軟骨損傷部に移植することで良好な軟骨組織再生が獲得された。本研究成果より、軟骨損傷に対する無細胞移植治療の可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We succeeded in achieving hyaline-like cartilage repair by local administration of SDF-1 using an ultra-purified in-situ forming (UPIF) gel without cells. The obtained results indicate that UPIF gel enhances chondrogenesis of bone marrow stromal cells recruited by the chemotactic effect of SDF-1, leading to a novel cell-free approach for cartilage tissue engineering.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	9,100,000	2,730,000	11,830,000
2011年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2012年度	2,000,000	600,000	2,600,000
年度			
年度			
総計	15,100,000	4,530,000	19,630,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学・四肢機能再建学

キーワード：軟骨再生・SDF-1・無細胞治療・ウサギ・骨髄間葉幹細胞

1. 研究開始当初の背景

本申請者らは、SDF-1 を運動器組織損傷部に局所投与することで生体内の骨髄間葉系

幹細胞（以下、BMSCs）を損傷部に動員集積させ、組織修復を促進させることを証明してきた(Shimode K, Iwasaki N, et al., Tissue Eng

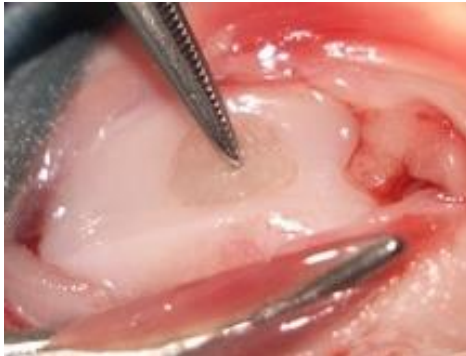
Part A, 2009)。これより、本申請者らは開発してきた高純度硬化性ゲルに SDF-1 を添加し、生体内に存在する細胞、特に BMSCs を病変部に効率的に集積させることが出来れば、細胞移植を行わずに、より良好な軟骨組織再生が得られるという着想に至った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、(1) 開発した硬化性ゲルに SDF-1 を添加したものをウサギ膝関節内軟骨欠損部に投与し、軟骨組織再生が促進されることを証明し、(2) 標識した自家 BMSCs を局所投与し、軟骨欠損部への遊走を追跡・評価することにより、本治療法による軟骨組織再生のメカニズムを明らかにすることである。最終的には無細胞移植軟骨再生治療法の開発をめざす。

3. 研究の方法

ウサギ膝関節に軟骨欠損 (径 5 mm) を作成し、欠損部における内因性 SDF-1 の発現を経時的に確認する。次に、無治療群、高純度硬化性ゲル移植群、SDF-1 添加高純度硬化性ゲル移植群 (下図) の 3 群で軟骨



組織再生の程度を定量評価 (肉眼所見、組織学的所見、力学的試験) し、それらと比較することにより、SDF-1 添加高純度硬化性ゲル移植による軟骨組織再生治療の有効性を証明する。その結果を踏まえて、蛍光量子ドット(Quantum Dots, Qdot®)で標識した自家 BMSCs を局所投与し、経時的に蛍光顕微鏡観察により再生組織内の標識した細胞の生着程度と分布を評価する。

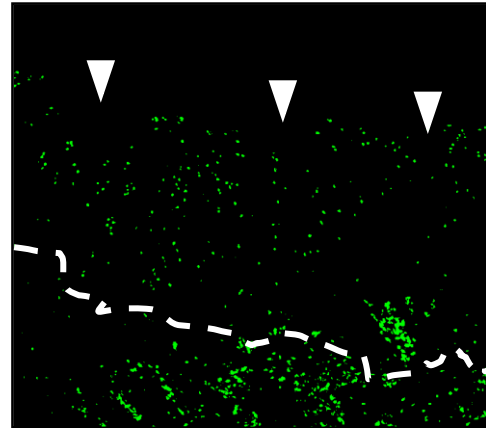
高純度硬化性ゲル移植直後。骨膜等の被覆なしに移植が可能。

4. 研究成果

軟骨損傷 1 週後に、損傷部に SDF-1 (内因性) が発現していることを確認した。この結果より、SDF-1 が軟骨損傷の自然治癒過程に深く関与していることが示唆された。

さらに、損傷直後に高純度硬化性ゲルを用いて SDF-1 を投与することで、損傷部に BMSCs が有意に遊走・集積することも明らかとなった。SDF-1 包埋高純度硬化性ゲル投与後 16 週の時点で、肉眼的、組織学的、力学的評価のいずれにおいても本治療群では無治療群に比べて有意に良好な結果が得られ、軟骨組織修復が促進されていることが明らかとなった。本研究結果より、SDF-1 投与により損傷部周囲の BMSCs を集積させることで、軟骨損傷に対する無細胞移植治療の可能性が示された。また、遊走・集積した BMSCs は軟骨細胞および骨芽細胞の両方に、周囲環境に応じて分化することが示唆された (下図)。

現在行われている軟骨再生治療法の最も大きな問題点は、手術侵襲の高さにある。これが、術後臨床成績低下の原因と考えられている。本研究成果を応用することで、低侵襲治療法としての関節鏡下無細胞移植軟骨再生治療が現実のものとなる可能性があり、さらなる臨床成績の向上と医療費削減につながるものと期待される。



白三角印：関節表面、破線：軟骨と軟骨下骨の境界。ドットが生着した標識細胞。

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 7 件)

(1) Sukegawa A, Iwasaki N, et al, Repair of rabbit osteochondral defects by an acellular technique with an ultrapurified alginate gel

containing stromal cell-derived factor-1、
Tissue Eng Part A、査読有、18、2012、934-945

(2) Igarashi T, Iwasaki N, et al, Repair of articular cartilage defects with a novel injectable in situ forming material in a canine model、J Biomed. Mater. Res A、査読有、100、2012、180-187

(3) Igarashi T, Iwasaki N, et al, Therapeutic effects of intra-articular ultra-purified low endotoxin alginate administration on experimental osteoarthritis in rabbits、Cartilage、査読有、3、2012、69-77

(4) Sukegawa A, Iwasaki N, Kawahara Y, Onodera T, Igarashi T, Minami A、Repair of rabbit osteochondral defects by an acellular technique with an ultrapurified alginate gel containing stromal cell-derived factor 1、Tissue Engineering Part A、査読有、18、2012、934-945

(5) Iwasaki N, et al, Transplantation of tissue-engineered cartilage for the treatment of osteochondritis dissecans in the elbow. -outcomes over a 4-year follow-up in 2 cases-, J Shoulder Elbow Surg、査読有、E pub.19, 2010 Sep. 16、e1-e6

(6) Igarashi T, Iwasaki N, et al, A Cellular Implantation System Using an Injectable Ultra-purified Alginate Gel for Repair of Osteochondral Defects in a Rabbit Model、J Biomed. Mater. Res. A、査読有、94、2010、844-855

(7) Iwasaki N, et al、Autologous osteochondral mosaicplasty for osteochondritis dissecans of the elbow in teenage athletes、J Bone Joint Surg、査読有、92 Suppl 1、2010、208-216

[学会発表] (計 8 件)

(1) 佃幸憲、岩崎倫政、高純度低エンドトキシナルゲン酸ゲルの犬変形性膝関節症モデルに対する治療、第 26 回日本軟骨代謝学会、2013. 3. 1-2、千里ライフサイエンスセ

ンター (大阪府)

(2) 岩崎倫政、臨床応用を目指した低侵襲軟骨再生治療法の開発、第 40 回日本関節病学会 (招待講演)、2012. 11. 8-9、鹿児島サンロイヤルホテル (鹿児島県)

(3) Sukegawa A, Iwasaki N, Kawahara Y, Onodera T, Igarashi T, Minami A、Repair of rabbit osteochondral defects by an acellular technique with an ultrapurified alginate gel containing stromal cell-derived factor-1、2012 Annual Meeting of Orthopaedic Research Society、February 4-7, 2012、Moscone West Convention Center USA

(4) Tsukuda T, Iwasaki N, et al, Analgesic effect of intra-articular administrations of ultra-purified alginate on arthritis in rats、2011 Annual Meeting of Orthopaedic Research Society、Jan 13-16, 2011、Long Beach Convention Center、USA

(5) Iwasaki N、A cellular implantation system using a novel injectable material for cartilage tissue engineering、BIT' S 3rd Annual Congress of Regenerative Medicine & Stem Cell、Dec 5-7, 2010、Everbright Convention & Exhibition Center、Shanghai, China

(6) 佃幸憲、岩崎倫政、他、高純度アルゲン酸ゲルのラット関節炎モデルに対する関節内投与による疼痛抑制効果、第 25 回日整会基礎、2010. 10. 14, 15、国立京都国際会館京都

(7) Igarashi T, Iwasaki N, et al, Therapeutic effects of intra-articular administration of ultra-purified low endotoxin alginate on the progression of experimental osteoarthritis in rabbits、2010 World Congress on Osteoarthritis、Sept 23-26, 2010、Square-Brussels Meeting Centre、Brussels, Belgium

(8) 岩崎倫政、新素材を用いた軟骨欠損治療の探求—低侵襲軟骨再生治療法の開発—、

第 83 回日本整形外科学会学術総会、
2010. 5. 27-30、東京国際フォーラム、東京

〔図書〕(計 1 件)

小野寺智洋、岩崎倫政、関節疾患に対する新規注射用治療製材、化学工業、2012、5 ページ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩崎 倫政 (IWASAKI NORIMASA)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：30322803

(2) ①研究分担者

笠原 靖彦 (KASAHARA YASUHIKO)
北海道大学病院・整形外科・助教
研究者番号：00581927

(2) ②研究分担者

船越 忠直 (HUNAKOSHI TADANAO)
北海道大学病院・整形外科・講師
研究者番号：10528334

(3) 連携研究者

()

研究者番号：