

201306001B(1/2)

厚生労働科学研究費補助金
再生医療実用化研究事業

幹細胞による次世代の低侵襲軟骨再生治療の
開発と臨床応用

平成23年度～25年度 総合研究報告書

1 / 2

研究代表者 関 矢 一 郎

平成26(2014)年 3月

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

幹細胞による次世代の低侵襲軟骨再生治療の

開発と臨床応用

平成23年度～25年度 総合研究報告書

1 / 2

研究代表者 関矢 一郎

平成26 (2014) 年 3月

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

幹細胞による次世代の低侵襲軟骨再生治療の開発と臨床応用

区分	氏名	所属	職名
研究代表者	関矢 一郎	東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科軟骨再生学 (平成23年4月～24年3月末) 再生医療研究センター (平成25年4月～)	教授 (センター長)
研究分担者	宗田 大	東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科運動器外科学	教授
	森尾 友宏	東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科発生発達病態学	准教授
	清水 則夫	東京医科歯科大学難治疾患研究所 ウイルス治療学	准教授
	赤澤 智宏	東京医科歯科大学大学院 保健衛生学研究科分子生命情報解析学	教授
	浅原 弘嗣	国立成育医療研究センター研究所 システム発生・再生医学研究部 (平成23年4月～5月末) 東京医科歯科大学大学院 システム発生・再生医学研究分野 (平成23年6月～)	部長 教授

齋藤 知行	横浜市立大学大学院医学研究科 運動器病態学(整形外科)	教授
中村 憲正	大阪保健医療大学保健医療学部	教授
赤木 將男	近畿大学保健医療学部整形外科学	教授

目次

I. 総合研究報告	
幹細胞による次世代の低侵襲軟骨再生治療の開発と臨床応用	7
研究代表者 関矢 一郎	
(東京医科歯科大学再生医療研究センター 教授)	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	39
III. 研究成果の刊行物・別刷	57

I . 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）

（総合）研究報告書

「幹細胞による次世代の低侵襲軟骨再生治療の開発と臨床応用」

研究代表者

関矢一郎 東京医科歯科大学・再生医療研究センター 教授

研究要旨

本学では膝関節の軟骨欠損に対して、滑膜由来間葉系幹細胞を細胞治療センターに於いて自己血清を用いて培養し、浮遊液の状態です軟骨欠損部に 10 分間静置することにより、細胞を接着させる再生医療をこれまで実施している。より操作性が高く、細胞接着の効率を改善するため、hanging drop 法を用いて滑膜間葉系幹細胞から多数の集合体を作成し、表面張力を用いて軟骨欠損部に接着させる方法を検討した。また、細胞治療の安全性を評価する方法を確立し、iPS 細胞による軟骨再生医療の開発も目指した。

滑膜間葉系幹細胞を集合体にするにより、軟骨分化能が増し、軟骨欠損部への移植操作が容易となり、軟骨再生を促進させた。培養滑膜由来間葉系幹細胞では DNA 損傷は軽微で、前腫瘍段階となる状態も生化学的、病理学的に検出されないことが明らかになった。ウイルス・マイコプラズマの迅速検査系と自動化の開発を行ない、滑膜間葉系幹細胞で検証した。iPS 細胞を hanging drop 法で集合体として、in vitro 培養を行い、Nanog や COL2 等の遺伝子発現を検討する事で、軟骨再生に適した iPS 細胞のスクリーニングが可能となった。

これらの研究成果をもとに、有効で効率よく安全な軟骨再生医療の臨床応用を目指す。

研究分担者氏名・所属研究機関名及

び所属研究機関における職名

宗田 大
東京医科歯科大学大学院
医歯学総合研究科運動器外科学
教授

森尾 友宏
東京医科歯科大学大学院
医歯学総合研究科発生発達病態学
准教授

清水 則夫
東京医科歯科大学難治疾患研究所
ウイルス治療学
准教授

赤澤 智宏
東京医科歯科大学大学院
保健衛生学研究科分子生命情報解析学
教授

浅原 弘嗣
国立成育医療研究センター研究所
システム発生・再生医学研究部
(平成23年4月～5月末)
部長
東京医科歯科大学大学院
システム発生・再生医学研究分野
(平成23年6月～)
教授

齋藤 知行
横浜市立運動器病態学(整形外科)
大学大学院医学研究科
教授

中村 憲正
大阪保健医療大学保健医療学部
教授

赤木 将男
近畿大学保健医療学部整形外科学
教授

A. 研究目的

本学では膝関節の軟骨欠損に対して、滑膜由来間葉系幹細胞を細胞治療センターに於いて自己血清を用いて培養し、浮遊液の状態です軟骨欠損部に 10 分間静置することにより、細胞を接着させる再生医療をこれまで実施した。より操作性が高く、細胞接着の効率を改善するため、hanging drop 法を用いて滑膜間幹細胞から多数の集合体を作成し、表面張力を用いて軟骨欠損部に接着させる方法を検討する。また、細胞治療の安全性を評価する方法を確立し、iPS 細胞による軟骨再生医療の開発も目指した。

(1) 滑膜間葉系幹細胞集合体移植

滑膜間葉系幹細胞はその高い軟骨分化能により軟骨再生における有用な細胞源として期待される。臨床応用に向けて、限られた細胞数で、より効率よく移植、再生するためには、移植操作、細胞の軟骨分化能、などを改善することが必要である。間葉系幹細胞を 3 次元培養し集合体とすることがひとつの解決策として考えられる。ヒトへの臨床応用に向け、①ヒト滑膜間葉系幹細胞集合体の特性解析②ウサギ関節軟骨欠損部への滑膜間葉系幹細胞集合体移植実験③ピッグ関節軟骨欠損部への滑膜間葉系幹細胞集合体移植実験を行なった。

(2) 変異細胞評価

膝関節の軟骨欠損に対して用いる滑膜由来間葉系幹細胞の品質管理・品質保証系を確立することを目的とし、特に変異細胞の検出、変異を誘導する培養系の識別を目的として研究を行った。腫瘍化における代替指標の高感度検出系、DNA 損傷程度の推測系、大動物モデルでの病理学的解析系を立ち上げることにより、低侵襲軟骨再生の品質評価を行うことを具体的な目的とした。

(3) 感染症検査

滑膜間葉系幹細胞による低侵襲軟骨再生治療の安全性を確保するため、細胞培養工程に混入する可能性があるウイルス・マイコプラズマの迅速検査系の開発と検査系の自動化および滑膜間葉系幹細胞検査結果の蓄積を目的に研究を行った。

(4) iPS 細胞の軟骨分化

体性幹細胞を用いた軟骨再生治療の効果安全性を対比検証する手段として、iPS 細胞を用いた次世代の軟骨再生治療の可能性を検討した。軟骨再生に適した iPS 細胞株のスクリーニング法を開発し、予め分化抵抗性細胞の残存が少ない iPS 細胞株を簡便に選定し、軟骨欠損部位に移植することにより、腫瘍化の可能性が低い軟骨再生治療を開発することを目的とした。

B. 研究方法

(1) 滑膜間葉系幹細胞集合体移植

ヒト、ウサギ、ピッグの滑膜から間葉系幹細胞を採取した。2.5x10⁵ 細胞を 35μl の PBS に浮遊させ、hanging drop 法で、3 日間培養し、集合体を作成した。

①ヒト滑膜間葉幹細胞を集合体とする前後で遺伝子プロファイルを比較した。また *in vitro* で軟骨分化能を比較した。②ウサギの膝に軟骨欠損を作成し、自己滑膜間葉幹細胞集合体を、それぞれ、5、10、20、40、80 個移植し 4、12 週後に評価した。③マイクロミニピッグの膝蓋大腿関節の大腿骨側と、大腿骨内顆にそれぞれ 6x6x1.5mm の軟骨欠損を作成し、自己滑膜間葉系幹細胞集合体を、それぞれ、16 個ずつ移植し、評価した。

(倫理面への配慮)

本研究は、東京医科歯科大学倫理委員会及び動物実験委員会の承認を得て実施した。

(2) 変異細胞評価

培養した滑膜由来間葉系幹細胞を用いて以下の検討を行った。

1) DNA 損傷反応の検討

DNA 損傷応答は DNA 切断に伴って生じる反応を ATM や p53 分子のリン酸化を指標として、それぞれのリン酸化特異的抗

体を用いて、組織染色を行った。

2) Mutator induction の検討

過剰な増殖刺激などでおきる activation induced deaminase (AID) をリアルタイム PCR で検証した。Positive control としては EBV で刺激し増殖させたリンパ芽球様細胞を用いた。

3) p16 メチル化の検討

Bisulfite 処理後のリアルタイム PCR 系を用いて、p16 メチル化の定量を行った。

4) 大動物移植モデルにおける病理学的検証

HE 染色により病理学的な異常を検証した。

(倫理面への配慮)

本研究は、再生医療用の組織を用いて検討を行うものであり、解析にあたっては最小限のサンプル量で行えるように留意し、十分な説明と同意のもとで実施した。また「再生医療・細胞医療製剤に汎用可能な新規微量高感度品質管理・検証システムの開発と製剤の規格化に関する研究」として倫理審査委員会の承認を得て実施した。

(3) 感染症検査

検査項目：HSV1, 2, CMV, VZV, EBV, HHV6, 7, 8, BKV, JCV, HBV, PVB19, HIV1, 2, HTLV1, 2, HCV, マイコプラズマ

検査方法：マルチプレックス PCR 法によ

る網羅的検査（リアルタイム PCR 機を使用）

サンプル：滑膜組織、骨髄、末梢血、骨組織、hunging drop 法により滑膜から得た細胞を培養した滑膜間葉系幹細胞集合体（培養 14 日目）

自動化：QIAGEN 社の QIA-Symphony を用いて検査系の自動化を目指した。

(倫理面への配慮)

検体の採取に当たっては、東京医科歯科大学医学部および難治疾患研究所の倫理委員会の許可を得たうえで、提供者のインフォームドコンセントを取得し、検体を採取した。採取された検体は、匿名化した上でウイルス治療学に引き渡され、患者の個人情報と解析結果との連結が不可能なように配慮した。

(4) iPS 細胞の軟骨分化

マウス iPS 細胞 A 株 (MEF 由来 Nanog GFP/SOX10 DsRed-iPS 細胞)、B 株 (MEF 由来 Nanog GFP-iPS 細胞)、C 株 (MEF 由来 Oct GFP-iPS 細胞) の 3 株の iPS 細胞を用いて、ペレット培養法、Hanging drop 法による軟骨分化を検討した。これらの iPS 細胞は分化誘導と共に蛍光蛋白の発現が誘導され、分化誘導のスクリーニング、分化抵抗性株の検出に有効である。

C. 研究結果

(1) 滑膜間葉系幹細胞集合体移植

①滑膜間葉系幹細胞を集合体にする、BMP2、SOX5, 6, 9 などの軟骨分化関連遺伝子や、TSG6、STC1 などの抗炎症遺伝子の発現が上昇した。②集合体は、容易にウサギ軟骨欠損部へ接着し、移植翌日にすべてが軟骨欠損部に残存したことを確認した。比較的低密度である 10 個の集合体を移植した群で、移植 4・12 週後に最も良好な軟骨の再生が得られた。③滑膜間葉系幹細胞集合体は、容易にビッグ膝の軟骨欠損部へ接着させることが可能で、移植 4 週後に良好な軟骨の再生が得られた。GFP 陽性細胞の集合体は、4 週後に再生軟骨部に生着しているのを確認した。

(2) 変異細胞評価

滑膜由来間葉系幹細胞においては ATM や p53 といった分子のリン酸化は極めて軽微であることが明らかになった。さらに別の指標として AID の誘導をリアルタイム PCR で測定する系を立ち上げ、検証した。22 検体にて検証したところ、1 検体で定量感度以下の弱陽性となったが、それ以外のサンプルでは陰性であることが明らかになった。

腫瘍化の代替指標として、メチル化 p16 を定量した。本手法は改良を重ねることにより 10,000 個に 1 個のメチル化を捕まえることが可能になった。22 検体で解析した結果すべてで陰性であることが明らかになった。

また 2 年目からは大動物移植モデルを用いた病理組織学的解析を行い、HE 染色において変異細胞や炎症所見を認めないことを示した。

(3) 感染症検査

1. 17 種類のウイルス検査系は 5 copies/reaction の測定感度を持つことが確認された。

2. ボランティアから得た関節組織・骨髓・血液のウイルス・マイコプラズマ検査を行った。58 検体中 7 検体から PVB19、3 検体から EBV、1 検体から VZV が検出された。滑膜組織 10 検体中 2 検体から PVB19、1 検体から EBV が検出された。滑膜幹細胞集合体 (培養 14 日目) はウイルス・マイコプラズマ陰性だった。

3. 構築したマイコプラズマ検査系の感度は 5 cfu/reaction だった。市販のキット (Mycoseq) と同等以上の感度があり、擬陽性の可能性が低いことが示された。

4. 作成したウイルス・マイコプラズマ検査系を QIAGEN 社の QIA-Symphony に移植し、自動検査が可能になった。

(4) iPS 細胞の軟骨分化

検討した 3 株の iPS 細胞をペレット培養法、Hanging drop 法を用いて軟骨分化を誘導すると、B 株において Nanog 遺伝子の発現が低下し、それに伴って軟骨分化を示す Col II、aggrecan の発現が上昇する事が分かった。B 株をラット軟骨欠

損モデルに移植を行ったところ、移植後 4 週間で欠損部に軟骨様の再生構造が認められ、その部位の Col II、aggrecan 発現が上昇していることが示された。

D. 考察

(1) 滑膜幹細胞集合体移植

滑膜間葉系幹細胞を集合体にする、軟骨分化関連遺伝子や、抗炎症関連遺伝子の発現が上昇し、また集合体は、容易に軟骨欠損部へ接着し、軟骨欠損部に残存することを確認した。ウサギ、ピッグともに滑膜間葉系幹細胞の集合体を移植後に良好な軟骨再生が得られ、ヒトへの臨床応用が期待される。

(2) 変異細胞評価

得られた成果は特に、間葉系幹細胞の培養系を変更した際に、その DNA 損傷面からの侵襲度の評価や、screening としての変異細胞検出に用いることができる。特にメチル化 p16 及び AID のリアルタイム PCR は、簡便に短時間に効率良くまた高感度に異常を検出することができるために、有用である。

一方これらの指標は体性幹細胞調製においてはあくまで科学的な検証であり、実際には免疫不全マウスへの移植や、軟寒天培養法、染色体検査を指標として、製品標準が確立していく。

上記のリアルタイム PCR 系は、今後そ

他の変異細胞の検出にも応用可能であり、特に一般的な腫瘍細胞の signature となる変異や軟骨細胞に特有な遺伝子変異を高感度に検出する系に応用できる。

(3) 感染症検査

今回の検査結果から、軟骨再生に使用する滑膜組織に PVB19 と EBV が混入する可能性があることが明らかとなった。しかし、我々の培養法ではこれらのウイルスは増殖しないことから、治療の安全性に影響を与える可能性は非常に低いと思われる。

上記 2 種のウイルスは血液や骨髄からも検出されている。骨髄細胞を原材料として使用する再生医療が多数計画されているが、我々の培養系と他の培養系ではウイルス動態が相違する可能性があり、PBV19 と EBV の検査は重点的に行うべきである。

(4) iPS 細胞の軟骨分化

予め細胞集塊を形成する過程が未分化マーカー Nanog 遺伝子の発現を低下させ、安全で効果的な iPS 細胞株スクリーニングの可能性を示した。スクリーニングで用いたペレット培養法、Hanging drop 法は、in vivo における軟骨分化を in vitro で疑似化したものであり、軟骨再生に適した iPS 細胞株のスクリーニングとして有用であると期待される。移植前に細胞集塊を形成する際、未分化 iPS 細胞を軟

骨分化誘導培地で3日間培養したが、より長期間分化誘導をかけた iPS 細胞を用いれば、in vivo での更なる軟骨分化誘導が期待できると考えられる。

E. 結論

滑膜間葉系幹細胞を集合体により、軟骨分化能が増し、軟骨欠損部への移植操作が容易となり、軟骨再生を促進させた。

膝関節軟骨欠損に用いる滑膜由来間葉系幹細胞を用いて、DNA 損傷の程度や、過剰増殖反応から変異を誘導する分子の発現亢進がおきていないか、また腫瘍化の代替指標である p16 のメチル化をそれぞれ高感度にて測定した。その結果、培養滑膜由来間葉系幹細胞では DNA 損傷は軽微で、前腫瘍段階となる状態も生化学的、病理学的に検出されないことが明らかになった。

滑膜幹細胞による低侵襲軟骨再生治療の安全性を確保するため、混入する可能性があるウイルス（17種類）・マイコプラズマの迅速検査系の開発と検査系の自動化および検査結果の蓄積を目的に研究を行った。その結果、ウイルス・マイコプラズマ検査系は十分な感度を持つこと確認された。関節組織・骨髄・血液のウイルス・マイコプラズマ検査ではPVB19、EBV、VZVが検出されたが、いずれも滑膜幹細胞培養中には増殖しなかった。作成

したウイルス・マイコプラズマ検査系を QIAGEN 社の QIA-Symphony に移植し、自動検査が可能になった。

iPS 細胞を予めペレット培養法、Hanging drop 法による in vitro 培養を行い Nanog、Col II、aggrecan 遺伝子発現を検討する事で、軟骨再生に適した iPS 細胞のスクリーニングが可能となった。

F. 研究発表

平成23年度

1. 論文発表

Nakamura T, Sekiya I, Muneta T, Hatsushika D, Horie M, Tsuji K, Kawarasaki T, Watanabe A, Hishikawa S, Fujimoto Y, Tanaka H, Kobayashi E. Arthroscopic, histological and MRI analyses of cartilage repair after a minimally invasive method of transplantation of allogeneic synovial mesenchymal stromal cells into cartilage defects in pigs. *Cytherapy*. 2012 Mar;14(3):327-38.

Sekiya I, Ojima M, Suzuki S, Yamaga M, Horie M, Koga H, Tsuji K, Miyaguchi K, Ogishima S, Tanaka H, Muneta T Human mesenchymal stem cells in synovial fluid increase in the knee with degenerated cartilage and osteoarthritis. *Orthop Res*. 2012 Jun;30(6):943-9.

関矢一郎、宗田 大
滑膜間葉幹細胞の役割と低侵襲な軟骨再生への応用
雑誌整形外科 2012
整形トピックス Vol. 63, No. 3, p228

関矢一郎、宗田 大

変形性膝関節症をめぐる進歩
滑膜由来の幹細胞による再生医療
Bone Joint Nerve 2012 Vol.2,
No.1, p159-165

関矢一郎、宗田大
再生医学のいま 基礎研究から臨床への
展開に向けて
滑膜幹細胞を用いた関節軟骨再生
治療 2011 Vol.93, No.8,
p1784-1793

関矢一郎、宗田大
滑膜間葉幹細胞を用いた関節軟骨再生
クリニカルカルシウム
No.6 2011p83-93 Vol.21

関矢一郎
軟骨再生の概要と応用の可能性
医事新報 p59-61 No. 4548 2011

Jang SH, Lim JW, Morio T, Kim H.
Lycopene inhibits Helicobacter
pylori-induced ATM/ATR-dependent
DNA damage response in gastric
epithelial AGS cells.
Free Radical Biol. Med. 52: 607-615,
2012.

Nakamura K, Du L, Tunuguntla R, Fike
F, Cavalieri S, Morio T, Mizutani S,
Brusco A, Gatti RA.
Functional characterization and
targeted correction of ATM mutations
identified in Japanese patients with
ataxia-telangiectasia. Hum Mutat.
33:198-208, 2012.

清水則夫
細胞治療のウイルス安全性確保に関する
取り組み
日本医薬品等ウイルス安全性研究会医
薬品の品質管理とウイルス安全性
2011 p102 ~ 111

清水則夫

病原微生物の網羅的検出法の開発と応用
日本医薬品等ウイルス安全性研究会医薬
品の品質管理とウイルス安全性
2011 p287 ~ 294
検出法の開発と応用

Sugita S, Shimizu N, Watanabe K,
Katayama M, Horie S, Ogawa M,
Takase H, Sugamoto Y, Mochizuki
M. Diagnosis of bacterial
endophthalmitis by broad-range
quantitative PCR.
Br J Ophthalmol. 2011; 95:345-349.

Ng S, Selvarajan V, Hung G, Zhou J,
L Feldman A, Low M, Kwong Y,
Shimizu N, Kagami Y, Aozasa K.
Activated oncogenic pathways and
therapeutic targets in extranodal
nasal-type NK/T cell lymphoma
revealed by gene expression profiling.
J Pathol. 2011; 223:496-510.

Abe T, Segawa Y, Watanabe H,
Yotoryama T, Kai S, Yasuda A,
Shimizu N, Tojo N Point-of-Care
Testing System Enabling 30-min
Detection of Influenza Genes.
.AB CHIP. 2011; 11:1166-1167.

Yagasaki H, Kato M, Shimizu N,
Shichino H, Chin M, Mugishima H.
Autoimmune hemolytic anemia and
autoimmune neutropenia in a child with
erythroblastopenia of childhood (TEC)
caused by human herpesvirus-6
(HHV6).
Ann Hematol. 2011; 90(7):851-852.

Watanabe A, Tagawa H, Yamashita J,
eshima K, Nara M, Iwamoto K, Kume M,
Kameoka Y, Takahashi N, Nakagawa T,
Shimizu N, Sagawa K.
The role of microRNA-150 as a tumor
suppressor in malignant lymphoma.

Leukemia. 2011; 25(8):1324-1334.

Sugita S, Ogawa M, Inoue S, Shimizu N, Mochizuki M.

Diagnosis of ocular toxoplasmosis by two polymerase chain reaction (PCR) examinations: qualitative multiples and quantitative real-time.

Jpn J Ophthalmol.2011; Jul 13. 55(5):495-501.

Ogawa M, Watanabe K, Shimizu N, Mochizuki M Detection of Candida & Aspergillus species DNA using broad-range real-time PCR for fungal endophthalmitis. Sugita S, Komori K,. Graefe Arch Clin Exp. in press.

Ng S, Yan J, Huang G, Selvarajan V, Tay J, Lin B, Bi C, Tan J, Kwong Y, Shimizu N, Aozasa K, Dysregulated MicroRNAs Affect Pathways and Targets of Biological Relevance in Nasal-type Natural Killer / T-cell Lymphoma. Chng W. Blood. 118(18):4919-4929.2011 Nov 3.

Imadome K, Yajima M, Arai A, Nakazawa A, Kawano F, Ichikawa S, Shimizu N, Yamamoto N, Morio T, Ohga S, Nakamura H, Ito M, Miura O, Komano J, Fujiwara S. Novel Mouse Xenograft Models Reveal a Critical Role of CD4+ T Cells in the Proliferation of EBV-Infected T and NK Cells. PLoS Pathogens, 2011;7(10):e1002326. Epub 2011 Oct 20.

Kuwana Y, Takei M, Yajima M, Imadome K, Inomata H, Shiozaki M, Ikumi N, Nozaki T, Shiraiwa H, Kitamura N, Takeuchi J, Sawada S, Yamamoto N, Shimizu N, Ito M, Fujiwara S.

Epstein-Barr Virus Induces Erosive Arthritis in Humanized Mice. PLoS ONE 2011;6(10):e26630. Epub 2011 Oct 19.

Ramakrishnan R, Donahue H, Garcia D, Tan J, Shimizu N, Rice A, D.Ling P. Epstein-Barr virus BART9 miRNA modulates LMP1 levels and affects growth rate of nasal NK T cell lymphomas. PLoS ONE, 2011;6(11):e27271 2011

Hara-Miyauchi C, Tsuji O, Hanyu A, Okada S, Yasuda A, Fukano T, Akazawa C, Nakamura M, Imamura T, Matsuzaki Y, Okano HJ, Miyawaki A, Okano H. Biochem Biophys Res Bioluminescent system for dynamic imaging of cell and animal behavior. Commun. 2012 Mar 9;419(2):188-93.

Miyahara K, Kato Y, Koga H, Dizon R, Lane GJ, Suzuki R, Akazawa C, Yamataka A. Visualization of enteric neural crest cell migration in SOX10 transgenic mouse gut using time-lapse fluorescence imaging. J Pediatr Surg. 2011 Dec;46(12):2305-8.

Katoh H, Shibata S, Fukuda K, Sato M, Satoh E, Nagoshi N, Minematsu T, Matsuzaki Y, Akazawa C, Toyama Y, Nakamura M, Okano H. The dual origin of the peripheral olfactory system: placode and neural crest. Mol Brain. 2011 Sep 23;4:34.

Asahara H. miRNAs in cartilage development. Clin Calcium. 2012; 22(5): 653-7.

Miyaki S, Asahara H. Analysis of molecular network in

chondrocytes by WISH.
Clin Calcium. 2011; 21(6): 831-8.

Nakamura N, Takeuchi R, Sawaguchi T, Ishikawa H, Saito T, Goldhahn S.
Cross-cultural adaptation and validation of the Japanese Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS).
J Orthop Sci. 2011 Sep;16(5):516-23

2. 学会発表

a)国際学会発表

関矢一郎

Mesenchymal stem cells derived from synovium: their properties and clinical application for cartilage regeneration.
The 3rd International Cartilage and Osteoarthritis Symposium (ICOA 2011) (Suwon, Korea)
2011.7.4

関矢一郎

Mesenchymal stem cells derived from synovium: their properties and clinical application for cartilage regeneration.
International Summer Program 2011
Tokyo Medical and Dental University
2011.8.30

関矢一郎

Mesenchymal stem cells derived from synovium: their properties and clinical application for cartilage regeneration.
BioKorea (Seoul)
2011.9.30

関矢一郎

Roles of stem cells in synovial fluid and clinical applications of stem cells from synovium
Singapore Orthopaedic Association
2011.10.13

関矢一郎

Cartilage regeneration with synovial stem cells.
The 9th International Symposium for Orthopaedic Sports Medicine Chang

Gung Memorial Hospital - Keelung
Taiwan 2012.3.24

鈴木志郎、宗田 大、関矢一郎

Properties and effectiveness of aggregated synovial mesenchymal stem cells for cartilage regeneration.
Orthopaedic Research Society,
SanFrancisco.
2012.2.4

堀江雅史、宗田 大、関矢一郎

Xenografts of Human Mesenchymal Stromal Cells(MSCs) Improve Repair of Rat Meniscus by Being Activated to Express Indian Hedgehog that Enhances Expression of Rat Type II Collagen
Orthopaedic Research Society ,
SanFrancisco.
2012.2.4

奥野真起子、宗田 大、関矢一郎

Syngeneic, minor mismatched, and major mismatched transplantation of synovial mesenchymal stem cells in a rat massivemeniscal defect model.
Orthopaedic Research Society ,
SanFrancisco.
2012.2.4

初鹿大祐、宗田 大、関矢一郎

Intraarticular injection of synovial stem cells promotes meniscal regeneration in rabbit massive meniscal defect.
Orthopaedic Research Society ,
SanFrancisco.
2012.2.4

小田邊浩二、宗田 大、関矢一郎

Property of Mesenchymal Stem Cells in Oral Tissues.
Orthopaedic Research Society ,
SanFrancisco.
2012.2

尾島美代子、宗田 大、関矢一郎

Human mesenchymal stem cells in synovial fluid increase in the knee

with osteoarthritis.
Orthopaedic Research Society ,
SanFrancisco.
2012.2.4

大関信武、宗田 大、関矢一郎、齋藤知行
BMP-7 treated Achilles tendon
transplantation for meniscal defect in a
rat model.
Orthopaedic Research Society,
SanFrancisco.
2012.2.4

松尾 光祐、齋藤知行
Expression of angiotensin II receptor
(AT1R) in human articular
chondrocytes.
Orthopaedic Research Society,
SanFrancisco.
2012.2.4

宗田 大
Remnant Preserving Double-bundle
ACL Reconstruction.
7th PCL Symposium in Seoul Prof,
Jung Young-Bok.
2011.2.12

宗田 大
Remnant preserving double-bundle
ACL reconstruction by transtibial
technique. Debate: Remnant
Preservation in ACL Reconstruction:
Is it Worth Doing?
ISAKOS 2011, Rio de Janeiro,
2011.5.15

宗田 大
17- year experience of 4-strand
semitendinosus double-bundle ACL
reconstruction ICL: ACL
Reconstruction - Single vs. Double
Bundle.
ISAKOS 2011, Rio de Janeiro,
2011.5.16

宗田 大
Treatment for knee osteoarthritis
before Total Knee - Biologic
resurfacing options for osteochondral
defects of the knee -. ICL: Treatment of
Knee Osteoarthritis: What are the
Options Before Total Knee?
ISAKOS 2011, Rio de Janeiro,

2011.5.16

宗田 大
What 's going on in the section of
Orthopedic Surgery.
Orthopedic Biomechanics Laboratory,
Gainesville, FL.
2011.5.20

宗田 大
17-year experience of 4-strand
semitendinosus double-bundle ACL
reconstruction.
Grand Rounds in Orthopaedics &
Rehabilitation, OHSU.
2011.5.23

宗田 大
Anatomic double-bundle ACL
reconstruction using 4-strand
semitendinosus tendon. 1 st Jishuitan
Sports Medicine Summit in Beijin.
2011.6.10.

宗田 大
Medial patellofemoral reconstruction in
various patellar instability.
1 st Jishuitan Sports Medicine Summit
inBeijin. 2011.6.11

宗田 大
Physiological background of ACL
injured patients.
1 st Jishuitan Sports Medicine Summit
inBeijin. 2011/6/12

清水則夫
Novel mouse xenograft models of
CAEBV and EBV0HLH reveals a
critical role of CD4+ T cells in the
proliferation of EBV-infected T and NK
cells.
XV International Congress of Virology,
Sapporo, JAPAN,
2011.7

中村 憲正

Do we need cells to restore chondral
surface?

ISAKOS 2011, Rio de Janeiro.

2011.5.16

中村 憲正

Scaffold-free tissue engineered construct (TEC) derived from mesenchymal stem cells for joint surface restoration.

ISAKOS 2011, Rio de Janeiro.

2011.5.16

中村 憲正

Mesenchymal stem cells (MSCs) in joint repair

ISAKOS 2011, Rio de Janeiro,

2011.5.16

中村 憲正

Novel Approaches to Prevent OA of the Knee

MSC-based repair of Cartilage and Meniscus for joint surface restoration.

中村憲正

Synovial stem cell-based therapy in chondral lesions. 1st Annual Congress

on Stem Cell Research Spanca,

Turkey.2011.7.28

b) 国内学会発表

関矢一郎

滑膜幹細胞による軟骨再生医療

日本再生医療学会シンポジウム(新宿)

2011. 3. 2

関矢一郎

滑膜間葉幹細胞を用いる低侵襲軟骨再生医療におけるマグネシウムの細胞接着促進効果

日本軟骨代謝学会シンポジウム(博多)

2011. 3. 5

関矢一郎

滑膜幹細胞を関節鏡視下で移植する軟骨再生医療

東京整形外科画像診断研究会(神田)

2011. 6. 11

関矢一郎

滑膜間葉幹細胞による軟骨再生

日本骨代謝学会シンポジウム(大阪)

2011. 7. 28

関矢一郎

関節液中の幹細胞と関節内組織損傷

日本骨代謝学会シンポジウム(大阪)

2011. 7. 30

関矢一郎

滑膜幹細胞の視点から膝関節疾患の病態と構造体の再生を考える

第10回鹿児島サイトカイン制御療法研究会

2011. 9. 21

関矢一郎

滑膜幹細胞による軟骨・半月板再生

信州運動器診療フォーラム(松本)

2011. 10. 1

関矢一郎

滑膜幹細胞の役割と低侵襲な軟骨再生への応用

日本整形外科学会 第26回基礎学術集会ランチョンセミナー

2011. 10. 20

関矢一郎

幹細胞による軟骨再生—現状と展望—

日本臨床スポーツ医学会シンポジウム(青森)

2011. 11. 6

関矢一郎

滑膜幹細胞による軟骨再生

東京大学 再生医療カンファレンス

2012. 2. 16

宗田 大

4つ折りの半腱様筋腱を用いた2重束再建術の進歩と課題

第3回 JOSKAS 特別シンポジウム 北海道 2011. 6. 16

宗田 大

膝関節の障害に対する保存療法と手術療法の位置づけ

エルムセミナー10
第3回 JOSKAS 北海道
201. 6. 17

宗田 大
複合靭帯損傷に対する治療のコツとピットフォール
第3回 JOSKAS セミナー 北海道
2011. 6. 18

清水則夫
網羅的ウイルス・真菌 PCR 法を用いた造血細胞移植後肺障害の迅速診断
第33回日本造血細胞移植学会 松山市
2011. 3. 10

清水則夫
非血縁骨髄ドナー由来の Chromosomal integrate
HHV-6 (CIHHV-6) の1女児例
第33回日本造血細胞移植学会 松山市
2011. 3. 10

清水則夫
Yamada C et al. High levels of human cytokines were detected in a novel mouse xenograft model of CAEBV and EBV-HLH
日本血液学会 名古屋
2011.10.14-16

平成24年度
1. 論文発表

Suzuki S, Muneta T, Tsuji K, Ichinose S, Makino H, Umezawa A, Sekiya I.
Properties and usefulness of aggregates of synovial mesenchymal stem cells as a source for cartilage regeneration.
Arthritis Res Ther14(3)R136,2012.

Nakamura T, Sekiya I, Muneta T, Hatsushika D, Horie M, Tsuji K, Kawarasaki T, Watanabe A, Hishikawa S, Fujimoto Y, Tanaka H, Kobayashi E.
Arthroscopic, histological and MRI

analyses of cartilage repair after a minimally invasive method of transplantation of allogeneic synovial mesenchymal stromal cells into cartilage defects in pigs.
Cytotherapy14(3)327-3382012.

Otabe K, Muneta T, Kawashima N, Suda H, Tsuji K, Sekiya I.
Comparison of Gingiva, Dental Pulp, and Periodontal Ligament Cells From the Standpoint of Mesenchymal Stem Cell Properties. Cell Medicine4(1)13-21
2012.

Horie M, Driscoll MD, Sampson HW, Sekiya I, Caroom CT, Prockop DJ, Thomas DB.
Implantation of allogenic synovial stem cells promotes meniscal regeneration in a rabbit meniscal defect model.
J Bone Joint Surg Am18;94 (8)701-12
2012.

Horie M, Choi H, Lee RH, Reger RL, Ylostalo J, Muneta T, Sekiya I, Prockop D
Intra-articular injection of human mesenchymal stem cells (MSCs) promote rat meniscal regeneration by being activated to express Indian hedgehog that enhances expression of type II collagen.
Osteoarthritis Cartilage20 (10)1197-12072012.

Sekiya I, Ojima M, Suzuki S, Yamaga M, Horie M, Koga H, Tsuji K, Miyaguchi K, Ogishima S, Tanaka H, Muneta T
Human mesenchymal stem cells in synovial fluid increase in the knee with degenerated cartilage and osteoarthritis.
JOrthop Res30(6)943-9492012.

Koga H, Muneta T, Yagishita K, Ju YJ, Sekiya I.

Surgical management of grade 3 medial knee injuries combined with cruciate ligament injuries.
Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 20(1)88-942012.

Futami I, Ishijima M, Kaneko H, Tsuji K, Ichikawa-Tomikawa, N., Sadatsuki R, Muneta T, Arikawa-Hirasawa, E, Sekiya I, Kaneko K.
Isolation and characterization of multipotential mesenchymal cells from the mouse synovium.
PLoS One 7E455172012.

鈴木 志郎、関矢 一郎、宗田 大
軟骨再生の細胞源としての滑膜間葉系幹細胞集合体の特性と有用性
整形・災害外科 55(10)1243-12482012.

関矢 一郎、宗田 大
関節と体性幹細胞 滑膜間葉系幹細胞による軟骨再生
BIO Clinica27 (9) 830-8342012.

関矢 一郎、宗田 大
軟骨治療の進歩：滑膜幹細胞による軟骨再生
日本医師会雑誌
141 (8) 17392012.

関矢 一郎、宗田 大
滑膜間葉系幹細胞の役割と低侵襲な軟骨再生への応用
整形外科 63 (3) 2282012.

関矢 一郎、宗田 大
滑膜間葉系幹細胞を使った軟骨再生
再生医療叢書 第6巻 骨格系
38-512012.

関矢 一郎、宗田 大
滑膜由来の幹細胞による再生医療

関矢 一郎、赤木 将男
変形性膝関節症の治療
—現状と展望— 鼎談
Bone Joint Nerve4(2)159-165
167-1792012

森尾友宏

大学病院などの再生医療を支える細胞プロセッシング室運営マニュアル
新潟大学 医歯学総合病院 生命科学医療センター編著、
森尾友宏、畠賢一郎、中田光監修、星雲社、
20126.30

Ogawa M, Sugita S, Shimizu N, Watanabe K, Nakagawa I, Mochizuki M
Broad-range real-time PCR assay for detection of bacterial DNA in ocular samples from infectious endophthalmitis.
Jpn J Ophthalmol. 56(6):529-535, 2012.

Sugita S, Shimizu N, Watanabe K, Ogawa M, Maruyama K, Usui N, Mochizuki M.
Virological analysis in patients with human herpes virus 6-associated ocular inflammatory disorders.
Invest Ophthalmol Vis Sci. 12;53(8):4692-8. 2012.

Ogawa M, Sugita S, Watanabe K, Shimizu N, Mochizuki M.
Novel diagnosis of fungal endophthalmitis by broad-range real-time PCR detection of fungal 28S ribosomal DNA.
Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 250(12):1877-1883, 2012.

Sugita S, Shimizu N, Watanabe K, Ogawa M, Maruyama K, Usui N, Mochizuki M.
Detection of Candida & Aspergillus species DNA using broad-range real-time PCR for fungal endophthalmitis. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 250:391-398, 2012.

Ishii K, Doi T, Inoue K, Okawada M, Lane GJ, Yamataka A, Akazawa C.
Correlation between multiple RET mutations and severity of