

15. Haywood L, McWilliams DF, Pearson CI, Gill SE, Ganesan A, Wilson D, Walsh DA: Inflammation and angiogenesis in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2003, **48**:2173–2177.
16. Lotz M: Osteoarthritis year 2011 in review: biology. *Osteoarthr Cartil* 2012, **20**:192–196.
17. Marrelli A, Cipriani P, Liakouli V, Carubbi F, Perricone C, Perricone R, Giacomelli R: Angiogenesis in rheumatoid arthritis: a disease specific process or a common response to chronic inflammation? *Autoimmun Rev* 2011, **10**:595–598.
18. Suri S, Gill SE, Massena De Camin S, Wilson D, McWilliams DF, Walsh DA: Neurovascular invasion at the osteochondral junction and in osteophytes in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2007, **66**:1423–1428.
19. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, Berlin J, Baron A, Griffing S, Holmgren E, Ferrara N, Fyfe G, Rogers B, Ross R, Kabbinavar F: Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004, **350**:2335–2342.
20. Yudoh K, Shishido K, Murayama H, Yano M, Matsubayashi K, Takada H, Nakamura H, Masuko K, Kato T, Nishioka K: Water-soluble C60 fullerene prevents degeneration of articular cartilage in osteoarthritis via down-regulation of chondrocyte catabolic activity and inhibition of cartilage degeneration during disease development. *Arthritis Rheum* 2007, **56**:3307–3318.
21. Miller KD, Chap LI, Holmes FA, Cobleigh MA, Marcom PK, Fehrenbacher L, Dickler M, Overmoyer BA, Reimann JD, Sing AP, Langmuir V, Rugo HS: Randomized phase III trial of capecitabine compared with bevacizumab plus capecitabine in patients with previously treated metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2005, **23**:792–799.
22. van der Flier M, Coenjaerts FE, Mwinzi PN, Rijkers E, Ruyken M, Scharringa J, Kimpen JL, Hoepelman AI, Geelen SP: Antibody neutralization of vascular endothelial growth factor (VEGF) fails to attenuate vascular permeability and brain edema in experimental pneumococcal meningitis. *J Neuroimmunol* 2005, **160**:170–177.
23. Bakri SJ, Cameron JD, McCannel CA, Pulido JS, Marler RJ: Absence of histologic retinal toxicity of intravitreal bevacizumab in a rabbit model. *Am J Ophthalmol* 2006, **142**:162–164.
24. Manzano RP, Peyman GA, Khan P, Kivilcim M: Testing intravitreal toxicity of bevacizumab (Avastin). *Retina* 2006, **26**:257–261.
25. Ohta N, Sato M, Ushida K, Kokubo M, Baba T, Taniguchi K, Urai M, Kihira K, Mochida J: Jellyfish mucin may have potential disease-modifying effects on osteoarthritis. *BMC Biotechnol* 2009, **9**:98.
26. Hayashi M, Muneta T, Takahashi T, Ju YJ, Tsuji K, Sekiya I: Intra-articular injections of bone morphogenetic protein-7 retard progression of existing cartilage degeneration. *J Orthop Res* 2010, **28**:1502–1506.
27. Laverty S, Girard CA, Williams JM, Hunziker EB, Pritzker KP: The OARS histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rabbit. *Osteoarthr Cartil* 2010, **18**:S53–S65.
28. Shirai T, Kobayashi M, Nishitani K, Satake T, Kuroki H, Nakagawa Y, Nakamura T: Chondroprotective effect of alendronate in a rabbit model of osteoarthritis. *J Orthop Res* 2011, **29**:1572–1577.
29. Tibesku CO, Szuwart T, Ocken SA, Skwara A, Fuchs S: Increase in the expression of the transmembrane surface receptor CD44v6 on chondrocytes in animals with osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2005, **52**:810–817.
30. Pritzker KP, Gay S, Jimenez SA, Ostergaard K, Pelletier JP, Revell PA, Salter D, van den Berg WB: Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthr Cartil* 2006, **14**:13–29.
31. Anderson DD, Chubinskaya S, Guilak F, Martin JA, Oegema TR, Olson SA, Buckwalter JA: Post-traumatic osteoarthritis: improved understanding and opportunities for early intervention. *J Orthop Res* 2011, **29**:802–809.
32. Pufe T, Petersen W, Tillmann B, Mentlein R: Splice variants VEGF121 and VEGF165 of the angiogenic peptide vascular endothelial cell growth factor are expressed in the synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2001, **28**:1482–1485.
33. Bonnet CS, Walsh DA: Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation. *Rheumatology (Oxford)* 2005, **44**:7–16.
34. Pickarski M, Hayami T, Zhuo Y, Duong Le T: Molecular changes in articular cartilage and subchondral bone in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord* 2011, **12**:197.
35. Hiraki Y, Inoue H, Iyama K, Kamizono A, Ochiai M, Shukunami C, Iijima S, Suzuki F, Kondo J: Identification of chondromodulin 1 as a novel endothelial cell growth inhibitor. Purification and its localization in the avascular zone of epiphyseal cartilage. *J Biol Chem* 1997, **272**:32419–32426.
36. Hiraki Y, Tanaka H, Inoue H, Kondo J, Kamizono A, Suzuki F: Molecular cloning of a new class of cartilage-specific matrix, chondromodulin-1, which stimulates growth of cultured chondrocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1991, **175**:971–977.
37. van der Kraan PM, van den Berg WB: Chondrocyte hypertrophy and osteoarthritis: role in initiation and progression of cartilage degeneration? *Osteoarthr Cartil* 2012, **20**:223–232.
38. Klinger P, Surmann-Schmitt C, Brem M, Swoboda B, Distler JH, Carl HD, von der Mark K, Hennig FF, Gelse K: Chondromodulin 1 stabilizes the chondrocyte phenotype and inhibits endochondral ossification of porcine cartilage repair tissue. *Arthritis Rheum* 2011, **63**:2721–2731.
39. Zelzer E, Mamluk R, Ferrara N, Johnson RS, Schipani E, Olsen BR: VEGFA is necessary for chondrocyte survival during bone development. *Development* 2004, **131**:2161–2171.
40. Kitahara H, Hayami T, Tokunaga K, Endo N, Funaki H, Yoshida Y, Yaoita E, Yamamoto T: Chondromodulin-I expression in rat articular cartilage. *Arch Histol Cytol* 2003, **66**:221–228.

doi:10.1186/s13075-014-0427-y

Cite this article as: Nagai et al.: Bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, inhibits osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy* 2014 **16**:427.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



細胞シートによる関節軟骨の再生医療

Regenerative medicine of articular cartilage using cell sheet

佐藤 正人

Key words : 細胞シート, トランスレーショナルリサーチ, 関節軟骨, 再生医療, 温度応答性培養皿

はじめに

現在国策として進められている健康日本21(第2次)の基本的な方向として, すべての国民がともに支え合い, 健やかで心豊かに生活できる活力ある社会の実現を目指し, そのために①健康寿命の延伸と健康格差の縮小, ②主要な生活習慣病の発症予防と重症化予防, ③社会生活を営むために必要な機能の維持および向上, ④健康を支え, 守るための社会環境の整備, ⑤栄養・食生活, 身体活動・運動, 休養, 飲酒, 喫煙および歯・口腔の健康に関する生活習慣および社会環境の改善, の5つを達成すべき目標としている。なかでも超高齢化社会の日本では, ①は最重要課題である。2013年, ついに我が国の65歳以上の人口は3000万人を超え, 4人に1人が高齢者となった。健康寿命は男性70.42歳, 女性73.62歳で十分に高水準ではあるが, 平均寿命が男性79.55歳, 女性86.30歳ということから考えると, 人生の後半において要介護に近い生活を男性で9年, 女性で12年以上平均して送ることになる(図1)。要介護, 要支援となる原因は様々ではあるが, 関節疾患と骨折・転倒による原因をともに運動器疾患とすれば, 平成22年国民生活基礎調査の概況で第1位となっている脳血管疾患を凌駕するほどの割合である

(図2)。つまり運動器疾患の克服は, 喫緊に克服しなければならない重要課題なのである。日本整形外科学会では, 運動器の障害により既に要介護になっているか, 要介護のリスクが高い状態をロコモティブシンドローム(通称:ロコモ)と命名し, 名称の啓蒙活動を行っているが変形性膝関節症は, その代表的疾患である。

軟骨の再生医療が変形性膝関節症の克服にどの程度貢献できるのか, 今後, 世界の研究進捗を見守る必要がある。一方で, 外傷による小さな軟骨欠損に対する治療としては, 米国をはじめとする諸外国では既に2万例を超える自己細胞による再生医療の手術症例の蓄積がある。これからいえることは, 再生医療が真に必要とされる変形性膝関節症の治療には20年近く経過した現在でも, いまだに到達する気配すら感じられないということである。このことから関節軟骨を再生させることが, いかに難しいことなのかが推察できる。

本稿では, 厚生労働科学研究費補助金(再生医療実用化研究)事業として現在東海大学で実施行われているヒト幹細胞臨床研究を紹介し, これまでのトランスレーショナルリサーチに関しての概要を述べる。従来の軟骨再生医療とは一線を画し, 日本で初めて変性した膝関節軟骨にも適応が認められた軟骨再生医療の臨床研究で

Masato Sato: Department of Orthopaedic Surgery, Surgical Science, Tokai University School of Medicine
東海大学医学部 外科学系 整形外科学

0047-1852/14/¥60/頁/JCOPY

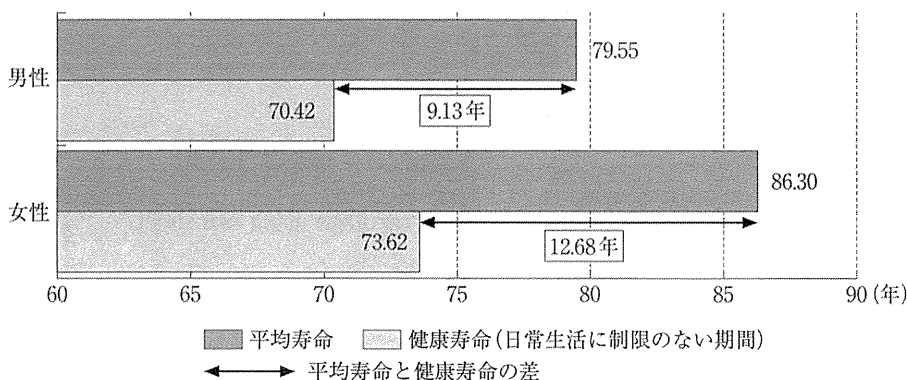


図1 健康寿命と平均寿命

(資料：平均寿命(平成22年)は厚生労働省「平成22年度完全生命表」，健康寿命(平成22年度)は，厚生労働科学研究費補助金「健康寿命における将来予測と生活習慣病対策の費用対効果に関する研究」)

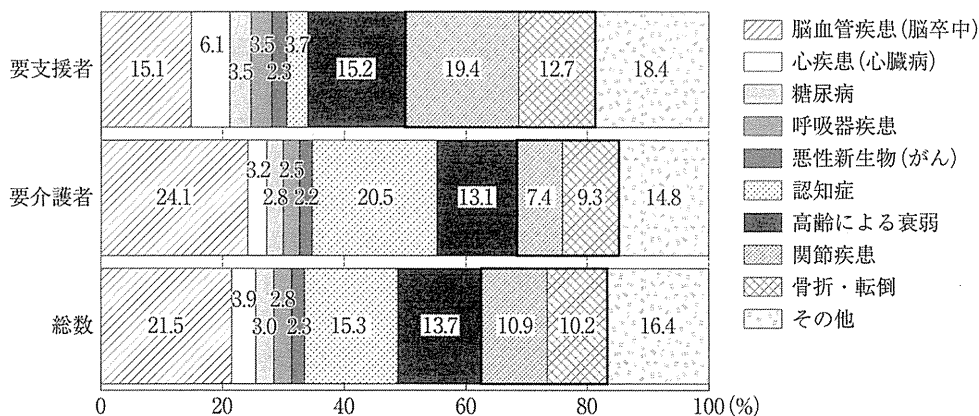


図2 要介護度別にみた介護が必要となった主な原因

(資料：厚生労働省「平成22年国民生活基礎調査の概況」)

ある。

1 軟骨細胞シートの特性

現在実施中のヒト幹細胞臨床研究で使用する軟骨細胞シートは、温度応答性培養皿を用いた細胞培養にて3週間かけて作製する。この培養皿は、東京女子医科大学先端生命医科学研究所 所長・教授 岡野光夫博士が開発したもので、独自のナノ表面設計により温度応答性ポリマーであるポリ-N-イソプロピルアクリルアミドを器材表面に固定化することで器材表面は32℃を境に可逆的に疎水性の細胞接着表面から親水性の細胞遊離表面に変化する^{1,2)}。この特性によ

り、トリプシンなど、細胞に損傷を与える酵素を一切用いることなく、温度を下げるだけで、無傷な細胞と細胞外マトリックスがシート状に回収可能である(図3)。既にこの温度応答性培養皿を用いて作製した細胞シートによる臨床研究ならびに治験は、心筋、角膜、食道粘膜、歯根膜、関節軟骨の5つの異なる分野で開始され、再生医療の実現をめざしている。

興味深いことに、温度応答性培養皿で作製した積層化軟骨細胞シートは、通常の2次元培養の軟骨細胞とは異なる特性を有している。播種直後の培養皿への接着のしにくさが、かえって軟骨本来の形質を導くために通常2次元培養で生じる脱分化が起こりにくい^{5,10)}。また、損傷軟

XII

トランスレーショナルリサーチ
—基礎から臨床応用まで—

で実施し、同意書の取得から最終製品の搬出まで SOP どおりに実施することが可能で学内実施体制に問題ないことを確認した。平成 23 年 10 月 3 日の厚生労働大臣意見書の発出をもって承認され、細胞シート工学という日本オリジナルな技術を導入した軟骨再生医療の実現を目指して、ヒト幹細胞臨床研究として実施できることとなった²²⁾。

おわりに

軟骨細胞シートは、移植前は決して正常な軟骨組織ではない。著者らは *in vitro* で、できるだけ正常に近い軟骨を作製するといった従来の組織工学的アプローチを止めた。それは、正常な軟骨組織は、細胞成分が 5% 程度ともいわれマトリックスが多すぎて、修復・再生には適さないと見極めたからである。先人から受け継がれた歴史からも、臨床現場で経験した多くの事例からも、関節軟骨の自然治癒力が極端に低いことは自明である。細胞はばらばらの状態で移植しても、血球系の細胞でないかぎり生着するのは極めて少数である。細胞シートは手と手を取り合うように細胞同士のコミュニケーションを維持し、バイアビリティが高い状態で、組織特異的な形質発現を維持したまま移植することが可能である。つまり局所の組織修復・再生に最も効果的な状態で移植されるため治療効果が高い。損傷された組織を修復するために移植される場合、正常な組織形態に近い必要は全くない。損傷部に長期間とどまり、損傷部からプロテオグリカンなどのマトリックス流出を阻止し、関節液中のカタボリックファクターから損傷部

を保護し、更に自らも液性因子を供給し、修復細胞そのものも動員する。これらの組織修復に良好な機能を細胞シートは有していると考えられる。

現在は、ヒト幹細胞臨床研究として少数の患者に自己細胞シート移植を適用し、安全性をプライマリーエンドポイントとして評価している段階であるが、自己細胞を用いる場合は、組織採取のための侵襲的な手術とその後の 3-4 週間かかる培養工程がある。つまり、目の前の患者をすぐに治療することができない。このようなタイムラグを排除するためにも、将来は同種細胞シートを用いるメリットは大きく、実用化による普及も加速するものと確信している。骨・軟骨は昔から同種組織移植が経験的に行われてきたことからわかるように、免疫抑制剤を必要としない数少ない臓器(組織)の一つである。海外では細かくチップ状にした関節軟骨片が既に市販され、実際に臨床で使用されている。著者らは、現在同種細胞ソースの検討を慎重に行っている。軟骨細胞シートの保存法に関しての特許も出願^{23,24)}、臨床の場で待機期間なく、すぐに使用可能なレディメイドの同種細胞シートによる再生医療の実現に向けた準備を行っている。このような臓器(組織)特異性を生かし、安全性と免疫応答に関しての詳細なデータを蓄積し、基礎的なエビデンスを共同研究者の方々と共有しながら、同種細胞移植に積極的な方々と連携して取り組んでいる。もちろんドナー由来のウイルス感染症などの伝播には細心の注意を要することは言うまでもないが、

文献

- 1) Okano T, et al: Mechanism of cell detachment from temperature-modulated, hydrophilic-hydrophobic polymer surfaces. *Biomaterials* 16: 297-303, 1995.
- 2) Okano T, et al: A novel recovery system for cultured cells using plasma-treated polystyrene dishes grafted with poly(N-isopropylacrylamide). *J Biomed Mater Res* 27: 1243-1251, 1993.
- 3) Kaneshiro N, et al: Bioengineered chondrocyte sheets may be potentially useful for the treatment of partial thickness defects of articular cartilage. *Biochem Biophys Res Commun* 349(2): 723-731, 2006.
- 4) Kaneshiro N, et al: Cultured articular chondrocytes sheets for partial thickness cartilage defects utilizing temperature-responsive culture dishes. *Eur Cell Mater* 13: 87-92, 2007.

- 5) Mitani G, et al: The properties of bioengineered chondrocyte sheets for cartilage regeneration. *BMC Biotechnol* **9**: 17, 2009.
- 6) Ebihara G, et al: Cartilage repair in transplanted scaffold-free chondrocyte sheets using a minipig model. *Biomaterials* **33**(15): 3846-3851, 2012.
- 7) Sato M: Cell sheet technologies for cartilage repair. In: *Regenerative Medicine and Biomaterials for the Repair of Connective Tissues*, p251-265, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, CRC Press LLC, Florida, USA, 2010.
- 8) 佐藤正人ほか: 分子レベルからみた整形外科疾患—シリーズ VIII: 関節軟骨損傷修復のための軟骨細胞シート. *整形・災害外科* **53**(13): 1554-1555, 2010.
- 9) Ito S, et al: Repair of articular cartilage defect with layered chondrocyte sheets and cultured synovial cells. *Biomaterials* **33**(21): 5278-5286, 2012.
- 10) Kokubo M, et al: Characterization of chondrocyte sheets prepared using a co-culture method with temperature-responsive culture inserts. *J Tissue Eng Regen Med*, 2013 Jul 19. doi: 10.1002/term.1764. [Epub ahead of print]
- 11) Hamahashi K, et al: Studies of the humoral factors produced by layered chondrocyte sheets. *J Tissue Eng Regen Med*, 2012 Nov 19. DOI: 10.1002/term.1610. [Epub ahead of print]
- 12) Sato M, et al: An atelocollagen honeycomb-shaped scaffold with a membrane seal (ACHMS-scaffold) for the culture of annulus fibrosus cells from an intervertebral disc. *J Biomed Mater Res A* **64**(2): 248-256, 2003.
- 13) Masuoka K, et al: Tissue engineering of articular cartilage using an allograft of cultured chondrocytes in a membrane-sealed atelocollagen honeycomb-shaped scaffold (ACHMS scaffold). *J Biomed Mater Res B* **75**(1): 177-184, 2005.
- 14) Sato M, et al: Effects of growth factors on heparin-carrying polystyrene-coated atelocollagen scaffold for articular cartilage tissue engineering. *J Biomed Mater Res B* **83**(1): 181-188, 2007.
- 15) Sato M, et al: An experimental study of the regeneration of the intervertebral disc with an allograft of cultured annulus fibrosus cells using a tissue-engineering method. *Spine* **28**(6): 548-553, 2003.
- 16) Sato M, et al: Tissue engineering of the intervertebral disc with cultured annulus fibrosus cells using atelocollagen honeycomb-shaped scaffold with a membrane seal (ACHMS scaffold). *Med Biol Eng Comput* **41**(3): 365-371, 2003.
- 17) 国際出願番号: PCT/JP2006/303759, 国際出願日: 2006年2月28日, 国際公開番号: WO2006/093151, 国際公開日: 2006年9月8日, 出願人: (株)セルシード, 発明者: 佐藤正人ほか.
- 18) Nagai T, et al: Characteristics of a scaffold-free articular chondrocyte plate grown in rotational culture. *Tissue Eng Part A* **14**(7): 1183-1193, 2008.
- 19) Sato M, et al: Recent technological advancements related to articular cartilage regeneration. *Med Biol Eng Comput* **46**(8): 735-743, 2008.
- 20) Nagai T, et al: Optimization of allograft implantation using scaffold-free chondrocyte plates. *Tissue Eng Part A* **14**(7): 1225-1235, 2008.
- 21) Castellanos MV, et al: Chromosomal abnormalities are related to location and grade of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* **12**: 982-985, 2004.
- 22) 厚生労働省発医政1003第3号「ヒト幹細胞臨床研究実施計画について」平成23年10月3日.
- 23) 出願番号: 特許出願2011-260318, 出願日: 2011.11.29, 出願人: 学校法人明治大学, 学校法人東海大学, 株式会社バイオベルテ, 発明者: 長嶋比呂志, 佐藤正人ほか.
- 24) Maehara M, et al: Development of a novel vitrification method for chondrocyte sheets. *BMC Biotechnol* **13**: 58, 2013.



●セルシートエンジニアリング

関節軟骨再生

東海大学医学部 外科学系整形外科学

佐藤 正人

要旨

軟骨細胞シートは、細胞成分が多くマトリックスは少なく、決して正常な軟骨組織に類似したものではないが、組織修復再生に優れた効果を発揮する。細胞シートは関節内にとどまり、損傷部からマトリックス流出を阻止し、関節液中のカタボリックファクターから損傷部を保護し、さらに液性因子を分泌供給し、修復に必要な細胞そのものも動員する。これら一連の組織の修復・再生に適した機能を、細胞シートは有している。現在は厚生労働省の承認のもと、自己細胞によるオーダーメイド的な治療開発のためのヒト幹細胞臨床研究を実施しているが、免疫抑制薬を必要としない同種移植が可能な軟骨では、同種軟骨細胞シートによる治療法を普及させたほうが、将来的には患者への侵襲の大きさや採算性からもメリットは大きいと考える。

はじめに

Langer R と Vacanti J.P. が組織工学と概念を提唱し¹⁾、マウスの背中にヒトの耳を組織工学的に作製して²⁾ 20年以上が経つ。細胞とサイトカインとスキャフォールドがあれば実現できない再生医療はないと誰もが確信するくらいのインパクトがあった。その後 ES 細胞に続き iPS 細胞といった多能性を有する細胞がヒトでも確立され、再生医療

キーワード：細胞シート，関節軟骨，再生医療，ヒト幹細胞臨床研究

への期待は再び大きくなったが、臨床応用への大きなハードルを前に今は反省期にあるのではないかと思う。

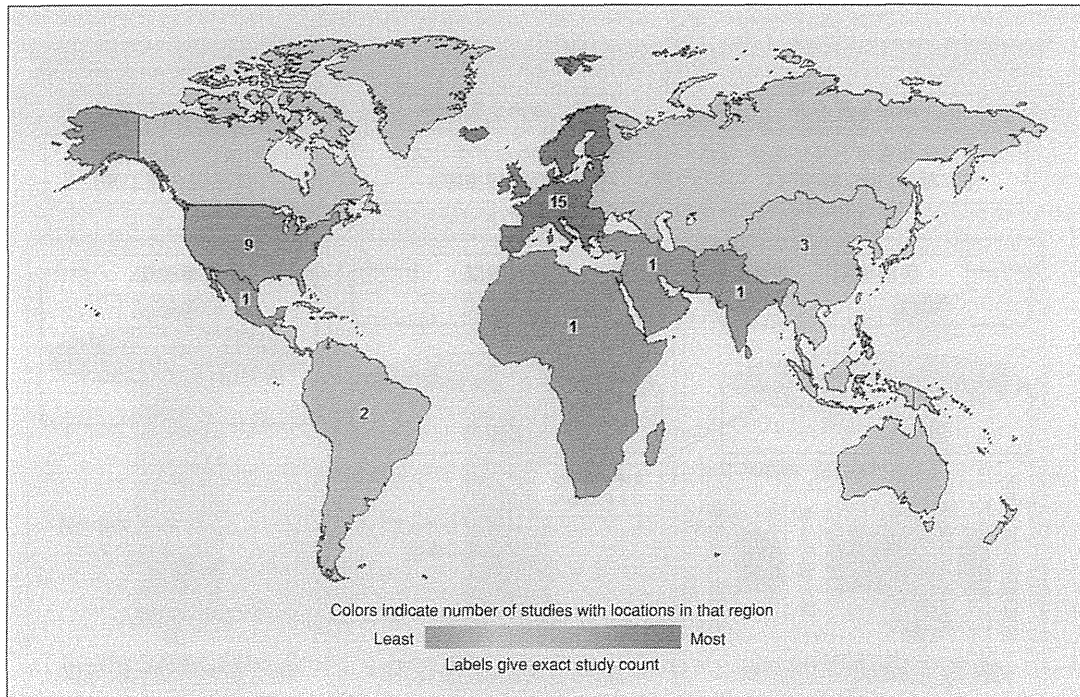
再生医療の普及がいかに難しいかを講演などで説明するときに、筆者はいつも1つの新聞記事を引用する。2002年7月6日のその新聞には普及までの時期が臓器別に掲載されている。そこには、皮膚：2003～2004年、軟骨：2004～2005年、骨：2008～2010年、中枢神経：2010～2012年、角膜：2008年、と具体的に示されている。しかしながら2014年の現在から振り返って確認してみると、普及を保険収載とするのであれば、そこまで至ったものが何件あるかと言うと、皮膚が2009年、軟骨が2013年にそれぞれ保険収載された2件だけである。最終分化した細胞あるいはそれに近い前駆細胞を用いても、臨床応用まで到達しようとした場合にこのような状況である。iPS細胞など3胚葉へ分化可能な多能性のある細胞から再生医療を考えるとき、適切な分化誘導が成されなかった場合の奇形種発生やがん化のリスクが、例えそれが極めてまれであったとしても、常に警戒しなければならないことは言うまでもないが、より多くの時間を費やすであろうことは想像に難くない。多能性を有しながらもがん化リスクのないiPS細胞で完全な分化誘導方法が確立されるまで、同種移植が免疫抑制薬なしで実施可能な軟骨では、同種軟骨細胞は軟骨再生医療を普及させるために、重要なセルソースととらえるべきである。

関節軟骨の再生医療の現状

米国立衛生研究所 (NIH) が管理運営する臨床試験 (治験) の登録サイトである ClinicalTrials.gov において、“cartilage and cell” で検索すると、2014年4月30日現在83件が検索されてくるが、そのうち状況が不明なものを除外し、現在オープンなものは、渉猟しえた限りでは34件となる。内訳は、欧州15件、米国9件、東アジア3件、南米2件などである。残念ながら日本はない (図1)。さらに細胞、組織、組織工学的軟骨移植による関節軟骨の治療法に関するものは20件あるが、その内訳は、自家軟骨細胞、他家軟骨細胞・組織、骨髄間葉系幹細胞、臍帯血由来間葉幹細胞など、さまざまである。

一方、我が国では、新規に細胞移植を実施しようとする場合、2通

図1 NIH臨床試験(治験)登録サイト ClinicalTrials.gov における軟骨再生医療の現状

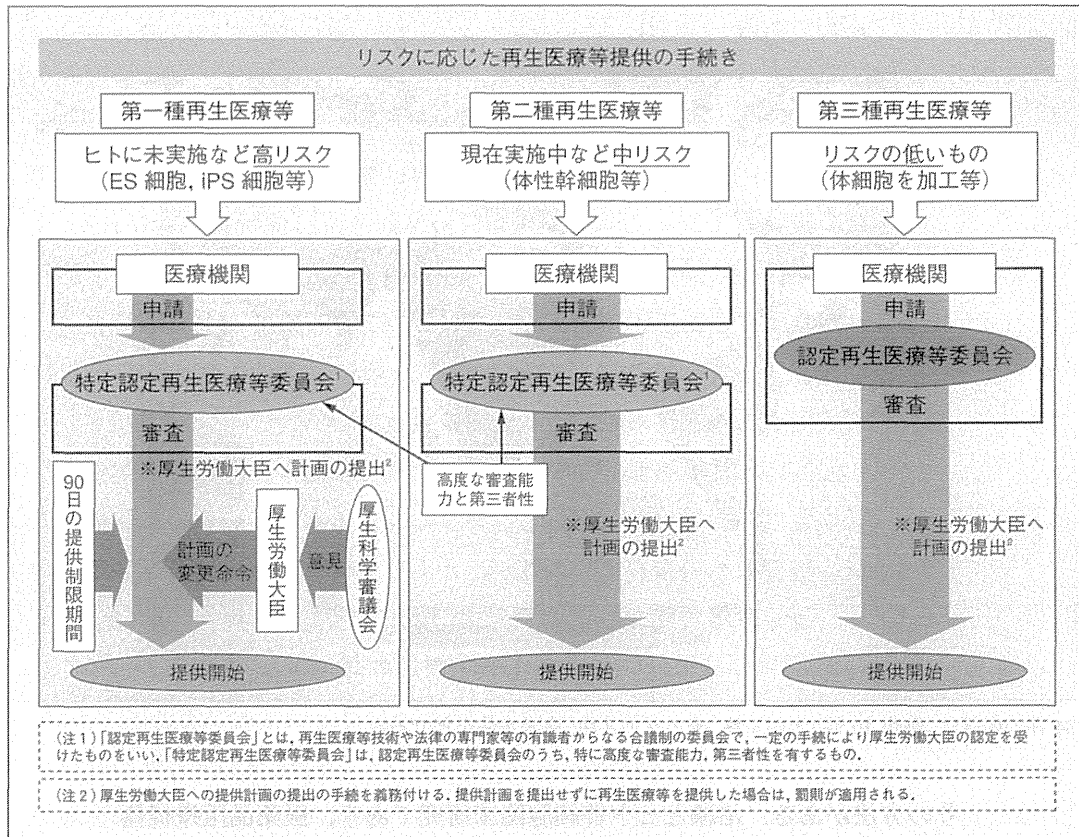


34件の内訳は、欧州15件、米国9件、東アジア3件、南米2件などである。

りの方法がある。治験とヒト幹細胞臨床研究であり、医薬品医療機器統合機構(PMDA)で審査を受けるか、厚生労働省で審査を受けるかであるが、アカデミア発の新規のもので企業スポンサーがないものは、通常、ヒト幹細胞臨床研究を目指すこととなる。実は、再生医療に関しては3つ目の方法として、自由診療下で実施されているものがある。新聞でも取りざたされたように、韓国から自分の細胞を持参して来日し、細胞移植を日本で行い帰国する、というようなシステムを構築した病院と会社があり、死亡事故が起きて大きな問題となった。このような自由診療下で野放しになっていた似非再生医療に関しても、再生医療関連三法律の成立により、届け出が義務づけられるようになったことは歓迎すべきことである。新法成立下では、再生医療など提供の手続きはリスクに応じて実施されることになる(図2)。

さて、厚生労働大臣の意見書の発布をもって実施可能となるヒト幹細胞臨床研究で関節軟骨の再生に関するものは、大阪大学の「自己滑膜間葉系幹細胞由来3次元人工組織移植法」、信州大学の「I型コラ

図2 リスクに応じた再生医療等提供の手続き (厚生労働省審議会資料より)



新法下ではリスクに応じて3種類に分類される。現在自由診療で野放し状態にある似非再生医療も第三種に分類され、厚生労働大臣への提供計画の提出の手續を義務づけられる。提供計画を提出せずに再生医療等を提供した場合は、罰則が適用されることになる。

ゲンを担体とした自己骨髄間葉系細胞移植」、東海大学の「滑膜細胞との共培養法で作製した軟骨細胞シート移植」の合計3件の個別テーマと、広島大学、大阪市立大学、大阪大学、兵庫医科大学、近畿大学が「骨髄間葉系細胞移植」という同一テーマで多施設共同研究を実施中である。他方、ヒト幹細胞臨床研究指針制定以前より、東京医科歯科大学では「滑膜由来細胞移植」の臨床研究を実施しており、これらを合わせると、現在国内では5件の臨床研究が行われていることになる。ほとんどの臨床研究の疾患対象は外傷による軟骨損傷であるが、変性した軟骨にも適用が認められているのは、東海大学で実施している細胞シートによる臨床研究だけである。これは前臨床研究の動物実験で、軟骨部分損傷と骨軟骨損傷（軟骨全層欠損）という変形性膝関

節症でしばしば混在する軟骨損傷型の両方に、治療効果を確認できたためである。

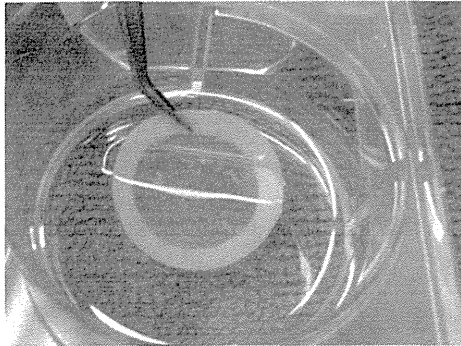
細胞シート工学と関節軟骨への応用

細胞シートは温度応答性培養皿を用いて作製する。細胞シート工学は、東京女子医科大学先端生命医科学研究所(前所長・特任教授 岡野光夫博士)が開発したもので、独自のナノ表面設計により温度応答性ポリマーであるポリ-N-イソプロピルアクリルアミドを器材表面に固定化することで、器材表面は32°Cを境に可逆的に疎水性の細胞接着表面から親水性の細胞遊離表面に変化する³⁾⁴⁾。

温度応答性培養皿で作製した積層化軟骨細胞シートは、通常の2次元培養された培養軟骨細胞とは異なる特性を有している。細胞播種直後の培養皿への接着のし難さが、かえって軟骨本来の形質を導きやすく、通常単層培養で生じる脱分化が生じにくい⁵⁾。我々は細胞シートにたどりつく以前に種々の組織工学的軟骨に関する研究を行ってきた⁶⁻¹¹⁾。当時は、いかに生体に近い硬い軟骨を *in vitro* で創出するか、ということにこだわり続けていた。これらの膨大な動物実験の結果から、我々は関節軟骨の修復再生の場合、表層から浅層部分の修復が最重要で、その部分が再生できれば、それよりも下部の修復は、後から自然に修復されることを確認した。

細胞シートを損傷軟骨表層部に移植すると、ほかの組織工学的軟骨と同等以上の組織修復再生効果を発揮する¹²⁻¹⁶⁾。これは、主として積層化細胞シートが分泌する種々の液性因子(TGF β , PGE2など)による効果と考えられている。積層化細胞シートを構成する軟骨細胞がオートクライン、パラクライン、そしてマトリクライン効果により、多くの液性因子を積層化しただけで大量に分泌するようになり、細胞シートを構成する同数の単離された細胞が、分泌する量の数十倍にもなることが分かっている¹⁷⁾。細胞シートは、当初短期間のうちに関節内で分解されてしまうと予想されていたが、ホタルの生物発光を用いた生体外から移植細胞を追跡可能な *in vivo* tracking imaging により、移植後21ヵ月の膝関節内にも微量だが存在することが明らかとなった¹⁸⁾。細胞シートは関節内に長期間とどまり、損傷部からマトリ

図3 積層化軟骨細胞シート



移植当日 CPC から手術室に搬入された軟骨細胞シート。周りの白い帯状の膜はハンドリングを向上させる PVDF 製のサポートメンブレン。
CPC：セルプロセッシングセンター、
PVDF：ポリフッ化ビニリデン

図4 軟骨細胞シートの移植



移植時は、患部を約 5cm 程切開して、不良肉芽を除去後に骨髄刺激法を施行し、細胞シートをその上に被せるように移植する。縫合することはない。

ックス流出を阻止し、関節液中のカタボリックファクターから損傷部を保護し、さらに自らも液性因子を分泌供給し、修復に必要な細胞そのものも動員する。これら一連の組織の修復・再生に適した機能を細胞シートは有している。

この細胞シートによる治験ならびにヒト幹細胞臨床研究は、すでに関節軟骨以外でも心筋、角膜、食道粘膜、歯根膜、鼓室の6つの異なる分野ですでに開始され、それぞれ再生医療の実現を目指している。臨床応用を考えた場合、いかに患部に有効かつ効率的に届けることができるかが最重要テーマであるが、細胞シートは1つの画期的な解決方法である。

細胞シートによる関節治療を目指した臨床研究

我々が実施しているヒト幹細胞臨床研究は、従来の軟骨再生医療とは一線を画し、日本で初めて変性した膝関節軟骨にも適応が認められたものである¹⁹⁾。現在までに11例がエントリーされ、8例の移植が終了しているが、重篤な有害事象はなく、いずれも術後経過は良好である(図3, 4)。

1. 対象患者

外傷または変性により生じた膝関節軟骨損傷を有する患者。

2. 選択基準

下記の選択基準をすべて満たし、かつ同意能力を有する患者を対象とする。

- ① 20～60歳までの性別を問わない患者。
- ② 膝関節軟骨損傷を有するもの。
- ③ 関節鏡所見で軟骨損傷がOuterbridge分類GradeⅢ以上のもの。
- ④ 膝関節大腿骨内顆または外顆部のいずれかに1.0 cm²以上4.2 cm²未満の軟骨欠損を有し、従来骨髄刺激法やモザイクプラスチックなどが適応となる患者。

3. エンドポイント

- ① 有害事象の頻度
- ② 術後1年での臨床評価基準における点数
- ③ 術後1年での単純X線写真評価基準における点数
- ④ 術後1年でのMRI評価基準における点数
- ⑤ 術後1年での超音波検査による粘弾性評価
- ⑥ 術後1年での組織学的評価点数

臨床研究の詳細は、URL：<http://cellsheet.med.u-tokai.ac.jp/>を参照いただきたい。

自己から同種へ

現在は、ヒト幹細胞臨床研究として少数の患者に自己細胞シート移植を適用し、安全性と有効性をエンドポイントとして評価している段階であるが、自己細胞を用いる場合は、組織採取のための侵襲的な手術とその後に3～4週間かかる培養工程がある。つまり、目の前の患者をすぐに治療することができない。また、自己細胞による手術は、非荷重部の正常軟骨から細胞を単離して確保するため、2回以上の手術は難しい。つまり、再度増悪した場合にもう一度同じ手術を行うことができない。このような問題点を解決するためにも、将来的に同種細胞シートを用いるメリットは大きく、普及も加速するものと確信している。骨・軟骨は昔から同種組織移植が経験的に行われてきたことから分かるように、免疫抑制薬を必要としない数少ない組織の1つである。海外では細かくチップ状にした関節軟骨片がすでに市販され、

実際に臨床で使用可能である。

将来的には、安全性が担保された同種 iPS 細胞から分化誘導された軟骨細胞が臨床で使えるようになれば、もちろん大変魅力的であるが、喫緊に実現可能な同種軟骨細胞ソースを、現在慎重に検討しているところである。軟骨細胞シートの保存法に関する研究も継続し²⁰⁾²¹⁾、臨床の現場で待機期間なく、すぐに使用可能なレディメイドの同種細胞シートによる再生医療の実現に向けた準備を行っている。自己細胞をオーダーメイド的に使用したい、というニーズはもちろんあるとは思いますが、採算性を考慮して、多くの患者を一度に治すためには、軟骨という組織特異性を生かし、同種細胞シートによる治療を一般化させたいと考えている。

おわりに

軟骨細胞シートは、細胞成分が多くマトリックスは少なく、決して正常な軟骨組織に類似したものではないが、組織修復再生に優れた効果を発揮する。いかに優れた細胞であっても、移植する際の形状・形態が再生医療の成否を分ける。細胞シートのような日本の優れた技術を用いて、iPS 細胞や Muse 細胞など、日本発のポテンシャルを有する細胞と共に再生医療を普及させることができれば、と願っている。

文 献

- 1) Langer R, et al: Tissue engineering. *Science* 260: 920-926, 1993.
- 2) Cao Y, et al: Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer-cell construct to produce tissue-engineered cartilage in the shape of a human ear. *Plast Reconstr Surg* 100: 297-302, 303-304, 1997.
- 3) Okano T, et al: Mechanism of cell detachment from temperature-modulated, hydrophilic-hydrophobic polymer surfaces. *Biomaterials* 16: 297-303, 1995.
- 4) Okano T, et al: A novel recovery system for cultured cells using plasma-treated polystyrene dishes grafted with poly (N-isopropylacrylamide). *J Biomed Mater Res* 27: 1243-1251, 1993.
- 5) Mitani G, et al: The properties of bioengineered chondrocyte sheets for cartilage regeneration. *BMC Biotechnol* 9: 17, 2009.
- 6) Sato M, et al: An atelocollagen honeycomb-shaped scaffold with a membrane seal (ACHMS-scaffold) for the culture of annulus fibrosus cells from an intervertebral disc. *J Biomed Mater Res* 64: 249-256, 2003.

- 7) Sato M, et al: An experimental study of the regeneration of the intervertebral disc with an allograft of cultured annulus fibrosus cells using a tissue-engineering method. *Spine* 28: 548-553, 2003.
- 8) Masuoka K, et al: Tissue engineering of articular cartilage using an allograft of cultured chondrocytes in a membrane-sealed atelocollagen honeycomb-shaped scaffold (ACHMS scaffold). *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 75: 177-184, 2005.
- 9) Masuoka K, et al: Tissue engineering of articular cartilage with autologous cultured adipose tissue-derived stromal cells using atelocollagen honeycomb-shaped scaffold with a membrane sealing in rabbits. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater* 79: 25-34, 2006.
- 10) Nagai T, et al: Characteristics of a scaffold-free articular chondrocyte plate grown in rotational culture. *Tissue Eng Part A* 14: 1183-1193, 2008.
- 11) Nagai T, et al: Optimization of allograft implantation using scaffold-free chondrocyte plates. *Tissue Eng Part A* 14: 1225-1235, 2008.
- 12) Kaneshiro N, et al: Bioengineered chondrocyte sheets may be potentially useful for the treatment of partial thickness defects of articular cartilage. *Biochem Biophys Res Commun* 349 (2): 723-731, 2006.
- 13) Kaneshiro N, et al: Cultured articular chondrocytes sheets for partial thickness cartilage defects utilizing temperature-responsive culture dishes. *Eur Cell Mater* 13: 87-92, 2007.
- 14) Ebihara G, et al: Cartilage repair in transplanted scaffold-free chondrocyte sheets using a minipig model. *Biomaterials* 33 (15): 3846-3851, 2012.
- 15) Sato M: Cell sheet technologies for cartilage repair. In: *Regenerative medicine and biomaterials for the repair of connective tissues* (Archer C). p251-265. Woodhead Publishing Limited, CBC Press LLC, 2010.
- 16) Ito S, et al: Repair of articular cartilage defect with layered chondrocyte sheets and cultured synovial cells. *Biomaterials* 33 (21), 5278-5286, 2012.
- 17) Hamahashi K, et al: Studies of the humoral factors produced by layered chondrocyte sheets. *J Tissue Eng Regen Med* 2012 (Epub ahead of print)
- 18) Takaku Y, et al: In vivo cell tracking by bioluminescence imaging after transplantation of bioengineered cell sheets to the knee joint. *Biomaterials* 2199-2206, 2013.
- 19) 厚生労働省発医政 1003 第3号「ヒト幹細胞臨床研究実施計画について」平成23年10月3日.
- 20) 出願番号: 特許出願 2011-260318, 出願日: 2011.11.29, 出願人: 学校法人明治大学, 他, 発明者: 長嶋比呂志, 他.
- 21) Maehara M, et al: Development of a novel vitrification method for chondrocyte sheets. *BMC Biotechnol* 13: 58, 2013.

Cell Sheet Engineering: Articular Cartilage Regeneration

Masato Sato

Department of Orthopaedic Surgery, Surgical Science,
Tokai University School of Medicine

Ⅲ. 次世代骨バイオイメーjing

4. 骨・軟骨イメーjing(光音響を用いて)

Imaging of bone tissue by light and electron microscopy

石原 美弥・佐藤 正人

Miya Ishibara (教授) / 防衛医科大学校医用工学講座

Masato Sato (教授) / 東海大学医学部外科学系整形外科

key words

力学特性
変形性関節症
軟骨再生医療
細胞外マトリックス
パルスレーザー

生体に安全なレーザー光を用いて簡便に力学特性や細胞外マトリックスの性状を評価できる計測技術を開発し、変形性関節症の関節鏡視下診断や細胞シートによる軟骨再生医療の評価に応用している。特に光音響法による力学特性測定法は、原理提案と実証およびオペ場に持ち込めるシステム構築を含めて医工連携に基づき実施した研究により達成された計測技術である。本稿では、光音響法の開発から臨床応用について解説し、撮像対象は異なるが、新しい分子イメーjingとして着目されている光音響イメーjing法についても紹介する。

はじめに

本研究は「医」側からのニーズと「工」側からのシーズのマッチングである医工連携によって成立している。医工融合という表現のほうが相応しいという考えもある。具体的には東海大学医学部整形外科の佐藤正人教授、持田譲治教授が「医」側としてニーズを提供し、筆者が「工」側としてシーズを提案し、提案したシーズが医療現場で実用的に機能するような技術仕様に決め込む。すなわち、風通しのよい連携・融合により、医師が何度も「工」の実験室でシーズを実体験し、「工」が医療現場で必要とされる事項を徹底的に把握し、それを装置開発にフィードバックし改良する。そして改良され

た装置の性能を臨床研究で確認する。これが本研究の根底となっている。

本研究における「医」側のニーズは、変形性関節症の新しい診断法である。疾患本態は軟骨変性に伴う機能破綻であるのに対して、現状は患者の自覚症状やX線写真での関節裂隙の狭小化の程度、そして形態診断を中心とするMRI像による評価がルーチンとなっている。新しい診断法として、関節軟骨本来の機能に基づく客観的指標による診断が求められている。すなわち、関節軟骨本来の機能である力学特性(粘性、弾性、潤滑)と組織性状を正確に計測し定量的に評価することがニーズである。放射線被曝のない手法により侵襲を加えることなく、簡便でリアルタイムに繰り返し診断できる手法が望まれる。

「簡便でリアルタイムに繰り返し診断」を可能とする手段としてバイオイメーjingの分野において進展が著しい光技術が挙げられる。光/レーザー光技術はバイオの分野だけでなく、医療現場に優位に持ち込め、幅広く有効に活用できる。これは次のような特長をもつことによる。

- ・経ファイバー的・経内視鏡的に生体へアプローチが可能。
- ・傷害性のない光/レーザー光を選択することにより、非侵襲的な診断が可能。
- ・高い空間分解能および高い時間分解能の微細治療・診断が可能。

さらに、光技術の生体応用の特徴の一つに、光の生体作用がある。光が照射されると多重散乱と吸収により、光の

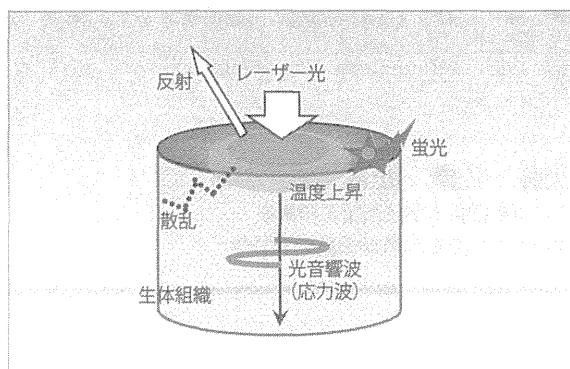


図1 光の生体作用
光熱的作用による温度上昇, 光音響的作用による光音響波発生, 光化学的作用による蛍光発生.
(筆者作成)

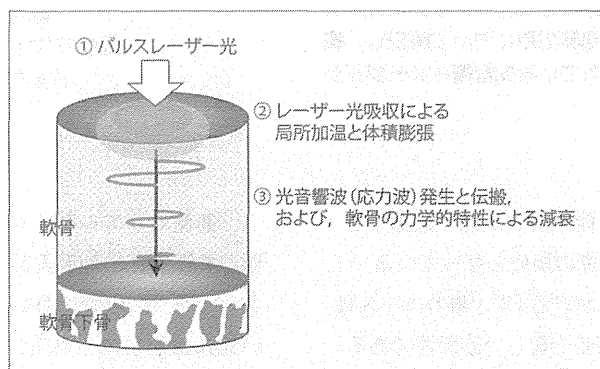


図2 光音響法による力学特性測定原理図
(筆者作成)

強度は光が進む距離に対してほぼ指数関数的に減衰する。そして吸収されたエネルギーは多種多様な作用をする。この生体作用は、光の波長や強度などのパラメータや対象とする生体の光学特性によって決まり、光熱的作用、光音響・光機械的作用、電子励起に伴う直接的な光解離作用、光化学的作用に大別される(図1)。光イメージング技術としてすでに実用化されている光コ

ヒーレンストモグラフィー(Optical coherence tomography: OCT)は散乱現象を、蛍光イメージングは光化学的作用を利用した手法である。もう一つの特徴として、光の波長特性を活かすことが挙げられ、これにより選択的かつ特異的な作用が可能となる。紫外光域では、タンパク質やDNAなどの吸収が大きい。軟組織においては約70%を占める水分は赤外光域において吸収

が大きく、長波長ほど大きくなる。また、血液は可視光域に赤血球中のヘモグロビンによる強い吸収がある。なお関節軟骨の主要成分のうち、コラーゲンは光吸収体として知られている。

力学特性測定原理の提案とシステム構築

光技術をシーズとして関節軟骨の力学特性を測定するために、我々は応力波が組織内を伝播する過程で組織固有の力学特性により減衰する現象に着目した。応力波の減衰時間(τ)が組織の粘性(η)と弾性(G)の比(η/G)に相当するという原理である(図2)。この原理だけでは粘性率や弾性率の絶対値は求められないが、加えたひずみの大きさに依存しない特徴をもつ。前述した光の生体作用の一つである光音響作用を利用すれば、薬剤などを使用せずに特定の条件のパルスレーザー光照射により応力波を発生できる。この着想に基づき、我々は、光音響的作用を利用して発生させた応力波を光音響波とし、光音響波の減衰過程から力学特性を計測する基本原理を提案し²⁾、この基本原理を実現するシステムの構築を目指した²³⁾。システム構築において次の点を重視した。

- ・全体がコンパクトで可搬な装置となること。
 - ・キー要素技術の一つとして、光ファイバーと圧電センサーを一体化させること。
- 特に光ファイバーと圧電センサーを一体化させた光音響プローブは、独自に

設計・試作を繰り返して関節鏡視下に適用できる仕様を徹底追求した。レーザーを導光する光ファイバーを中心にリング上にフィルム状のセンサー素子を配置して、滅菌可能なペン型とした。実際には、ペン型プローブの先端を軟骨に接触してレーザーを1ショット当てるだけで力学特性が取得できるようになっている。なお、使用するレーザーの波長をコラーゲンに吸収する波長に設定すれば、超音響波を用いた力学特性測定法に加えて、コラーゲンが自家蛍光物質であることと自家蛍光は生体内の性状を反映することから、蛍光プローブなどを使用せずに組織性状を評価できる可能性がある⁴⁾⁵⁾。構築したシステムと開発したペン型プローブを図3に示す。

力学特性測定法の原理実証実験として、力学特性を変化させた生体ファントムを測定対象に、超音響法を用いて計測された減衰時間と既存の侵襲的粘弾性分析装置レオメータから得られる物質固有の粘弾性特性値 ($\tan \delta$) に高い相関性があることを示し、提案した方法により力学特性が測定できることを実証した¹⁾²⁾。構築システムの安全性試験として、パルスレーザー照射による軟骨細胞への影響を細胞増殖活性試験により確認した。設定した測定条件よりもパルス数、エネルギーともに過大な条件でも細胞傷害がないことが示された。

変形性関節症への応用

動物実験においては、防衛医科大学校

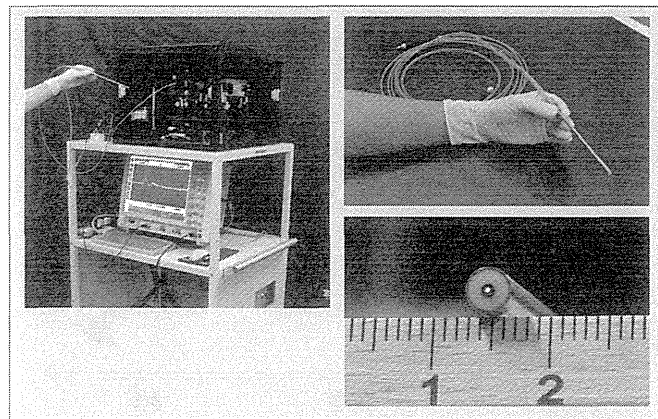


図3 構築したシステム(左)と開発したペン型プローブ(右)
(筆者撮影)

動物倫理委員会と東海大学動物実験倫理委員会の承認を得て、ブタの骨軟骨プラグに酵素処理を施した変性モデルを対象に測定した。その結果、酵素処理時間に応じた変性と超音響法による減衰時間の変化は一致した。臨床研究は東海大学臨床研究審査委員会の承認を得て、ヒト軟骨変性診断法として実施している。人工膝関節置換術の際に入手可能なヒト骨軟骨プラグを対象に測定し、病理切片(サフランin O 染色)の代表的な組織像と比較した例を示す(図4)。減衰時間は短いほうが弾性率が大きいため、組織像による軟骨の変性と減衰時間に相関がある。また、摘出したサンプルを対象に測定した超音響信号の解析から骨の影響を受けずに力学特性が計測できることを確認した³⁾。さらに、超音響波の伝搬時間から軟骨の厚さを算出できることも確認した。すなわち、超音響信号から力学特性と軟骨厚さが評価できることとなる。

関節鏡視下の術中評価として、我々はイメージミキサーを用いて関節鏡モニターに関節鏡の画像と超音響測定結果を提示できるようにした。そして、超音響測定では変性部と周囲の正常部の両方を必ず測定し、関節鏡所見によるOuterbridge分類、術前のMRI画像でのNelson分類、術後の摘出組織の病理組織学的変性度を示すMankin scoreと併せて臨床データを蓄積している⁶⁾。この結果、変形性関節症をはじめとする軟骨変性を伴う運動器疾患の詳細な病態把握と予後診断が可能となり、個々の患者の病態に応じたきめ細かな治療計画が立てられるようになればと考えている。

軟骨再生医療への応用

運動器疾患の新しい治療として軟骨再生医療が着目されている。組織工学的に作製したいわゆる再生軟骨の評価は移植において重要であるが、従来の

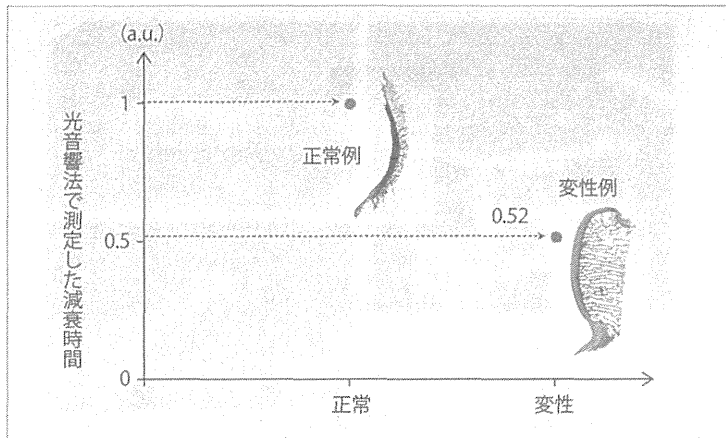


図4 人工膝関節置換術で摘出したヒト骨軟骨プラグを対象に測定した結果と病理切片像
 正常の場合の測定値を1として変性値を算出した。

→ 巻頭 p.32 カラー㉓ 参照

生化学的, 分子生物学的な分析による評価法は再生組織の一部をサンプルとして提供しなければ評価できない, したがって, 非侵襲的な手法で一連の工程を繰り返し評価できることが望ましい。

そこで我々は, 組織工学的手法を用いて作製した培養軟骨組織を対象に開発した光音響法による力学特性測定法を適用した。東海大学医学部整形外科の佐藤正人教授らが開発した培養担体を用いた三次元培養の測定例を示す(図5)。培養期間をパラメータとすると, 培養期間が長くなるにつれて正常軟骨の値に近づいた。計測した培養軟骨組織の細胞外マトリックスを生化学的に分析したところ, 粘弾性値の経時変化とコラーゲン量, コンドロイチン硫酸量の変化には相関係数0.9以上が得られ, 細胞外マトリックスの構築過程を反映した力学特性であると考えられる⁷⁾。

現在は, 2011年にヒト幹細胞臨床研究として厚生労働省に承認された東海大学における細胞シートによる関節治療を目指した臨床研究において, 術前および術後1年の関節鏡検査時の評価を実施している⁸⁾。

一方, 関節軟骨の再生医療では本来の硝子軟骨組織ではなく, 線維軟骨組織として再生されてしまうことがしばしば問題となっている。我々はすでに硝子軟骨に多いⅡ型コラーゲン, 線維軟骨に多いⅠ型コラーゲン, コラーゲンとともにエラスチンを多く含んでいる弾性軟骨の時間分解自家蛍光スペクトルから得られるスペクトル情報と蛍光寿命がコラーゲンの分子種で異なること検証している。加えて, 培養条件

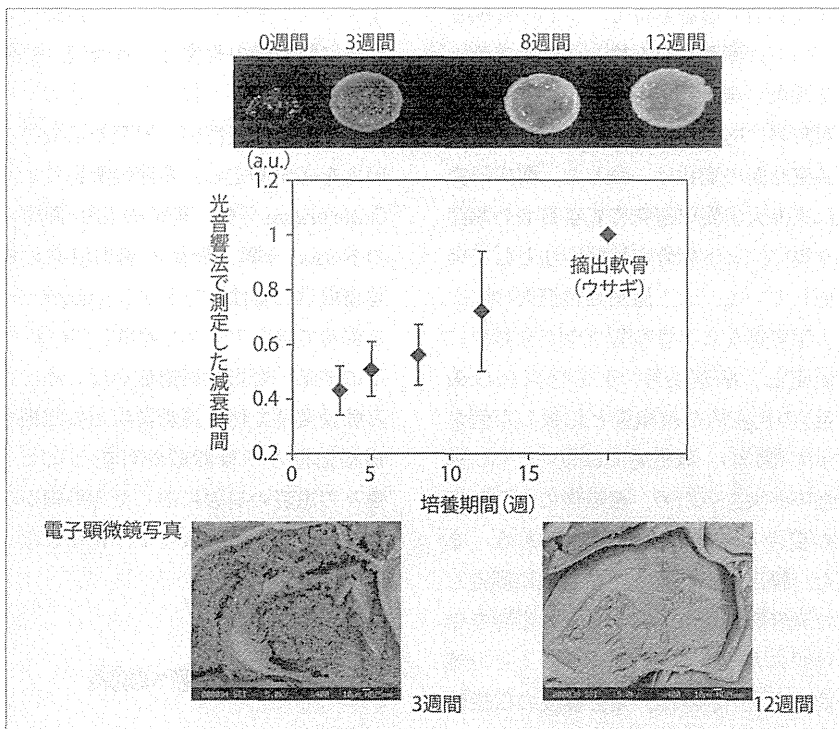


図5 再生軟骨を対象とした測定結果と写真および電子顕微鏡写真
 ウサギの膝関節軟骨を摘出して測定した値を1として算出した。

→ 巻頭 p.32 カラー㉔ 参照
 (文献7)より改変引用)

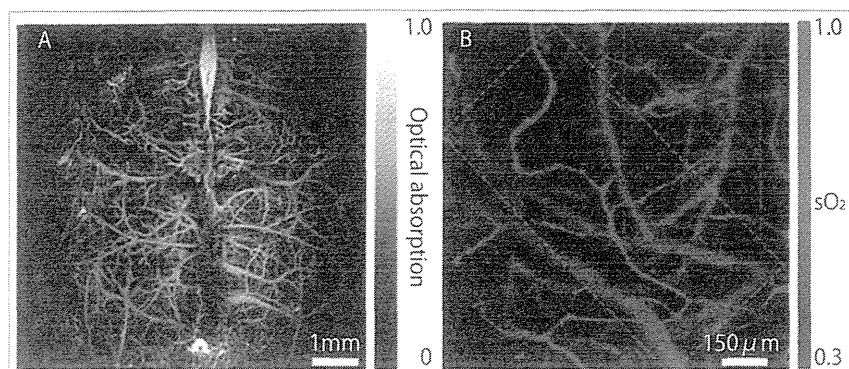


図6 光音響法による微細血管網イメージング例

A: マウス大脳皮質, B: マウス脳内の血中酸素飽和度マッピング.

→ 巻頭 p.32 カラー㉔参照
(文献9)より引用)

の異なる再生軟骨の自家蛍光は軟骨組織の細胞外マトリックスの生化学的組成に関する成熟度の指標となることを示した⁹⁾.

以上のように、光音響法と自家蛍光測定法を組み合わせ、関節軟骨本来の機能である力学特性と組織性状を同一のレーザー光源と光ファイバーを用いて評価できることが示された。光/レーザー光技術を取り入れると一度に複数の情報が得られる利点がある。

イメージング技術としての光音響法

前述した光音響法はプローブ面の平均値のポイント計測であり、イメージングには至っていない。センサーの阵列化やスキャンをすることによりイメージングが可能となるが、関節鏡視下の困難さがあるため、血管内超音波エコーの技術をヒントに今後の課題となっている。

光音響信号を利用したイメージングとしては、レーザーの波長を血液中のヘモグロビンの吸収に設定した血管画像に関する内容が先行している。光音響画像では体表からのアプローチで、主要な血管から微細な血管まで精細な血管網をコントラストよく描出できる(図6)⁹⁾。励起波長を複数にするマルチスペクトル化をすれば異なる吸収スペクトルの光吸収体はその吸収特性の差異を利用することにより識別できる。すなわち、光の波長パラメータを利用して複数の情報が得られる利点がある。1例として、酸素化ヘモグロビン(HbO₂)と脱酸素化ヘモグロビン(Hb)が異なる光吸収特性をもつことを利用した血中酸素飽和度の分布画像がある。光音響画像は光吸収に伴って発生する超音波を検出して再構成される画像であるため、光超音波画像とも呼ばれる。英語表記では、PhotoacousticおよびOptoacousticの両方が使われて

いる。装置を構成するハードウェアの仕様により、細胞内小器官から細胞、組織、臓器をイメージング対象とできるため¹⁰⁾、顕微鏡画像から医用画像まで幅広い応用が可能であり、今まさに世界的に研究が著しく進展しているイメージング技術である¹¹⁾。まだ基礎研究であるが、リウマチなどの骨軟骨疾患への適用が検討されている¹²⁾¹³⁾。

文献

- 1) Ishihara M, Sato M, Sato S, et al: Viscoelastic characterization of biological tissue by photoacoustic measurement. *J Applied Physics* **42** (5B): 556-558, 2003
- 2) Ishihara M, Sato M, Kaneshiro N, et al: Development of diagnostic system for osteoarthritis using the photoacoustic measurement method. *Lasers Surg Med* **38** (3): 249-255, 2006
- 3) Sato M, Ishihara M, Kikuchi M, et al: A diagnostic system for articular cartilage using non-destructive pulsed laser irradiation. *Lasers Surg Med* **43** (5): 421-432, 2011
- 4) Ishihara M, Sato M, Mitani G, et al: Monitoring of extracellular matrix formation using nanosecond pulsed laser. *IEEJ Transactions on Electronics, Information and Systems* **127** (12): 2166-2170, 2007
- 5) Kutsuna T, Sato M, Ishihara M, et al: Noninvasive evaluation of tissue engineered cartilage with time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy. *Tissue Engineering Part C: Methods* **16** (3): 365-373, 2010
- 6) Tani Y, Sato M, Yokoyama M, et al: Diagnosis for degenerative articular cartilage using non-destructive