

P8. 座ったり横になったりするとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

P9. まっすぐ立っているとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

**身体機能、日常生活について**

以下は、あなたの身体的な機能に関する質問です。“自分で動き、自分のことをやれるか”についてお聞きします。

最近の一週間で、あなたの膝のために、次の活動が「どの程度困難であったか」を、考えて答えて下さい。

A1. 階段を降りるとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A2. 階段を昇るとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A3. イスから立ち上がる時

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A4. 立っているとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A5. 膝を曲げ、床からものを拾うとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A6. 平坦なところを歩くとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A7. 車の乗り降りの際

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A8. 買い物に行くとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A9. 靴下やストッキングをはくとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A10. ベッドや布団から立ち上がる時

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A11. 靴下やストッキングをぬぐとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A12. 寝ているとき（寝返りをうったり、膝の位置を保持したりする）とき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A13. お風呂に入ったり出たりするとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A14. 椅子に座っているとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A15. 洋式トイレの立ち座りのとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A16. 重労働の家事（重い箱を持つ、床の雑巾がけなど）のとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

A17: 軽い家事（料理、簡単な拭き掃除など）のとき

全くない	軽度	中程度	強い	非常に強い
<input type="checkbox"/>				

**身体機能、スポーツとレクリエーション活動について**

ここでは、より高いレベルの活動に関する質問をします。

最近の一週間で、あなたの膝のために、次の活動が「どの程度困難であったか」を、考えて答えて下さい。

SP1. シャガみこむとき

全くない      軽度      中程度      強い      非常に強い  
                       

SP2. 走るとき

全くない      軽度      中程度      強い      非常に強い  
                       

SP3. 跳ぶとき

全くない      軽度      中程度      強い      非常に強い  
                       

SP4. 怪我した方の膝（痛い方の膝）で、ひねったり方向転換するとき

全くない      軽度      中程度      強い      非常に強い  
                       

SP5. 膝立ちをするとき

全くない      軽度      中程度      強い      非常に強い  
                       

**生活の質について**

Q1. どの位の頻度で膝に問題を感じますか？

全くない      ほぼ毎月      ほぼ毎週      ほぼ毎日      常を感じる  
                       

Q2. あなたは膝に負担がかからないように、生活様式をどの程度変えていますか？

全く変えていない      少し      中位      かなりの部分      完全に变えている  
                       

Q3. あなたの膝に、どの程度の不安を感じていますか？

全く感じない      少し      中位      強く      かなり  
                       

Q4. 全体として、あなたの膝はどの程度の問題がありますか？

全く無い      少し      中位      強く      かなり  
                       

アンケートご協力有り難うございました。

記入日：平成 年 月 日

お名前： \_\_\_\_\_ ( ID: \_\_\_\_\_ )

ここ数日の膝の痛みについて伺います。下の例のように数字に○をつけてください。

**例**

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

痛みが全くない                      少し痛い                      かなり痛い                     我慢できないほど痛い

1. 平地を歩くときの膝の痛みの程度はどれくらいですか？ 数字に○をつけてください。

右ひざ

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

痛みが全くない                      少し痛い                      かなり痛い                     我慢できないほど痛い

左ひざ

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

痛みが全くない                      少し痛い                      かなり痛い                     我慢できないほど痛い

2. じっとしているときの膝の痛みどれくらいですか？ 数字に○をつけてください。

右ひざ

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

痛みが全くない                      少し痛い                      かなり痛い                     我慢できないほど痛い

左ひざ

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

痛みが全くない                      少し痛い                      かなり痛い                     我慢できないほど痛い

3. 朝の動き出しのときの膝の痛みはどれくらいですか？ 数字に○をつけてください。

右ひざ

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

痛みが全くない                      少し痛い                      かなり痛い                     我慢できないほど痛い

左ひざ

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

痛みが全くない                      少し痛い                      かなり痛い                     我慢できないほど痛い

4. 階段を歩くときの痛みはどれくらいですか？ 数字に○をつけてください。

右ひざ

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

痛みが全くない                      少し痛い                      かなり痛い                     我慢できないほど痛い

左ひざ

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

痛みが全くない                      少し痛い                      かなり痛い                     我慢できないほど痛い

5. スポーツをしていますか？ ( はい ・ いいえ )

(スポーツの種類 \_\_\_\_\_ パフォーマンス \_\_\_\_\_ %)

はいと答えた方 … スポーツをするときの痛みはどれくらいですか？ 数字に○をつけてください。

右ひざ

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

痛みが全くない                      少し痛い                      かなり痛い                     我慢できないほど痛い

左ひざ

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

痛みが全くない                      少し痛い                      かなり痛い                     我慢できないほど痛い

記入日：平成 年 月 日

お名前： \_\_\_\_\_ ( ID: \_\_\_\_\_ )

- ◆あなたの膝についての評価はどれくらいですか？ 0～100までの数字でお答えください。  
(まったく不満足なら0% とても満足なら100%)

右ひざの評価(%)	左ひざの評価(%)

- ◆階段を歩く時に不安定感を感じますか？ (不安定感が全くなければ0点、強ければ10点)

右ひざ										
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
不安定感 が全くない			少しある			かなりある				非常に 強くある

左ひざ										
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
不安定感 が全くない			少しある			かなりある				非常に 強くある

- ◆ここ数日の膝の痛みについて伺います。それぞれの質問で、□にひとつチェックしてください。

		痛くない	少し痛い	中等度痛い	かなり痛い	ひどく痛い
平らな所をあるときの痛み	右	<input type="checkbox"/>				
	左	<input type="checkbox"/>				
じっとしているときの痛み	右	<input type="checkbox"/>				
	左	<input type="checkbox"/>				
朝の動き始めの痛み	右	<input type="checkbox"/>				
	左	<input type="checkbox"/>				
スポーツ中の痛み	右	<input type="checkbox"/>				
	左	<input type="checkbox"/>				
階段を歩く時の痛み	右	<input type="checkbox"/>				
	左	<input type="checkbox"/>				

- ◆現在、膝のことで気になっていることを教えてください (自由にご記入ください)。

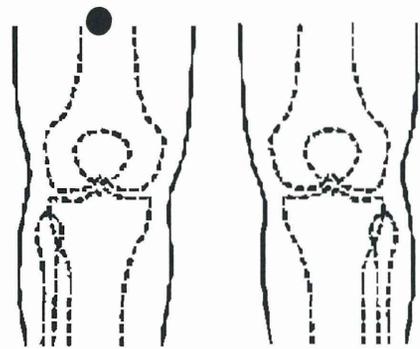
右膝について
左膝について

# ACL & Meniscus Chart for Stem Cell Therapy (13.12.17 ~)

氏名 殿(M/F) 歳  
Hospital TMDU ID  
評価日  
病名  
手術日  
術式  
術前・術後 年 ヶ月  
受傷日 原因  
再受傷日 原因  
再手術日 術式

受傷側 R / L

△知覚障害 (-, +) 圧痛 × (-, +)



領域 縦 cm 横 cm

Rt Lt  
△Hip IR/ER ( ° / ° ) ( ° / ° )

●発赤 (-, ±, +, 2+) (-, ±, +, 2+)  
●水腫 (-, ±, +, 2+) (-, ±, +, 2+)  
●熱感 (-, ±, +, 2+) (-, ±, +, 2+)  
●ROM 伸展/屈曲 伸展/屈曲  
° / ° ° / °

伸展不全感 (-, ±, +) (-, ±, +)

HHD cm

正座 (可能, 困難, 不可, していない)

強制伸展時不安 (-, ±, +) (-, ±, +)

強制伸展時痛 (-, ±, +) (-, ±, +)

部位 (前, 中, 後/内, 中, 外) (前, 中, 後/内, 中, 外)

強制屈曲時痛 (-, ±, +) (-, ±, +)

部位 (前, 中, 後/内, 中, 外) (前, 中, 後/内, 中, 外)

## ●Laxity

Lachman (stiff, -, ±, +, 2+) (stiff, -, ±, +, 2+)

End Point (骨, 中, 軟, 無) (骨, 中, 軟, 無)

ADT (-, ±, +, 2+) (-, ±, +, 2+)

Pivot shift (-, ±, +, 2+) (-, ±, +, 2+)

fear (-, ±, +) (-, ±, +)

内側 Pain (-, ±, +) (-, ±, +)

外側 Pain (-, ±, +) (-, ±, +)

内反 0° (-, ±, +, 2+) (-, ±, +, 2+)

30° (-, ±, +, 2+) (-, ±, +, 2+)

外反 0° (-, ±, +, 2+) (-, ±, +, 2+)

30° (-, ±, +, 2+) (-, ±, +, 2+)

Sagging (-, ±, +, 2+) (-, ±, +, 2+)

PDT (-, ±, +, 2+) (-, ±, +, 2+)

△AM/PL rotatory instability (fear, °)

30° (-, ±, +) ( ° ) (-, ±, +) ( ° )

90° (-, ±, +) ( ° ) (-, ±, +) ( ° )

△PF 他動/自動 他動/自動

Pain (-, ±, +/-, ±, +) (-, ±, +/-, ±, +)

Crepitus (-, ±, +/-, ±, +) (-, ±, +/-, ±, +)

P.T. Td (-, ±, +) (-, ±, +)

IFP Td (-, ±, +) (-, ±, +)

Apprehension (-, ±, +) (-, ±, +)

△Girth(10) cm cm

●McMurray Rt Lt

内側 Pain (-, ±, +) (-, ±, +)

内側 Click (-, ±, +) (-, ±, +)

外側 Pain (-, ±, +) (-, ±, +)

外側 Click (-, ±, +) (-, ±, +)

Joint crepitus (-, ±, +) (-, ±, +)

●MJSTd(前, 中, 後, 無) (前, 中, 後, 無)

LJSTd(前, 中, 後, 無) (前, 中, 後, 無)

●KT-1000:30° R 30° L △70° R 70° L

lbs ( ) ( ) ( ) ( )

Max ( ) ( ) ( ) ( )

-Max ( ) ( ) ( ) ( )

△IKDC [A:Normal, B:Nearly Normal,

C:Abnormal, D:Sev.Abnorm.]

knee function[A,B,C,D]giving way[A,B,C,D]

How does knee affect activity level?[A,B,C,D]

●Lysholm score : Total ( ) [IKDC]

Limping (5,3,0)

Walker (5,2,0)

Swelling (10,6,2,0) [A,B,C,D]

Blockage (15,10,6,2,0)

Squatting (5,4,2,0)

Instability (25,20,15,10,5,0)

Stairs (10,6,2,0)

Pain (25,20,15,10,5,0) [A,B,C,D]

△OLHop test cm cm ( %)

不安感 (-, ±, +) (-, ±, +)

●Cybex (60° /s)

Ext/Flex ( / ) ( / )

患健側比 Ext. ( % ) Flex. ( % )

●スポーツ

種目 レベル Tegner 所属

術前 ( ) (競技, ㄱ) ( ) ( )

術後 ( ) (競技, ㄱ) ( ) ( )

復帰時期と復帰内容・パフォーマンス%

頻度 ( )回/week、 ( )時間/week

●自覚的回復度 点

足りない部分

## II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）  
分担研究報告書

「MRI 画像の 3 次元解析による半月板の評価」

研究分担者

宗田大 東京医科歯科大学・大学院・運動器外科 教授

研究要旨

平成 26 年度は、臨床研究「半月板縫合後の滑膜幹細胞による治癒促進」の予定症例数の 5 例に滑膜幹細胞移植を終了した。本臨床研究は安全性の評価を目標としているが、将来的には有効性の評価も必要であり、その評価項目を探索するために MRI 画像診断を実施した。3.0 テスラ MRI で撮影した 3D 等方性ボクセルの MRI 画像を精査した結果、臨床研究 5 症例のいずれにも、軟骨過形成、腫瘍化、関節内遊離体は認められず、MRI 画像診断は安全性の評価に有益であった。また、3D 等方性ボクセルの MRI 画像から半月板の 3 次元画像を再構成して、半月板の断裂の状態や体積等を経時的に解析した。MRI の 3 次元解析は予想していたよりも良く半月板損傷の病態を捉えることができた。半月板損傷では関節鏡による再鏡視が難しいのが現状であるが、MRI の 3 次元解析は侵襲を伴わずに半月板の状態を評価するのに有用と思われた。

A. 研究目的

MRI は精度・客観性と低侵襲性の観点から膝関節の評価方法として臨床現場において中心的な役割を担っている。近年 3.0 テスラの超高磁場 MRI 機器の導入や、撮像シーケンスの開発により、半月板や関節軟骨の詳細な評価が可能となってきた。また再生医療分野・組織再生における有効性評価技術開発ワーキンググループが作成した再生軟骨に対する評価法の指針によると、臨床評価として疼痛・臨床症状・機能評価・組織評価とともに MRI が記されており、MRI を用いた評価が重視されている。MRI の評価方法については詳細な解析が求められており、3.0 テスラ機器により撮影された高解像度の画像による評価が推奨されている。また軟骨組織の細胞外マトリックス（コラーゲン、グリコサミノグリカンなど）

の変化を定量的に評価できることが可能な質的 MRI（T1rho マッピング、T2 マッピング）による評価も推奨されている。質的 MRI による評価は再生医療の実現化ハイウエイの研究テーマとして実施中であるので、本研究では 3.0 テスラ MRI による 3 次元等方性ボクセル撮像法による評価の検討を目的とした。

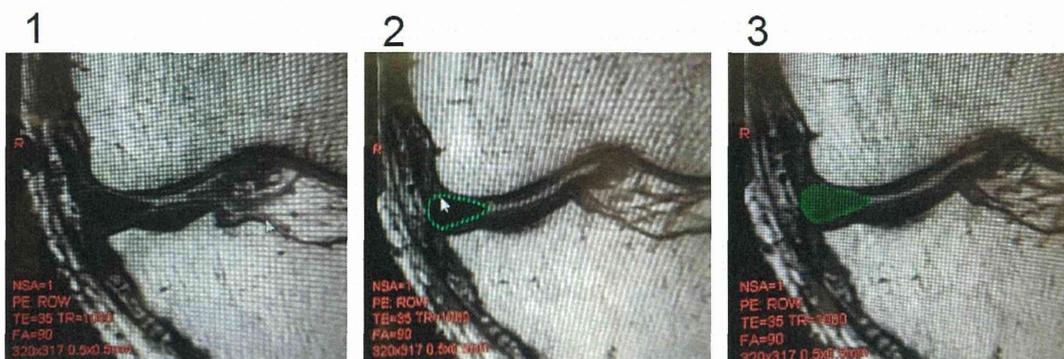
B. 研究方法

術前および術後 12 週、24 週時に MRI 画像診断を実施した。3.0 テスラ MRI（Achieva、フィリップス社、米国）、膝関節コイル（フィリップス社）を用いた。シーケンスは膝関節の解剖学的構造を把握することが可能なプロトン強調画像と関節軟骨の評価のための 3DmGRE (fat-suppressed three-dimensional multi-echo gradient recalled echo sequence)

の2種類を用い3D 等方性ボクセル画像を撮像した。3D 等方性ボクセルによる画像はワークステーション上で任意の断面に画像の劣化なく再構成することが可能である。また我々はその画像データをもとに、治療を行った内側半月板の3次元画像を作成し、半月板の断裂の状態や体積等を経時的に解析した。

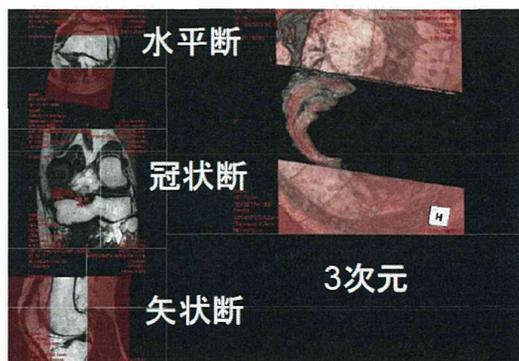
3D 等方性ボクセル画像から、半月板の3次元画像（立体画像）の再構成は、以下のような手順で行った。

- ① 3D 等方性ボクセルのMRI 画像を用意する。シーケンスはPDW (T1 とプロトン強調の中間の画像、画像枚数 320 枚のもの) を使用する。
- ② ソフトウェア Ziostation2 (ザイオソフト社) のなかの 3D 解析のアプリケーションを使用する。
- ③ 4 画面分割にして、矢状断を半月板の前節・後節が綺麗に見える状態にあわせる。
- ④ 冠状断の画像で半月板を拡大する。
- ⑤ 矢状断の画像を見ながら前方 (前角) からフリーライン (図 2 緑線) で囲んでいく (図 1-3)。
- ⑥ 320 枚の画像に対して、3 スライスごとに③から⑤の操作を行う。
- ⑦ 「フリーラインで囲った箇所を残す」という操作により、選択した箇所が残る (図 4)。
- ⑧ プリセットによりレンダリング (配色をどの輝度に設定するか) を設定する。
- ⑨ 半月板の存在しないその前方と、後方のスライスについては、平面カットの操作により水平断画像上で削除する (図 5)。
- ⑩ 物体選択を用い、半月板を選択し、「選択した物体を残す」という操作で、半月板以外の余計な部分を削除する (図 6)。
- ⑪ マスク表示をクリック。残った箇所が赤く表示される。冠状断、矢状断画像両方で軟骨などの周囲組織が選択されていないか確認する。
- ⑫ その他、マークを 2D 画像へあわせる。半月板の輝度 (value) をみて、大まかな半月板の輝度範囲を確認し、その後大腿骨の輝度も確認する。
- ⑬ WL, WW の調整 (SH は 50 で固定)。レンダリングを調整する。骨の輝度 (value) を基準に調整する。オパシティー (不透明度) カーブの形状は左下がり。
- ⑭ 作成した画像を記録する (図 7)。作成条件を記録する。
- ⑮ 選んだボクセル数で体積 (単位 cc) は自動的に計算される。

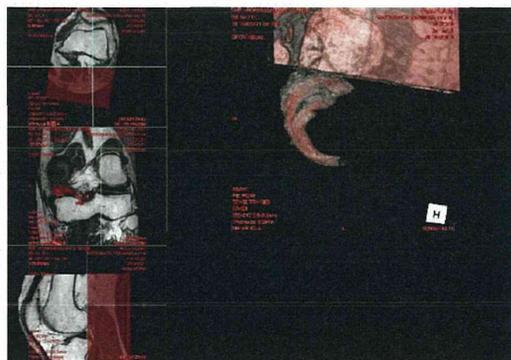


3D 等方性ボクセルのMRI 画像から半月板の3次元像作成の手順 (図 1～図 3)

4



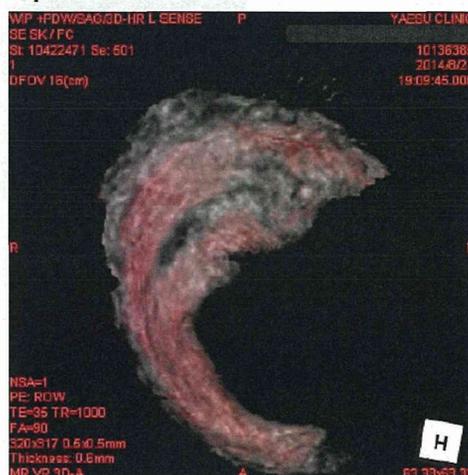
5



6



7



3D 等方性ボクセルの MRI 画像から半月板の 3 次元像作成の手順 (図 4~図 7)

### (倫理面への配慮)

臨床研究「半月板縫合後の滑膜幹細胞による治癒促進」は東京医科歯科大学医学部ヒト幹細胞倫理審査委員会の承認を得て実施した。また、ヒト幹細胞を用いる臨床研究として厚生労働大臣の了承を得て実施した。分担する研究に関してもその中の一部として含有されている。

## C. 研究結果

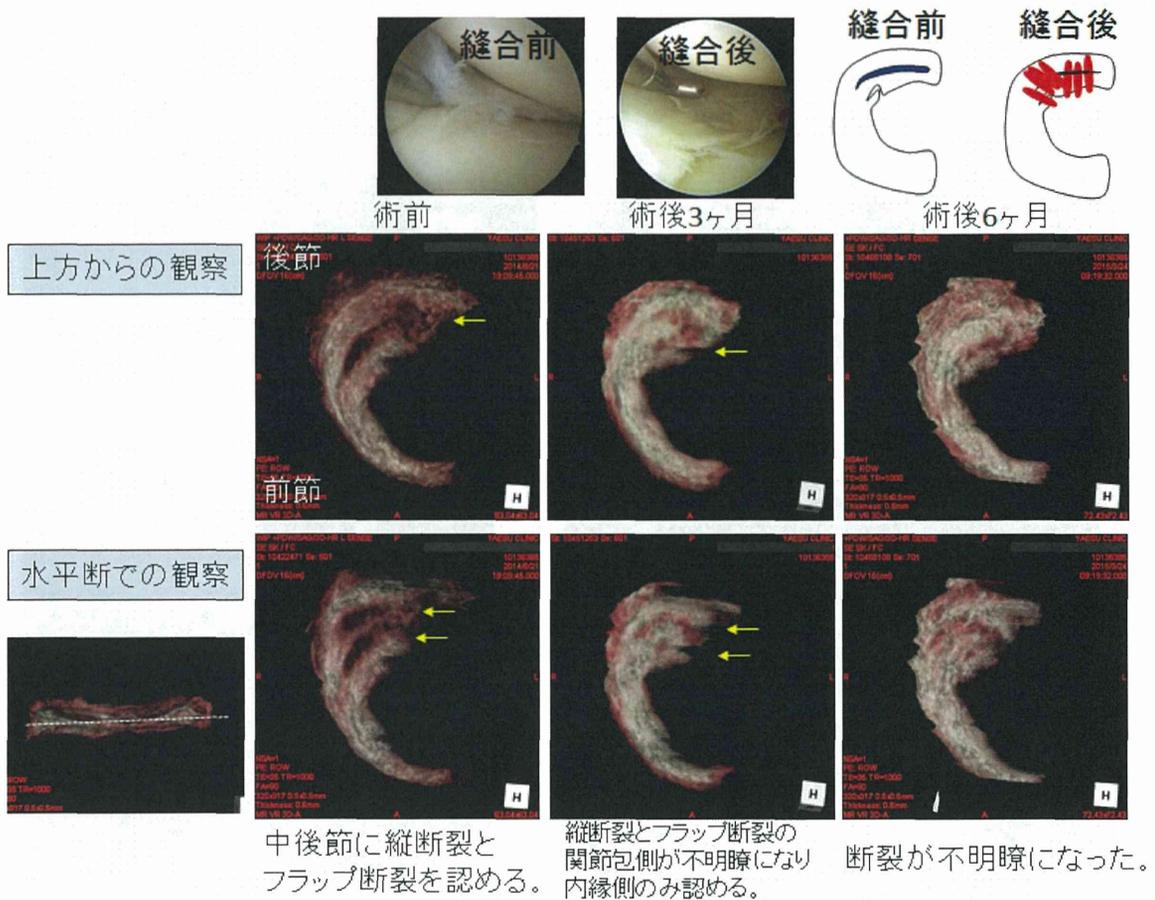
### 1. MRI による安全性の評価

3.0 テスラ MRI で撮影した 3D 等方性ボクセルの MRI 画像を精査した結果、臨床研究 5 症例のいずれにも、軟骨過形成、腫瘍化、関節内遊離体の所見は認められなかった。骨棘形成

に関しては、2 例では術前から認められたが、経過観察中に骨棘の増大は認められなかった。他の 3 例に骨棘形成の所見は認められなかった。

### 2. 有効性評価項目の探索として実施した MRI 解析の結果

3 次元で再構成した立体画像を用いて縫合、滑膜幹細胞移植を行った内側半月板の損傷部(縫合部)の評価を行った。5 例全例で損傷部の癒合傾向を認め、術後 12 週の時点で再断裂を疑う所見は認められなかった。以下に 3 次元解析の 1 例を示した。



#### D. 考察

関節疾患の評価法として、患者の主観的な評価、身体診察以外では画像評価が重要である。MRIはX線やCTでは評価が困難な関節軟骨、半月板、骨髄、靭帯、関節液などの病変の検知が可能であり、有用である。しかし、MRIは使用するハード、ソフトにより画像の質が施設により大きく異なる。我々は八重洲クリニック及び埼玉医大放射線科新津守教授の協力で、膝関節疾患の評価に適したシーケンスを本研究で用いている。安全性評価において軟骨過形成や微小な骨棘の増大など単純X線では評価困難な事象について高精度な評価が可能であると考える。

今回の臨床研究では3D等方性ボクセル画像データから半月板の3次元画像（立体画像）を作成して損傷部の経過を評価した。本研究では比較対象となるコントロール（細胞移植を行わず縫合術のみ行う患者）がおかれていないため、有効性の評価はできないが、早期の再断裂例は存在しないという結果は、本研究の対象患者が再断裂のリスクが高い半月板損傷であることを考えると膝関節外科医の見地から、その有効性について期待のもてる結果であった。今後さらなる経過観察で治療成績を明らかにしていきたい。

本研究の背景として、半月板縫合術の適応である辺縁部の断裂でも再断裂のリスクが高い

のが現状で、滑膜幹細胞移植を行うことにより、再断裂のリスクを低減し、臨床成績を向上させることを目的としている。有効性の評価として再断裂率も候補になるが、これには少なくとも3年以上を要し、治験の有効性の評価項目としては難しいと思われる。また、半月板損傷では関節鏡による再鏡視が難しいのが現状であるが、今年度MRIの3次元解析に取り組み、予想していたよりも良く半月板損傷の病態を捉えることができるという印象を持った。今後は3次元解析の方法を詰めていく予定である。また、縫合術のみ行われた半月板の解析と比較を行い、細胞移植により治癒が促進されるか3次元MRI画像による形態的な評価を行う予定である。

## E. 結論

MRI画像診断は安全性の評価に有益であった。また、MRIの3次元解析は予想していたよりも良く半月板損傷の病態を捉えることができ、将来的に有効性の評価をするのに有用と思われた。

## F. 健康危険情報

報告すべき健康被害、健康危険情報は無い。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

国際誌

1. Sekiya I, **Muneta T**, Horie M, Koga H. Arthroscopic Transplantation of Synovial Stem Cells Improves Clinical Outcomes in Knees with Cartilage Defects. *Clin Orthop Relat Res*. Published online 30 April, 2015

2. Otabe K, Nakahara H, Hasegawa A, Matsukawa T, Ayabe F, Onizuka N, Inui M, Takada S, Ito Y, Sekiya I, **Muneta T**, Lotz M, Asahara H. Transcription factor Mohawk controls tenogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in vitro and in vivo. *J Orthop Res*. 33(1);1-8, 2015
3. Nakagawa Y, **Muneta T**, Kondo S, Mizuno M, Takakuda K, Ichinose S, Tabuchi T, Koga H, Tsuji K, Sekiya I. Synovial mesenchymal stem cells promote healing after meniscal repair in microminipigs. *Osteoarthritis Cartilage*. Feb 13 2015 Epub ahead of print
4. Matsukura Y, **Muneta T**, Tsuji K, Miyatake K, Yamada J, Abula K, Koga H, Tomita M, Sekiya I. Mouse synovial mesenchymal stem cells increase in yield with knee inflammation. *J Orthop Res*. 33(2); 246-253, 2015
5. Hatsushika D, **Muneta T**, Nakamura T, Horie M, Koga H, Nakagawa Y, Tsuji K, Hishikawa S, Kobayashi E, Sekiya I. Repetitive allogeneic intraarticular injections of synovial mesenchymal stem cells promote meniscus regeneration in a porcine massive meniscus defect model. *Osteoarthr. Cartil*. 22(7); 941-950, 2014
6. Okuno M, **Muneta T**, Koga H, Ozeki N, Nakagawa Y, Tsuji K, Yoshiya S, Sekiya I. Meniscus regeneration by syngeneic, minor mismatched, and major mismatched transplantation of synovial mesenchymal stem cells in a rat model. *J. Orthop. Res*. 32(7);

928-936, 2014

著書

なし

国内雑誌

1. 中川裕介, 関矢一郎, 川端賢一, 近藤伸平, 宗田 大. T1rhoマッピングにおける半月板変性の評価 別冊整形外科 67 ; 36-41, 2015
2. 関矢一郎, 宗田 大. 骨関節の再生医療の現状と展望 日本整形外科学会雑誌 89(1);8-14, 2015
3. 関矢一郎, 宗田 大. 【中高年齢者の半月板変性】(Part5) 展望 変性半月板に対する細胞治療(基礎と今後の展開) Bone Joint Nerve. 4(1);141-146, 2014
4. 宗田 大, 関矢一郎. 【中高年齢者の半月板変性】(Part1) 基礎 半月板変性と変形性膝関節症(半月板の逸脱を含めてのReview) Bone Joint Nerve. 4(1);35-39, 2014
5. 古賀英之, 宗田 大, 関矢一郎. 【中高年齢者の半月板変性】(Part4) 外側半月板に対する治療 逸脱外側半月板への対応 逸脱外側半月板に対する鏡視下centralization法 Bone Joint Nerve. 4(1); 115-120, 2014
6. 二村昭元, 関矢一郎, 宗田 大. 【手指の変形性関節症】変形性手関節症(hand OA)に対する軟骨再生の可能性 滑膜間葉系幹

細胞による膝関節軟骨再生を例として リウマチ科. 51(2);191-199, 2014

7. 小田邊浩二, 関矢一郎, 宗田 大. 【高齢者医療における再生医療の可能性】間葉系幹細胞を用いた運動器再生医療 Geriatric Medicine. 52(3);273-277
8. 関矢一郎, 清水則夫, 森尾友宏, 宗田大. 運動器再生医療研究の最先端滑膜間葉系幹細胞を用いる軟骨再生医療の手順 日本整形外科学会雑誌. 88(4);212-215, 2014
9. 小田邊浩二, 関矢一郎, 宗田 大. 整形外科最新トピックス 滑膜幹細胞による軟骨再生医療整形外科Surgical Technique. 4(3);385-390, 2014
10. 小田邊浩二, 関矢一郎, 宗田 大. 滑膜幹細胞の採取 Organ Biology. 21(2);254-259, 2014
11. 小田邊浩二, 宗田 大, 関矢一郎. 【関節軟骨修復の現状と実際】滑膜由来間葉系幹細胞を用いた関節軟骨修復 整形・災害外科. 57(9); 1089-1096, 2014
12. 初鹿大祐, 関矢一郎, 宗田 大. 整形トピックス滑膜幹細胞の関節内投与は家兎半月板前方1/2 切除後の半月板再生を促進する 整形外科. 65(10);1068, 2014
13. 小田邊浩二, 関矢一郎, 宗田 大. 【半月(板) 損傷の治療-現状と未来-】治療の未来 半月板損傷に対する滑膜幹細胞を用

いた再生医療 関節外科.

33(9);970-976, 2014

14. 関矢一郎, 宗田 大, 松本秀男, 土屋明弘. スポーツ障害-最新の知識と治療法- Bone Joint Nerve. 4(4);735-757, 2014

## 2. 学会発表

### 国際学会

1. Muneta T.: An Arthroscopic Less-invasive Transplantation of Synovial Stem Cells for Patients with Articular Cartilage Injuries. 2014 Annual Spring Congress of the Korean Orthopaedic Association, April 17, 2014, in Jeju Island, President Prof. Seong, Seoul National University
2. Muneta T.: Isolated Superficial Medial Collateral Ligament Tears - Anatomic Treatment/Outcomes. Vail International Complex Knee Symposium (VICKS) 2014.6. 17, USA
3. Muneta T.: Diagnostic Workup of Recurrent Lateral Patellar Instability. Vail International Complex Knee Symposium (VICKS) 2014.6. 18, USA

### 国内講演

1. 関矢一郎, 宗田 大. 滑膜幹細胞による軟骨再生. 第 27 回日本軟骨代謝学会 2014. 3. 1 京都市
2. 宗田 大: 変形性膝関節症の診断と治療: 常識と疑問. 第87回日本整形外科学会学術集会 2014. 5. 22 神戸市

3. 関矢一郎, 堀江雅史, 小田邊浩二, 古賀英之, 中村智祐, 渡邊敏文, 中川裕介, 松倉遊, 大関信武, 大川 淳, 宗田 大. 滑膜間葉系幹細胞投与による縫合半月板治癒促進. 第87回日本整形外科学会学術集会2014. 5. 22 神戸市

4. 堀江雅史, 宗田 大, 初鹿大祐, 中川裕介, 近藤伸平, 小田邊浩二, 中村智祐, 古賀英之, 渡邊敏文, 関矢一郎. 半月板損傷の治療の現状と再生への試み滑膜幹細胞を用いた半月板再生. 第6回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会 2014. 7. 24 広島市

5. 小田邊浩二, 中原啓行, 長谷川彰彦, 松川哲也, 関矢一郎, 宗田 大, 大川 淳, Lotz Martin, 浅原弘嗣. Mohawk は骨髄間葉系幹細胞の腱靭帯分化を促進する. 第29回日本整形外科学会基礎学術集会 2014. 10. 9 鹿児島市

6. 尾島美代子, 宗田 大, 辻邦和, 豊田雅士, 梅澤明弘, 大川淳, 関矢一郎. 滑膜採取前後の関節液中間葉系幹細胞の遺伝子発現変化. 第29回日本整形外科学会基礎学術集会2014. 10. 9 鹿児島市

7. 関矢一郎, 古賀英之, 小田邊浩二, 堀江雅史, 中村智祐, 渡邊敏文, 中川裕介, 大川 淳, 宗田 大. 変形性膝関節症に対する滑膜幹細胞移植による再生医療の試み. 第29回日本整形外科学会基礎学術集会 2014. 10. 16 鹿児島市

8. 宗田 大, 古賀英之, 中村智祐, 堀江雅史, 渡邊敏文, 関矢一郎. Anchorを用いた半月

板制動術. 第42回日本関節病学会

2014. 11. 6 東京

9. 堀江雅史, 宗田 大, 中川裕介, 小田邊浩二, 関矢一郎. 半月損傷治療の過去・現在・未来 滑膜幹細胞を用いた半月板再生. 第42回日本関節病学会 2014. 11. 6 東京

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

平成26年10月31日に下記の国内特許査定を受領し、平成26年12月5日付で特許原簿に登録された。

発明の名称	滑膜由来間葉幹細胞(MSCs)の軟骨・半月板再生への応用
発明者	関矢 一郎、宗田 大
特許権者	国立大学法人東京医科歯科大学 株式会社サイメッド
出願番号 /出願日	特願 2009-52560 /平成19年8月22日
出願区分	国内
登録日	平成26年12月5日

### 2. 実用新案登録

該当無し

### 3. その他

該当無し

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）  
分担研究報告書

「滑膜幹細胞の製造管理」

研究分担者

森尾友宏 東京医科歯科大学・大学院・発生発達病態学 教授

研究要旨：

滑膜幹細胞による半月板・関節軟骨の治癒促進・再生に向けての臨床研究にあたり、当該研究における製造管理責任者として、細胞治療センターにおける環境整備や環境モニタリングを実施した。また、細胞調製施設の改修に当たってのプラン策定に当たった。その結果、確実な細胞調製環境を提供でき、また来年度以降の円滑な運用に向けての基盤が確立した。

A. 研究目的

滑膜幹細胞による半月板・関節軟骨の治癒促進・再生に向けての臨床研究にあたり、製造責任者として、細胞培養加工施設の維持、問題点の抽出、及び改善に対して対応を行う。

また施設の維持においては、環境モニタリング、作業員の教育訓練、手順の見直し、及び、データの収集を行う。

平成26年11月25日より再生医療等の安全性確保等に関する法律が実施される中、新しい基準に則した安心かつ安全な再生医療を提供が可能な体制を構築し、臨床研究を実施することが本研究の目的である。

B. 研究方法

再生医療・細胞治療における細胞加工施設の状況に応じた運用面、管理面での改善を行うために、各種方策を策定する。

本年度は特に細胞調製施設の維持や改修にむけて各種省令、通知に適合する、適切な設備を策定する。

(倫理面への配慮)

本研究は、患者検体を用いた臨床研究であり、全体の研究は医学部倫理審査委員会の承認を得て行われている。分担する研究もその中の一環として実施されている。

C. 研究結果

1) 細胞調製施設の運営

東京医科歯科大学医学部附属病院細胞治療センターは設置後13年以上を経過し、施設や機器の老朽化等経年変化を認めている。そのなかで天板からの錆の落下等の問題が生じたが、定期点検にて早期に検出し、またマイナーな改修等により、対応を行い、環境汚染を防止した。

2) 細胞調製施設の改修

上記により経年劣化が明らかとなっていることもあり、医学部附属病院内の細胞治療センターについては改修工事を行うことが決定した。改修工事に当たっては、126m<sup>2</sup>という同じ面積での対応となったが、5部屋で6つの異なるプロトコルが動かせるように（細胞が調製でき

るように)平面図及びダクトフロー等を策定した。特に各種省令や通知に適合する構造設備を具有するように、差圧や動線等を策定した。工事は11月より開始し、平成26年度内に完了した。

### 3) 教育訓練及び基準書の策定

本年度も作業員及び事務担当者に対して、教育訓練を行った。特に11月には再生医療等の安全性確保等に関する法律が施行されることになり、それに即した対応を行い、また同法律及び省令に対応した基準書や手順書の策定に当たった。

## D. 考察

臨床研究が実施されようとする中、細胞治療センターの改修に着手することができた。新しい施設では部屋数の増加、及び中央環境モニタリングシステム、2段のパスボックスなど、新しい施設にふさわしい構造となっている。作業員の教育訓練を含め、次年度以降の臨床用細胞調製に向けて、準備が整った。

## E. 結論

環境モニタリングを含め、運用や管理面での不断の見直しを行い、製造・品質管理された細胞の供給が行われた。また次年度以降の細胞調製施設についてハード・ソフト面での基盤が確立した。

## G. 研究発表

著書

1. 森尾友宏、吉村圭司：再生医療に関する新しい規制と既存規制の違いと注意点、p18-42、再生医療規制の動向と製品開発及び産業化の注意点、情報機構、2015年3月9日

国内雑誌

1. 木村秀樹, 池田裕明, 岡正朗, 鈴木弘行, 谷憲三朗, 徳久剛史, 中面哲也, 森尾友宏, 山口佳之, 阿曾沼元博, 河上裕, 紀ノ岡正博, 澤芳樹, 清水則夫: 免疫細胞療法細胞培養ガイドライン 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 45:411-433, 2014
2. 関矢一郎, 清水則夫, 森尾友宏, 宗田大: 運動器再生医療研究の最先端 滑膜間葉系幹細胞を用いる軟骨再生医療の手順 日本整形外科学会雑誌 88:212-215, 2014

学会発表

1. Morio T. Cell processing facility. **International regulatory endeavor towards sound development of human cell therapy products.** Tokyo, Japan. February 2015.
2. 森尾友宏: 細胞調製施設の構造と治療用細胞の培養加工管理に際する要件について、第14回日本再生医療学会総会(教育講演)、横浜、2015年3月20日
3. 森尾友宏: 再生医療等製品の製造管理及び品質管理: 現状と将来像、第14回日本再生医療学会総会(シンポジウム)、横浜、2015年3月19日
4. 森尾友宏: iPS細胞・体制幹細胞由来再生医療製剤の新規品質評価技術法の開発、再生医療実現拠点ネットワークプログラム平成26年度公開シンポジウム、東京、2015年1月21日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）  
分担研究報告書

「滑膜幹細胞の品質管理」

研究分担者

清水 則夫 東京医科歯科大学・再生医療研究センター 准教授

研究要旨

臨床研究「半月板縫合後の滑膜幹細胞による治癒促進」の副次評価項目 1) 自家滑膜間葉系幹細胞移植術の実施・完遂の可否では、滑膜採取から滑膜幹細胞の培養過程において、汚染や取り違えのミスがないように品質管理を適切に実施し、安全性の担保された滑膜幹細胞を臨床部門に供給することを目標とした。今年度は5例の滑膜幹細胞の品質管理を実施した。品質管理基準書に定めたすべての工程内管理試験の規格・判定基準に適合する滑膜幹細胞を供給することができた。

A. 研究目的

体性幹細胞加工医薬品等の製造においては、原材料となる組織・細胞の採取や培養の工程中に絶えず微生物汚染のリスクがあり、また最終製品からの微生物クリアランスや滅菌操作ができない特性があるため、微生物汚染の有無・程度を正しく評価し治療の安全性を確保することが重要である。安全性の担保された滑膜幹細胞を提供するために、厚生労働省医薬食品局長通知「ヒト（自己）由来体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について」を参考にして製造工程で実施する工程内管理試験を検討し、品質管理基準書を定めた。また、品質管理責任者から品質管理実務者への指図書と、実務者が試験結果を記録する記録書を併せた、品質管理標準作業手順書を定めた。今年度の臨床研究ではこの手順

書に従い品質管理を適切に実施し、安全性の担保された滑膜幹細胞を臨床部門に供給することを目標とした。

B. 研究方法

1. 製造工程のフローチャート

製造工程のフローチャートおよび各工程で実施する工程内管理試験を図1に示す。

2. 品質管理

滑膜および血液の受け入れ時に実施する原材料受入検査、製造工程で実施する工程内管理試験、時間を要するため患者への移植後に結果が得られる試験およびデータの収集を目的として行うモニタリング項目を実施した。工程内管理試験の試験項目、試験に供する試験検体、規格・判定基準を表1に示した。

図 1. 製造工程のフローチャート

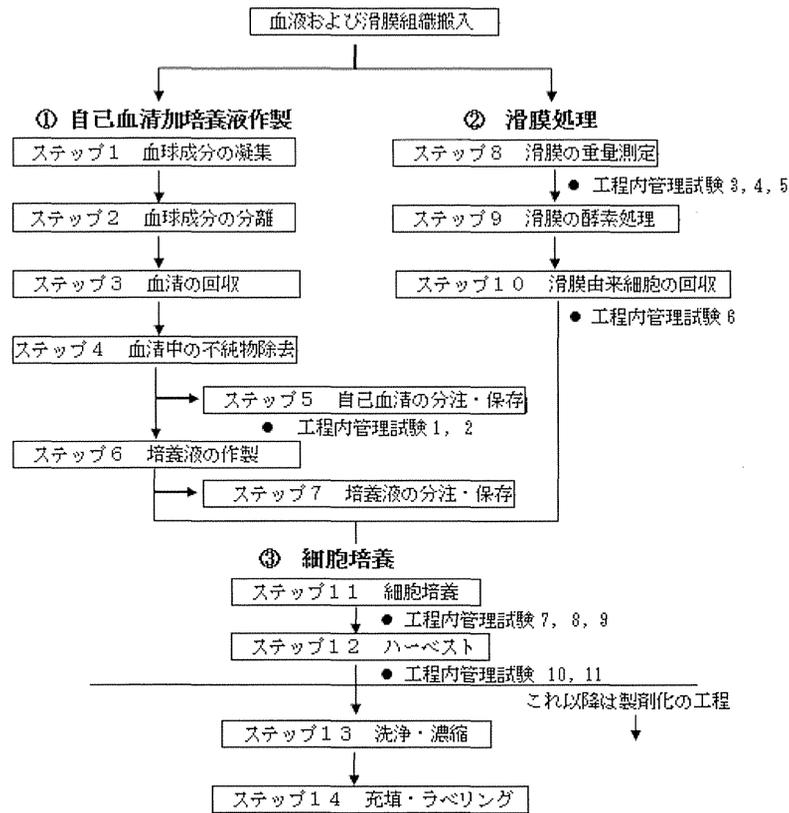


表 1. 工程内管理試験の試験項目および規格・判定基準

ステップ	試験項目	試験検体	規格・判定基準
5	ウイルス検査	患者血清	被験者の除外基準のウイルスが陰性
5	細胞増殖性確認試験	患者血清	FBS と同等以上
8	無菌試験	滑膜保存液	菌の発育が認められないこと
	ウイルス検査	患者滑膜	被験者の除外基準のウイルスが陰性
	マイコプラズマ否定試験 (PCR法)	患者滑膜	陰性
10	細胞数算定	酵素処理後の滑膜細胞	回収生細胞数 $1 \times 10^6$ 個以上
11	無菌試験	滑膜由来細胞の培養上清 (8日目)	菌の発育が認められないこと
	ウイルス検査	培養12日目の滑膜由来細胞	被験者の除外基準のウイルスが陰性
	マイコプラズマ否定試験 (PCR法)	培養12日目の滑膜由来細胞	陰性
12	エンドトキシン試験	滑膜由来細胞の培養上清 (14日目)	$< 0.25$ EU/mL
	細胞数算定	培養14日目の滑膜由来細胞	回収生細胞数 $1 \times 10^7$ 個以上

### 3. 原材料受入検査

患者本人から採取した滑膜組織は、容器に匿名化番号が記載されていること、容器に記載されている匿名化番号と出荷依頼書に記載してある匿名化番号が一致していること、容器から保存液の漏れがないことを確認して受入れた。

### 4. 工程内管理試験

表 1 の工程内管理試験を実施し、試験の結果が不適合になった場合は製造中止とした。試験項目の概略は以下のとおりである。

#### 無菌試験：

日本薬局方の微生物限度試験（メンブレンフィルター法）に準拠して実施した。細菌はソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地で 37℃、5 日間、真菌はサブロー・ブドウ糖寒天培地で室温、5 日間培養し、コロニーの生育が認められないことを判定基準とした。

#### ウイルス・マイコプラズマ検査：

各種指針に記載のウイルスや持続感染するウイルスを中心に選定した 17 種類のウイルス（HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, HHV6, HHV7, HHV8, CMV, Parvovirus B19, HBV, BKV, JCV, HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, HCV）をすべて検出可能な、また、日本・欧州・米国の 3 極薬局方収載の 9 種類のマイコプラズマ（*M. orale*, *M. arginini*, *M. fermentans*, *M. hyorhinitis*, *M. pneumoniae*, *M. synoviae*, *M. gallisepticum*, *A. laidlawii*, *S. citri*）をすべて検出可能なマルチプレックス PCR 検査系を確立した。ウイルス検

査は被験者の除外基準である HBV、HCV、HIV、HTLV が陰性であることを判定基準とした。それ以外のウイルスは判定基準としていないが、検出された場合は定量試験を実施し、ウイルス量が製造の段階を経るに従い減っていく場合のみ製造を続行することとした。マイコプラズマ検査は上記 9 種類が陰性であることを判定基準とした。

#### エンドトキシン試験：

日本薬局方エンドトキシン試験法に準拠して実施した。トキシメーターを用いた比濁法で定量し、試験検体のエンドトキシン濃度が 0.25EU/mL 未満を判定基準とした。

#### 細胞数算定：

血球計算板にてトリパンブルーで染まらない生細胞数をカウントした。培養 14 日目の回収生細胞数が  $1 \times 10^7$  個以上を判定基準とした。

#### 細胞増殖性確認試験：

昨年度の培養不成立を受けて新たに設定した。滑膜採取前に自己血清の細胞増殖性を他家の滑膜幹細胞を用いて予め確認した。細胞増殖性が FBS と同等以上を自己血清の規格とした。

### 5. モニタリング項目

#### 最終製品のウイルス・マイコプラズマ検査：

工程内管理試験では培養 12 日目の滑膜幹細胞を用いて試験したが、最終製品でも同様に試験し結果を残した。患者への移植後に結果が得られるためモニタリング項目とした。