

. 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。

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。

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。

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。冠状断の画像で半月板を拡大する。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)。

320 枚の画像に対して、3 スライスごとからの操作を行う。

「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)。

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。

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)。

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)。

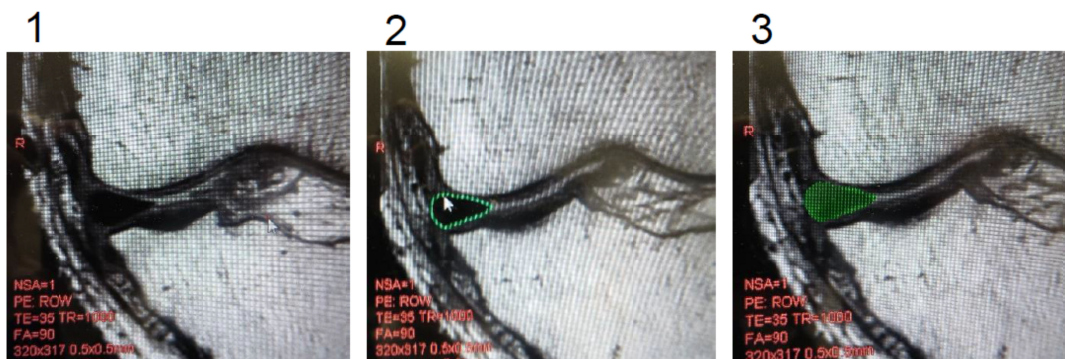
マスク表示をクリック。残った箇所が赤く表示される。冠状断、矢状断画像両方で軟骨などの周囲組織が選択されていないか確認する。

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。

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で。

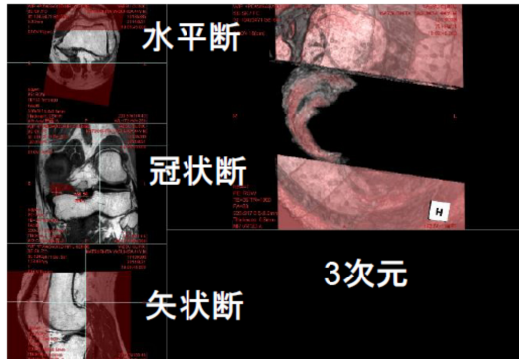
作成した画像を記録する(図 7)。作成条件を記録する。

選んだボクセル数で体積(単位 cc)は自動的に計算される。

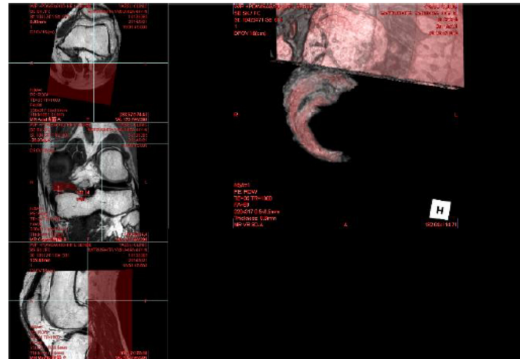


3D 等方性ボクセルのMRI 画像から半月板の3次元像作成の手順(図 1~図 3)

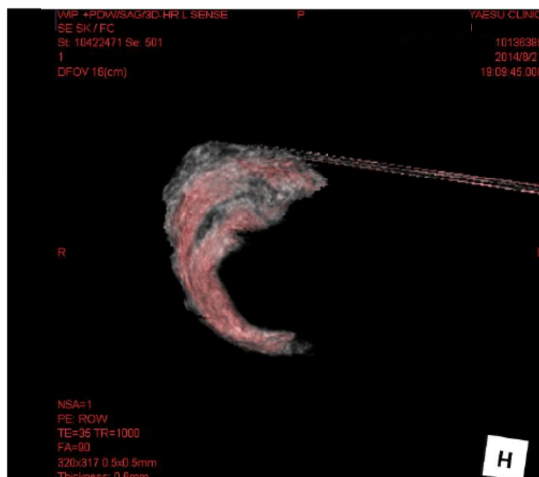
4



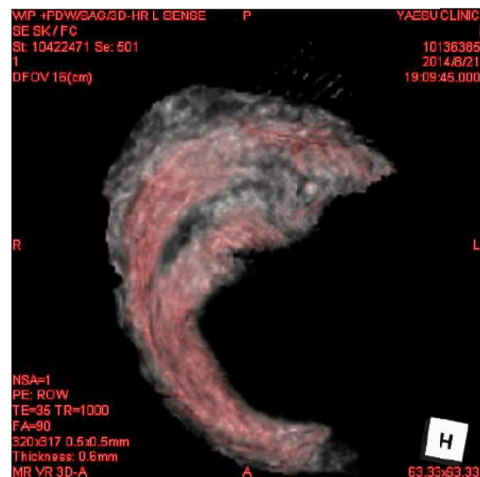
5



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

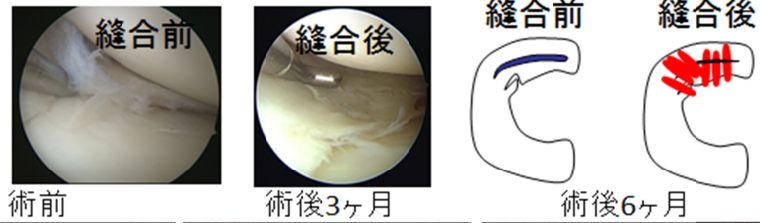
1 . MRI による安全性の評価

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

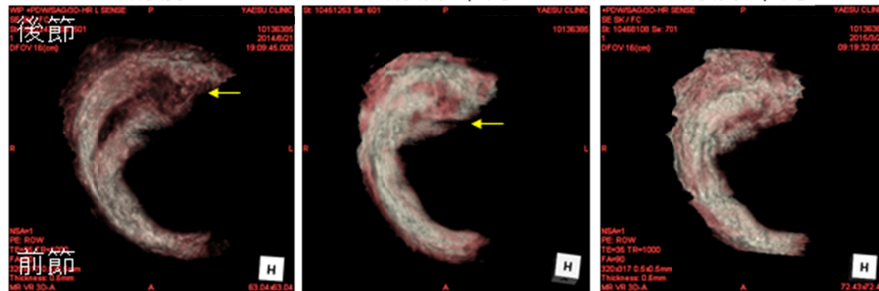
に関しては、2 例では術前から認められたが、経過観察中に骨棘の増大は認められなかった。他の 3 例に骨棘形成の所見は認められなかった。

2 . 有効性評価項目の探索として実施した MRI 解析の結果

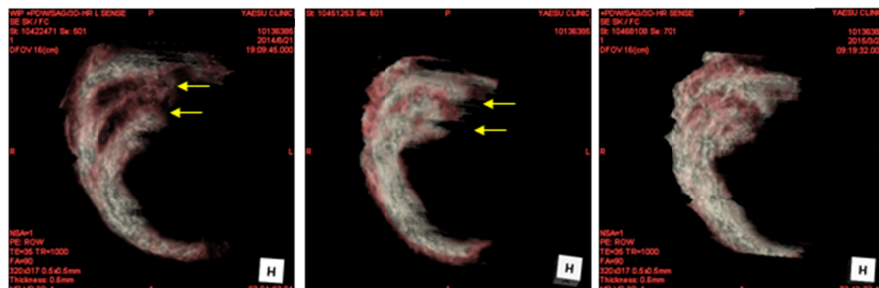
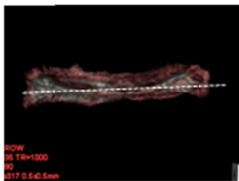
3 次元で再構成した立体画像を用いて縫合、滑膜幹細胞移植を行った内側半月板の損傷部 (縫合部) の評価を行った。5 例全例で損傷部の癒合傾向を認め、術後 12 週の時点で再断裂を疑う所見は認められなかった。以下に 3 次元解析の 1 例を示した。



上方からの観察



水平断での観察



中後節に縦断裂とフラップ断裂を認める。縦断裂とフラップ断裂の関節包側が不明瞭になり内縁側のみ認める。断裂が不明瞭になった。

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. 小田遼浩二, 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. 小田遼浩二, 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. 小田遼浩二, 関矢一郎, **宗田 大**. 滑膜幹細胞の採取 Organ Biology. 21(2);254-259, 2014
11. 小田遼浩二, **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. 小田遼浩二, 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