

201206014A

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 中村 憲正

平成25(2013)年 3月

目 次

I. 総括研究報告		
関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法に関する研究		
中村憲正	-----	1
II. 分担研究報告		
1. 臨床試験の実施・総指揮に関する研究	-----	5
吉川秀樹		
(資料) 症例登録票、外来チェックシート、同意書(エントリー用)		
患者説明文(患者さんへ)、同意書(関節鏡検査時用)		
同意書(移植手術時用)、症例報告書		
2. 臨床試験の企画・支援に関する研究	-----	69
濱崎 俊光		
3. 再生組織の製造管理・支援に関する研究	-----	70
齋藤 充弘		
(資料) 臨床研究実施計画書		
4. 薬事戦略 支援に関する研究	-----	111
(資料) ヒト幹細胞由来製品の品質及び安全性の確保に関する5つの指針		
5. 産業化支援に関する研究	-----	222
辻 紘一郎		
6. 外科的移植手技の開発・改良に関する研究	-----	223
堀部秀二		

研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業） 総括研究報告書

関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法に関する研究

研究代表者 中村 憲正 大阪大学招聘教授

研究要旨

我々は軟骨に対する新規再生医療法として、スキャフォールドを用いず関節軟骨欠損に応じて自在に三次元形態を成型できる間葉系幹細胞（MSC）由来人工組織（TEC）を開発し、大動物を用いた前臨床試験、さらに安全性・毒性試験（GLP 準拠）を終了させた。将来の産業化を見据え、本研究では、ヒト幹細胞臨床研究実施と安全で確実な医療体系構築を目的とする。特に、厚生労働省の高度医療申請に必要なエビデンスを確立させる。

平成 24-26 年度で 1) ヒト幹細胞臨床研究の実施、2) 安全性・有効性のデータ収集、3) 産業化を見据えた医薬品医療機器総合機構（PMDA）との薬事戦略相談、4) 高度医療申請に向けた医療体制の構築を行う。

上記の目的達成のために、臨床医（中村、吉川）、生物統計学者（濱崎）、トランスレーショナルリサーチ専門家（斉藤）、薬事専門家（早川）が連携し、研究の効率化、加速化に寄与できる体制を構築する。本研究においては産業化を目的に、ツーセル社と連携する。同社長、辻は分担研究者として早川とともにPMDAとの薬事戦略相談を担当し、高度医療への移行、将来の治験実施へ反映させる。

TEC の軟骨再生研究は、先端医療開発特区「先進的外科系インプラントとしての 3 次元複合再生組織製品の早期普及を目指した開発プロジェクト」として採択（分担研究）されている。本研究が実施、完結に至れば、自主臨床研究では得られない、薬事審査に直接使用できる高いエビデンスが収集できる。TEC の first in man の臨床試験を本研究で実現し、高度医療制度、さらには加速的な開発や円滑な企業主導治験への移行ができれば、再生医療の発展に大きく貢献でき、医学的、社会的意義も大きいと考えられる。また、再生型関節治療の実用化は年間 1000 億円とされる人工関節市場を再生型医療に変換する可能性があり、新産業創出の経済効果も期待される。

本研究は平成 24 年 2 月 10 日に厚生労働大臣より研究実施の承認を得た。

A. 研究目的

本研究の目的は、ヒト幹細胞臨床研究を質の高い管理体制の下遂行し、安全性、有効性の科学的根拠を蓄積し、高度医療への移行を円滑に完了させることである。

B. 研究方法

ヒト幹細胞臨床研究実施と安全で確実な医療体

系構築を目指し、再生軟骨組織の安全性・有効性データを収集し、厚生労働省の高度医療申請に必要な資料を取り揃える。技術開発者の中村、吉川が臨床の実施を担当、臨床試験オーガナイザーの濱崎がモニタリング、データマネジメント、統計解析を担当、細胞調製等品質管理担当をトランスレーショナルリサーチ専門家の斉藤が担当、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）との協議、折衝（薬事戦略相談）を薬事専門家の早川、さらに本研究に関する技術移転と将来の産業化を希望する企業担当者の辻（株式会社ツーセル）

が担当、実際TECを移植する際の外科的手術手技の開発・改良を過去に間葉系幹細胞による軟骨修復治療の臨床経験を持つ堀部が担当し、共同、協力して研究を実施する。

(倫理面への配慮)

本臨床研究は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則に留意し、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」を遵守して実施する。

ヒト幹細胞臨床研究審査委員会

ヒト幹細胞臨床研究審査委員会は、病院長の諮問を受け、臨床研究実施計画書、説明文書(患者さんへ)、症例報告書の様式の記載内容にもとづき、倫理的、科学的及び医学的妥当性の観点から臨床研究の実施及び継続について審議を行う。本臨床研究の実施期間中少なくとも1年に1回以上は進捗状況を上記ヒト幹細胞臨床研究審査委員会に報告する。(「ヒト幹細胞を用いる臨床研究規程」を遵守)

被験者の人権及び個人情報の保護に関する事項

研究責任者及び分担者は、被験者の人権の保護の観点から被験者の健康状態、症状、年齢、性別、同意能力等を十分考慮し、本研究への参加を求めることの適否については慎重に検討する。また、社会的に弱い立場にある者を被験者とする場合には、特に慎重な配慮を払うこととする。被験者の同意取得後はデータ管理、製造管理など、症例の取り扱いにおいては全て連結可能匿名化された被験者識別コード又は登録番号により管理され、匿名化コードと氏名の対照表及び氏名記載同意書は施錠可能な書類保管庫に厳重に保管する。また、公表に際しては被験者の名前が直接公表されることがない等、被験者の個人情報の保護については十分に配慮する。

同意取得

スクリーニングを行う前に外来において同意説明を行い、被験者本人による同意を得る。

研究責任者又は分担者は、本研究への参加候補となる被験者本人に対して、同意説明文書(添付文書「患者さんへ」参照)を提供し、口頭で十分な説明を行った後、本研究への参加の同意を文書で取得する。(「ヒト幹細胞を用いる臨床研究におけるインフォームド・コンセントに関する手順書」を遵守)

被験者本人の自由意思に基づく文書による同意を得る。

同意取得にあたり研究責任者等は被験者に強制するなどにより、不利益、危険性等、被験者に不当な影響を及ぼすことの無いよう留意する。

C. 研究結果

平成24年度に大阪大学細胞プロセッシングセンター(CPC)においてヒト滑膜細胞を用いた移植用TECを作製し、細胞調整・品質管理の行程に問題がない事を確認し、臨床研究体制を確立した。同時に臨床研究のための必要文書の改訂を行った。それに伴い同年度12月より症例リクルートを開始した。平成24年2月に第1例目の臨床研究を開始し、現在MSCを培養中であり、今年度中に第1例目の移植をおこなう予定である。

また将来の事業化を見据えた薬事戦略相談においては、分担研究者の辻・早川がPMDAとの事前相談を開始し、組織工学再生製品Allogeinc TECの医療機器として位置づけ、承認に要するデータについて相互確認を行った。

移植の際の低侵襲手術手技についても検討をすすめ、今後、関節鏡による移植手技も検討している。

D. 考察

当初の計画と比較すると、書類および工程管理システムの修正のために時間を要したが、平成24年度中に臨床研究を開始することができ、現時点で大きな問題を認めておらず、概ね計画通りである。それと並行したPMDAとの事前相談、手術手技改良の検討も問題なく行っている。

E. 結論

当初の予定通り本年度中に臨床研究を開始でき、1例目の移植が完了できる見込みである。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

・Ando W, Yoshikawa H, Nakamura N, et al.: Detection of abnormalities in the superficial zone of cartilage repaired using a tissue engineered construct derived from synovial stem cells. European Cells and Materials 2012 Vol. 24 292-307
・Yoshida K, Higuchi C, Nakamura N, et.al.: Treatment of Partial Growth Arrest Using an In Vitro-generated Scaffold-free Tissue-engineered Construct Derived From Rabbit Synovial Mesenchymal Stem Cells. J. Pediatr Orthop. 2012 Apr;32(3):314-21

•Ando W, Heard BJ, **Nakamura N**, et.al. :Ovine synovial membrane-derived mesenchymal progenitor cells retain the phenotype of the original tissue that was exposed to in-vivo inflammation: evidence for a suppressed chondrogenic differentiation potential of the cells. *Inflamm Res.* 2012 Jun;61(6):599-608.

•Oya K, Aok S, Nakamura N,et al: Morphological Observations of Mesenchymal Stem Cell Adhesion to a Nanoperiodic-Structured Titanium Surface Patterned Using Femtosecond Laser Processing. *Jpn. J. Appl. Phys.* (2012) 51:125203-1-7.

2. 学会発表

• Annual meeting of Orthopaedic Research Society 2012, San Francisco, February 5, 2012 Shimomura K, Moriguchi, **Nakamura N** et.al. Osteochondral repair using a novel biphasic implant made of scaffold-free tissue engineered construct derived from synovial mesenchymal stem cells and hydroxyapatite-based artificial bone.

•International Cartilage Repair Society 2012, Montreal, May 12, 2012 Moriguchi Y, Shimomura K, **Nakamura N** et.al. Development of scaffold-free tissue-engineered construct (TEC) with chondrogenic differentiation capacity using rabbit embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells.

• International Society for the Study of the Lumbar Spine 2012, Amsterdam, May 28, 2012 Moriguchi Y, Ikuta K, **Nakamura N** Tissue engineered construct (TEC) prevents disc degeneration after nucleotomy in a rat model.

World Forum for Spine Research 2012, Helsinki, June 20, 2012 Moriguchi Y, Ikuta Tissue engineering construct (TEC) prevents disc degeneration after nucleotomy in a rat model

• 3rd TERMIS Congress, Vienna, September 8, 2012 Moriguchi Y, Ikuta K, **Nakamura N** Tissue engineering construct (TEC) prevents disc degeneration after nucleotomy in a rat model

• 第 11 回日本再生医療学会、横浜 平成 24 年 6 月 12 日

森口悠、下村和範、**中村憲正** 他
ウサギ胚性幹細胞より誘導された間葉系幹細胞由来スキャフォールドフリー三次元人工組織の形成と軟骨分化

• 第 11 回日本再生医療学会、横浜 平成 24 年 6 月 12 日

下村和範、森口悠、**中村憲正** 他
スキャフォールドフリー滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織・人工骨複合体を用いた骨軟骨再生

• 第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会、名古屋、平成 24 年 10 月 26、27 日

中村憲正、森口悠、安藤渉
幹細胞を用いた半月温存と関節症予防

3. 講演

• Taiwan Arthroscopy and Knee Society International Symposium on Arthroscopic Cartilage Surgery and related research, March 31, 2012, Taiwan **Nakamura N**, Scaffold-free Tissue engineered construct (TEC) derived from mesenchymal stem cells for musculoskeletal repair and regeneration.

• 9th IFOSMA & 22nd Chinese Endoscopy (Arthroscopy) Doctor Conference. April 28, 2012, Shanghai, China

Nakamura N. Stem cell therapy in joint repair –Current status and future perspective

• ESSKA 2012, May 2, 2012, Geneva

Nakamura N. Cartilage Committee Symposium: The ACL-Injured Knee with a Focal Cartilage Defect - Risk Factors Prognosis and Treatment Future options

• La Patella ALRM, September 21, 2012, LYON, France **Nakamura N**. Cell-Based Therapy in Articular Cartilage Lesions of the Knee *Evidence-based assessment*

• World Sports Trauma Congress and 7th EFOST congress, October 17, 2012, London, UK **Nakamura N**. Cell-based therapy towards Cartilage Regeneration -Asian Experiences-

-Asian Experiences-

• UK Cartilage Club meeting, November 4, 2012, Kent, UK **Nakamura N**. Current Stem cell based cartilage repair procedure in Japan

- ・ The Combined 33rd SICOT & 17th PAOA Orthopaedic World Conference, Dubai, November 28, 2012 Nakamura N. Tissue engineering of cartilage
- ・ 第10回運動器サイエンスセミナー 平成24年2月17日 札幌 中村憲正 関節軟骨再生への細胞治療 ーその現状と展望ー
- ・ 第11回日本再生医療学会学術総会 平成24年6月14日 横浜 中村憲正 関節軟骨再生医療の現状と将来展望
- ・ 第20回長崎関節外科懇話会 平成24年7月23日 長崎 中村憲正 スポーツにおける軟骨損傷 ーその問題点と治療の最先端ー
- ・ 第3回横浜膝関節研究会 平成24年7月28日 横浜 中村憲正 関節軟骨再生 ー基礎から臨床の懸け橋ー
- ・ 大阪医科大学整形外科同門会 秋期教育研修会 平成24年9月8日 大阪 中村憲正 スポーツにおける膝関節損傷治療のニューパラダイム
- ・ 第27回日本整形外科学会基礎学術集會名古屋 シンポジウム14 関節症発症予防の生物学的アプローチ 中村憲正 森口悠 立石耕介 他 幹細胞を用いた半月板温存と関節症予防
- ・ 第15回 大阪大学医工情報連携シンポジウム 平成24年10月5日 中村憲正 間葉系幹細胞由来スキャフォールドフリー三次元人工組織による軟骨再生
- ・ 第2回 ちば運動器疼痛フォーラム 平成24年11月14日 幕張 中村憲正 軟骨損傷治療のパラダイム ー現在と未来ー
- ・ 第38回 三泗整形医会 平成24年12月13日 四日市 中村憲正 スポーツにおける軟骨損傷治療のパラダイム ー現在と未来ー

H. 知的財産権の出願・登録状況

- ・ 胚性幹細胞由来間葉系幹細胞による3次元人工組織の作成とそれを用いた骨軟骨再生治療 出願済 [特願2013-12630]
- ・ 骨軟骨再生のためのスキャフォールドフリー自己組織化三次元人工組織と人工骨複合体 出願済 [国際出願 PCT/JP2012/008410]
- ・ 多血小板血漿および/または少血小板血漿のゲル化促進方法、並びにそれを使用するキット、凝固促進材および骨補填材 出願済 [特願 2011-202906]

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

臨床試験の実施・総指揮に関する研究

研究分担者 吉川 秀樹 大阪大学大学院医学系研究科 整形外科学 教授

研究要旨

患者から採取した滑膜より分離したMSCを培養しTECを作製、患者に移植するというヒト幹細胞臨床研究の実施。

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

(分担研究報告書の場合は、省略)

A. 研究目的

TECを用いた臨床研究を実施することである。

B. 研究方法

実際に第1例目の患者から滑膜を採取し、未来医療センターのCell Processing Center(CPC)内で細胞の培養を行なった。

(倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則に留意、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」を遵守した。

C. 研究結果

CPC内で現時点で良好な細胞の増殖を認めている。コンタミネーション等プロトコルを逸脱するような有害な事象も認めていない。

また滑膜採取後の患者状態も安定しており、こちらも大きな有害事象を認めていない。

D. 考察

一連の体制の整備により、現在のところ問題なく臨床研究が実施できている。

E. 結論

今後細胞の培養を継続し、TECを作製、3月26日に第1例目の移植をおこなう予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

・ Akamine, Y., Kakudo, K., Y., **Yoshikawa, H.** et.al: Prolonged matrix metalloproteinase-3 high expression after cyclic compressive load on human synovial cells in three-dimensional cultured tissue. Int J Oral Maxillofacial Surg, 41:874-881, 2012.

・ Akiyama, K., Sakai, T., **Yoshikawa, H.**, Sugamoto, K.: Three-dimensional distribution of articular cartilage thickness in the elderly talus and calcaneus analyzing the subchondral bone plate density. Osteoarthritis Cartilage, 20:296-304, 2012.

・ Kawato, Y., Hirao, **Yoshikawa, H.** et.al: Nkx3.2 promotes primary chondrogenic differentiation by upregulating col2a1 transcription. PLoS One, 7:e34703, 2012.

・ Lee, DS, Moriguchi, Y, **Yoshikawa, H.**, et.al: Efficient modification of the surface properties of interconnected porous hydroxyapatite by low-pressure low-frequency plasma treatment to promote its biological performance. Journal of Physics D, Applied Physics, 45:372001, 2012.

・ Oze, H., Hirao, M., **Yoshikawa, H.**, et.al: Impact of medium volume and oxygen concentration in the incubator on pericellular oxygen concentration and differentiation of murine chondrogenic cell culture. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 48:123-230, 2012.

・ Sasagawa, S., Takemori, H., **Yoshikawa, H.**, et.al: SIK3 is essential for chondrocyte hypertrophy during skeletal development in mice. Development, 139:1153-1163, 2012.

・ Yamasaki, N., Hirao, M., **Yoshikawa, H.**, Hypoxia favors maintenance of the vascular smooth muscle cell phenotype in culture. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 26:381-383, 2012.

・ 吉川秀樹、名井陽：人工骨による骨再生、化学工業, 63:504-509, 2012

2. 学会発表

・ 第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会、名古屋、平成 24 年 10 月 26、27 日
西井孝、田村理、吉川秀樹 他
関節軟骨 MR イメージングの力学環境評価への応用

・ 第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会、名古屋、平成 24 年 10 月 26、27 日
北圭介、中田研、吉川秀樹 他

自家細胞と自家静脈血フィブリンによる一騎的 cell delivery system - 半月を用いた検討

・ 第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会、名古屋、平成 24 年 10 月 26、27 日
金銅真世、北圭介、吉川秀樹 他
繰り返し圧縮負荷によるヒト滑膜由来三次元培養組織滑膜炎モデルにおけるヒアルロン酸のマトリックス破壊抑制及び抗炎症効果

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

症例登録票 選択基準

研究題目	関節軟骨病変に対する 自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法
------	--------------------------------------

担当医師名	(印)	記入日	20	年	月	日
被験者識別コード	-	文書同意取得日	20	年	月	日
性別	<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女	生年月日	19	年	月	日

選択基準 [以下の項目に対して該当する□にレ印又は×印を記載してください]

1) 外傷性膝関節軟骨損傷と診断された患者	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> いいえ
2) 軟骨損傷が膝関節内に単一箇所存在する患者	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> いいえ
3) 臨床症状(疼痛、ひっかかり、ロッキング、水腫のうち一つ以上)を呈して日常生活に支障を来している患者	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> いいえ
4) International Knee Documentation Committee (IKDC) Knee Form 自覚膝機能評価で6点以下と判定される患者	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> いいえ
5) 下肢のアライメントが正常の患者 (FTA 175°±5°以内)	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> いいえ
6) 本臨床研究開始前に施行される関節鏡視下手術にて病巣サイズが5cm ² 以下かつ単一の軟骨損傷が確認された患者	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> いいえ
7) 本臨床研究開始前に施行される関節鏡視下手術にて1g以上の滑膜組織が切除され、その組織を用いた細胞培養が可能な患者	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> いいえ
8) 治療を必要とする靭帯損傷、半月損傷が合併している場合、登録時までこれらの外科的治療が適切になされている患者	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> いいえ
9) 患者本人の文書による同意が得られている患者	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> いいえ

送付先

大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター

TEL: 06-6879-6560

FAX: 06-6879-6536

症例登録票 除外基準

研究題目	関節軟骨病変に対する 自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法
------	--------------------------------------

担当医師名	Ⓜ	記入日	20	年	月	日
被験者識別コード	-	性別	<input type="checkbox"/> 男	<input type="checkbox"/> 女		

除外基準 [以下の項目に対して該当する口にレ印又は×印を記載してください]

1) 患部に活動性の感染がある患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい
2) 悪性腫瘍など重篤な合併症がある患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい
3) アルコール、薬物依存症のある患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい
4) リウマチ、痛風、偽痛風に罹患している患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい
5) Xp上、大腿脛骨角(FTA 角)反対側に比較して5度以上の内反あるいは外反アライメント異常を呈する患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい
6) 膝蓋大腿関節不安定症を呈する患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい
7) 糖尿病と診断を受けている患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい
8) 腎機能不全のために透析を受けている患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい
9) 感染症(HIV、HBV、HCV、HTLV)のある患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい
10) 妊娠中の患者、授乳中の患者、妊娠している可能性のある患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい
11) 副腎皮質ステロイドの使用が必要な患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい
12) 他の臨床研究に参加中の患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい
13) その他、研究責任者または分担者が対象として不適当と判断した患者	<input type="checkbox"/> いいえ	<input type="checkbox"/> はい

送付先

大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター

TEL:06-6879-6560

FAX:06-6879-6536

外来スクリーニング時記録用紙

TR006 [大阪]

施設名・科名： 大阪大学医学部附属病院 整形外科

患者ID：

--	--	--	--	--	--	--	--

試験責任医師または分担医師による署名

--

記載日：西暦 201 年 月 日

--	--	--	--	--	--

I. 患者背景

診断名：

--

発症日(受傷日)：西暦 201 年 月 日

--	--	--	--

軟骨損傷部位：

--

治療歴：

--

II. 画像所見

レントゲン(下腿全長)： FTA (患側) ° (健側) °

--	--

MRI 所見

--

MRI撮影日が登録前8週以内：撮影日 201 年 月 日

--	--	--	--

III. 選択基準

- 外傷性軟骨損傷であること。
- 年齢20歳以上60歳未満であること。
- 軟骨損傷が膝関節内に単一箇所存在と思われること。
- 臨床症状(疼痛、ひっかかり、ロッキング、水腫のうち一つ以上)を呈して日常生活に支障を来たしていること。
- International Knee Documentation Committee (IKDC) Knee Form 自覚膝機能評価で6点以下と判定されること。(点)
- 下肢のアライメントが正常の患者(FTA 175° ±5° 以内)

IV. 除外基準

- 患部に活動性の感染がない。
- 悪性腫瘍など重篤な合併症がない。
- アルコール、薬物依存症がない。
- リウマチ、痛風、偽痛風に罹患していない。
- FTA角が反対側に比較して5度以上の内反あるいは外反を呈していない。
- 膝蓋大腿関節不安定症を呈していない。
- 糖尿病と診断を受けていない。
- 腎機能透析を受けていない。
- 妊娠中ではない、授乳中ではない、妊娠している可能性がない。
- 副腎皮質ステロイドの使用が必要ではない。
- 他の臨床研究に参加中ではない。
- 感染症(HIV、HBV、HCV、HTLV)がない。

V. 全身状態

□臨床症状

観察項目		結果	
		前観察	
		□欠測 観察日(年/月/日) 2 0	
全身 所見	バイタルサイン	血圧	/ mmHg
		脈拍	回/min
		呼吸数	回/min
		体温	°C
局所 症状	局所感染の程度(Grade) ^{※1}	□0 □1 □2 □3 □4	
	皮膚症状	発赤	□なし □軽度あり □あり
		圧痛	□なし □軽度あり □あり
		浮腫	□なし □軽度あり □あり
		炎症	□なし □軽度あり □あり
潰瘍		□なし □軽度あり □あり	

※1. 局所感染: 以下の5段階で評価し記入する。
 「Grade 0」なし
 「Grade 1」表層の感染、処置のみ必要、抗生剤不要
 「Grade 2」表層の感染、抗生剤要(経口、注射)
 「Grade 3」深部感染、排膿処置(ドレーン挿入)要
 「Grade 4」深部感染、外科的治療要

□自覚評価

患肢自覚評価	検査日(年/月/日)	所見	
	□欠測 2 0	KOOS	
□欠測 2 0	VAS		点

□活動性評価

評価項目	前観察	
	検査日(年/月/日)	所見
活動性評価	□欠測 2 0	Lysholm score 点
	□欠測 2 0	Tegner score 点

- 血液検査 201 年 月 日
- 尿検査 201 年 月 日
- 感染症検査 201 年 月 日
- 心電図検査 201 年 月 日

同意書(エントリー用)

大阪大学医学部附属病院長 殿

研究題目： **関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法**

私は、上記研究題目における研究に(研究対象者氏名) _____ が参加するにあたり、担当医から以下の項目について、説明文書および口頭にて説明を受け、私の自由意思による参加の中止が可能であることを含め理解しましたので、この研究に参加することに同意します。

私は、本研究の説明を受け理解した項目について、□の中にレを記入しました。

- | | |
|----------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> ①臨床研究の目的 | <input type="checkbox"/> ②臨床研究の意義 |
| <input type="checkbox"/> ③同意が任意のものであり、同意しない場合も不利益を受けないこと | |
| <input type="checkbox"/> ④参加した後でも、撤回がいつでも可能であり、その場合も不利益を受けないこと | |
| <input type="checkbox"/> ⑤臨床研究の方法(研究対象者として選定された理由等) | |
| <input type="checkbox"/> ⑥期待される結果及び起こりうる危険性・不都合 | |
| <input type="checkbox"/> ⑦他の治療方法 | <input type="checkbox"/> ⑧個人情報の取扱い |
| <input type="checkbox"/> ⑨研究結果の提供 | <input type="checkbox"/> ⑩研究成果の公表 |
| <input type="checkbox"/> ⑪費用負担に関すること | <input type="checkbox"/> ⑫臨床研究の資金源 |
| <input type="checkbox"/> ⑬知的財産権等の帰属 | <input type="checkbox"/> ⑭補償の有無 |
| <input type="checkbox"/> ⑮研究終了後の対応 | |
| <input type="checkbox"/> ⑯試料(資料)の保存・保存期間及び使用方法 | |
| <input type="checkbox"/> ⑰問い合わせ先(研究機関名・研究者等の氏名、職名・連絡先等) | |
| <input type="checkbox"/> ⑱臨床研究の開示 | |

本人署名 : _____ (印)
署名年月日 : 西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日

私は担当医として、今回の研究について上記の項目を説明しました。

担当医署名 : _____ (印)
説明年月日 : 西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日
研究協力者署名 : _____
補助説明年月日 : 西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日

患者さんへ

臨床研究課題名

「関節軟骨病変に対する 自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法」

研究責任者 大阪大学医学部医学系研究科 器官制御外科学（整形外科）

准教授 名井 陽

1. はじめに

今回皆さんに参加をお願いする臨床研究は、膝関節の傷ついた軟骨に対して、我々が研究している新しい治療方法が、安全にまた有効に行うことが出来るかを検討することを目的としております。

まず、関節について簡単に御説明いたします。

関節は皆さんもご存知の通り、肘や膝、肩など体のあらゆるところにあり、体が円滑に動くために大切な構造物です。関節は、骨、骨と骨の間でクッションの働きをする軟骨、骨と骨をつなぐ靭帯から構成されています。中でも、軟骨や半月は、関節に於いてクッションのように衝撃を吸収したり、関節を滑らかに動かすなど、とても大切な役割を持つ組織です。しかし、これらの組織、特に軟骨は残念ながら自然に治ろうとする力が非常に低く、一度傷を負うとお薬や注射や健康食品などでは元通りに戻ることが出来ません。それどころか、できた傷は徐々に悪化していってしまいます。悪化が進むと軟骨の下にある骨にまで病変が広がり、高齢者に多くみられる膝の関節の変形を伴う変形性関節症を発症させる危険性があります。そこで、我々はこれまで有効な治療方法がなかった、関節の軟骨を損傷された患者さんを対象に、患者さん本人の組織（滑膜という、膝の関節の内部の表面にある組織）から作製した人工的な組織（自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織）を、傷ついた軟骨に移植しその修復を期待する治療方法を研究しています。

滑膜には軟骨や骨、脂肪などいろいろな組織に分化する能力のある間葉系幹細胞という細胞が含まれており、作製した人工組織の中には間葉系幹細胞が豊富に含まれています。今回の臨床研究は、この人工組織の有効性と安全性を検討するために行います。

以下をお読みいただきご理解いただいた上、この臨床研究にご参加頂ければ幸いです。

2. 臨床研究の目的・意義^{①②}

現在、膝の関節の軟骨に傷がついた場合、手術での治療に関しては以下の2つの方法が主に行われています。

- ① 傷ついた軟骨の下にある骨組織にドリルなどで穴を開け、骨髄から出血させ、骨髄に含まれる間葉系幹細胞（軟骨や骨、脂肪などいろいろな組織に分化する能力のある細胞）が傷ついた部分へ運ばれて軟骨に類似した組織（II型コラーゲンが主な成分）が再生するのを期待する（骨穿孔術）。
- ② 健康な骨と軟骨を一塊に取り出して、軟骨の傷ついた部分に移植する（自家骨軟骨移植術）。

①の方法は、現在世界で広く行われている手法ですが、時間が経つにつれて治療した部分の組織が、軟骨とは違うコラーゲン線維（I型）からなる組織に変化して組織が傷みやすくなるとの報告もあり、その有効性について再検証の余地があります。②の方法は健康な部分から軟骨と骨を取るために、その部分が傷つくことを避けられないという問題、さらに中高年の方では健康な軟骨組織に限られ、損傷部分の治療をするために十分な量の軟骨が得られないという問題が世界から報告されています。

これまでの治療法と比較し、私たちが開発した「滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織」には以下の2つの特徴があります。

1. 人工組織の材料となる滑膜由来の細胞は非常に再生する力が高い
この特徴があるために、人工組織を作る為に滑膜を取り出したところは自然に元通りになります。また、滑膜の一部が一時的に傷ついても、機能的にはまったく問題にはなりません。この点が健康な軟骨を傷つけてしまう②の方法とは大きく異なります。
2. 人工組織は移植した部分の環境により変化する能力があります。すなわち、この人工組織を軟骨の傷ついた場所に移植すると軟骨に類似した組織に変化します。

私たちが開発した「滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織」は、これまで治療が困難であった軟骨損傷（傷ついた軟骨）に対する新たな治療方法になる可能性があります。

以上のようなことを踏まえて、この臨床研究は、自分の膝関節から採取した滑膜を用いて作製した間葉系幹細胞由来三次元人工組織を、軟骨修復（傷ついた軟骨を直す）の治療に用いた場合の有効性と安全性を明らかとすることを目的として計画しました。

3. 臨床研究への参加同意の任意性と同意撤回の自由について③④

この臨床研究の説明を担当医師から聞いた上で、臨床研究に参加するかどうかを患者さん自身の自由な意思で決めてください。たとえ参加されなくても今後の治療や診療に不利益になることはありません。③患者さんの自由意思により、同意書にご記名捺印またはご署名いただいた場合にのみ、この臨床研究に参加していただくことができます。

また、この臨床研究の実施中に新しい情報が得られたときには、必ず患者さんにお知らせします。

そして、この臨床研究に参加することに同意していただいたあとでも、臨床研究が開始されてからでも、患者さんが同意の撤回をしたいときは、いつでも自由に撤回することができます。④同意の撤回の時は、お渡ししている撤回書にご記名捺印またはご署名のうえ、担当医師にご提出下さい。また、撤回されてもそれにより不利益を受けることはなく④、現在治療法として認められている最善の治療を行います。なお、撤回される場合もできる限り、担当医と面談の上、その後の治療法などについて説明を受けるようにして下さい。

4. 臨床研究参加のための前評価

この臨床研究に参加できる方

以下の項目にすべて該当する患者さんがご参加いただけます。

- 1) 外傷により膝関節軟骨の損傷と診断された患者さん
- 2) 年齢が 20 歳以上 60 歳未満の患者さん
- 3) 軟骨の傷が膝関節内に 1 か所存在する患者さん
- 4) 痛み、ひっかかり、膝が動かなくなる、あるいは膝が腫れて水がたまる、などの症状により日常生活に支障を来たしうる患者さん
- 5) 「International Knee Documentation Committee (IKDC) Knee Form」という膝の自覚機能を評価する基準で、評価で 6 点以下と判定される患者さん
- 6) 下肢が X 脚、O 脚などでない患者さん（レントゲン上、大腿骨と脛骨のなす角度が 170°~180°までの患者さん）
- 7) スクリーニングの一つである関節鏡による手術において、病巣サイズが 5cm² 以下かつ単一の軟骨の傷が確認された患者さん
- 8) スクリーニングの一つである関節鏡による手術において、1g 以上の滑膜組織が切除され、その組織を用いた細胞培養が可能な患者さん
- 9) 軟骨の他に膝関節の靭帯や半月が傷んでいる場合に、登録時までにはそれらの治療が手術により適切になされている患者さん
- 10) 患者さん自身の文書による同意が得られている患者さん

この臨床研究に参加できない方

以下のいずれかに該当する患者さんはご参加いただくことができません。

- 1) 膝関節に活動性の感染（細菌やウイルスなどが入り込んで症状を起こしている状態）がある患者さん
- 2) 悪性腫瘍（がん）など重い病気を合併している患者さん
- 3) アルコール、薬物依存症のある患者さん
- 4) リウマチ、痛風、偽痛風にかかっている患者さん
- 5) レントゲン上、大腿骨と脛骨のなす角度が反対側に比較して 5 度以上内向きあるいは外向きに傾いている患者さん
- 6) 膝蓋大腿関節不安定症を呈する（お皿の骨が大腿骨となす関節が不安定で、お皿の骨が外れやすくなっている）患者さん
- 7) 糖尿病と診断を受けている患者さん
- 8) 腎機能が悪いために透析を受けている患者さん
- 9) 感染症（エイズ、B、C 型肝炎、成人型 T 細胞白血病）にかかっている患者さん
- 10) 妊娠中の患者さん、授乳中の患者さん、妊娠している可能性のある患者さん
- 11) 副腎皮質ステロイドの使用が必要な患者さん
- 12) 他の臨床研究に参加中の患者さん
- 13) その他、研究責任医師等が対象として不適当と判断した患者さん

登録の方法

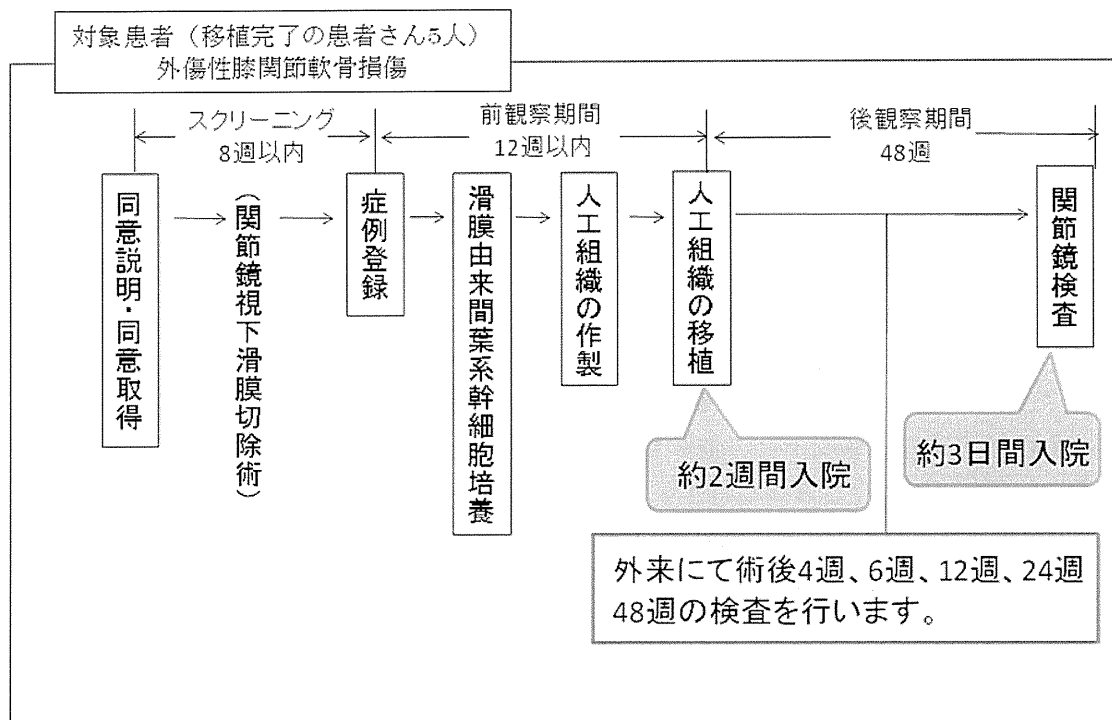
この臨床研究への参加に同意していただいたあと、軟骨損傷に伴う痛み、腫れなどの症状を軽快させる目的で、関節鏡という内視鏡を使って、滑膜（関節内部の表面にある膜組織で、軟骨に傷がつくとこの膜組織は大きくなり、関節の腫れを悪化させることが知られています）を切除する治療（関節鏡視下滑膜切除術）をまずさせていただきます。関節鏡視下による滑膜切除術の際、靭帯、半月などが傷んでいることが確認された場合にはそれらの手術治療も行います。関節鏡視下による滑膜切除術は、通常は1cm程度の小さな傷を2、3か所、膝の周りに作製するだけで行えます。関節鏡手術の合併症として、感染（ばい菌やウイルスが関節内に入り、膿が出たり、発熱、関節の痛みを来す病気）がありますが、その発生率は1%以下と、他の整形外科手術と比べても数分の1程度と低く、安全性の高い治療法です。

この滑膜切除術の手術中に、関節の中の傷んだ軟骨の数と大きさを確認し、軟骨の傷がこの臨床研究に参加可能な条件を満たしているか（5cm²以下のサイズの傷が一つ）を最終的に確認します。また、通常ですと切除された滑膜は廃棄されますが、この滑膜から臨床研究で用いる三次元人工組織を作製します。従って、臨床研究への参加を希望される患者さんに対しましては、この切除した滑膜組織をすべて後に行う培養用に使用させていただきます。（この使用に関しましては別途説明書、承諾書を用意させていただきます。）

軟骨の状態（病巣のサイズや数）や切除された滑膜の量がこの臨床研究参加のための条件を満たさないことが明らかとなった場合、この臨床研究を行うことはできないと判断され、この臨床研究には登録されません。しかし、その場合も引き続き、軟骨損傷に対しては骨穿孔術、自家骨軟骨移植など、従来から行われてきている治療法の中から最適な治療法を選択して（下記の「7. 他の治療方法について」の項をご参照下さい）、治療させて頂く予定です。この臨床研究の登録の判断は、患者さんに麻酔のかかった関節鏡手術中に行いますので、その決定内容に関しましては関節鏡検査の前に御承諾を頂くことにさせていただきます。

5. 臨床研究の方法^⑤

この臨床研究では、患者さんの病気に対し以下に示す研究治療を行い、手術前後合わせて60週（1年2ヶ月）の間、診察、血液・尿検査、画像検査（X線、MRI）、関節鏡検査（手術後48週）により、この研究治療の安全性を評価します。また、これらの検査の結果から研究治療の有効性についても評価します。



研究治療方法

1.人工組織の作製

登録前に行います滑膜切除術において取り除いた滑膜組織を、ただちに大阪大学附属病院未来医療センター細胞調製施設に運び、培養を開始します。膝の関節に靭帯損傷など合併する病変が存在する場合、関節鏡検査と同時に病変の治療を行う場合もあります。培養することにより細胞が十分量増えたら（約 1~2 ヶ月）、ビタミン C を添加した培養をさらに約 1-2 週間程度行い人工組織を作製します。

2.人工組織の移植の方法

人工組織の移植は全身麻酔で行います。移植は、関節鏡で可能な場合は関節鏡視下に行います。また、関節鏡視下では困難な場合には、関節鏡用の 1 センチ程度の皮膚の切開とは別に、膝部分の皮膚を約 4-8 センチメートル切開し、軟骨損傷部を露出します。必要最小限の大きさとで損傷部周辺を平滑な状態にして、作製した人工組織を移植します。移植はおおよそ 30 分程度で完了し、移植後に特別な固定のための処置は行いません。人工組織は移植前に感染の有無のチェックを行い、万全を期します。手術終了後は関節を安静に保つために膝の装具を装着して病棟へ帰室します。

観察項目

各観察時期における、検査の内容は以下の表に示すようになります。

観察・評価日		スクリーニング	前観察	手術日 (術後)	1週 後	2週 後	4週 後	6週 後	12週 後	24週 後	48週 後	中止 時
許容範囲		登録前 8週 以内	手術前 12週 以内	0日	±2日		±1週			±4 週	±8 週	
臨床症状 (全身)	バイタル サイン		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
臨床症状 (局所)	局所 感染症状	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	局所 皮膚症状		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
臨床検査	血液	○	○		○	○	○		○	○	○	○
	尿		○		○	○	○		○	○	○	○
	心電図		○									
自覚評価	KOOS		○			○		○	○	○	○	○
	VAS		○			○		○	○	○	○	○
関節鏡検査	ICRS 関節鏡評価										○	○
画像診断	MRI	○	○					○		○	○	○
	局所単純 X線	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
組織検査	ICRS II 組織評価										○	○
活動性評価	Lysholm score		○								○	○
	Tegner score		○								○	○
有害事象			→									
併用治療			→									

※1 バイタルサイン：体温・脈拍・血圧等の値。

- ※2 KOOS : VAS : Lysholm score : Tegner score : 患者さんの自覚評価や活動性評価を総合的に行うスコアです。患者さん自身につけていただくことがあります。
- ※3 関節鏡検査 : 関節鏡で滑膜を取り出したり、軟骨の傷ついた部分の確認をしたり、修復部の治癒の具合を検査します。この臨床研究に参加した患者さんには必ず受けていただきます。
- ※4 ICRS 関節鏡評価 : 軟骨の損傷・修復状況を評価するスコアです。医師がつけます。
- ※5 組織検査 : 修復した軟骨の一部を取り出し、顕微鏡で検査します。
- ※6 ICRS 組織評価 : 軟骨の治り具合を総合的に判断する国際的な評価方法です。医師がつけます。
- ※7 移植手術を行わなかった場合は中止時の関節鏡検査 (ICRS 関節鏡評価) 及び組織検査 (ICRS II 組織評価) は実施しません。

参加予定期間

初回関節鏡検査時より 60 週間 (1 年 2 ヶ月) の予定です。

参加予定人数

この臨床研究の参加予定人数は 6 人です。

しかし、人工組織の移植が完了した方が 5 人に達した場合は、登録を終了します。

(6 人に参加していただいても、人工組織の移植が完了した方が 5 人に達しなかった場合は、完了された方が 5 人になるまで登録を続ける予定です。)

この臨床研究の変更・中止について

患者さんに同意を頂いてこの臨床研究が始まった場合でも、細胞が培養中に感染してしまったり、何らかの理由でこの研究治療を行うために必要なだけの細胞培養ができなかった時は、この臨床研究を行うことができません。

また、この臨床研究の経過の中で、患者さんにとって有害と思われる事が生じたときには臨床研究を中止する場合があります。必要に応じ適切な対処・治療を行います。この場合も、軟骨損傷に対しては骨穿孔術、自家骨軟骨移植術など、従来から行われてきている治療法 (下記の「7. 他の治療方法について」の項をご参照下さい) の中から最適な治療法を選択、施行させて頂く予定です。

併用禁止薬・併用禁止療法について

他の医療機関などでのステロイドホルモンおよびヒアルロン酸の関節内注射は、必ず控えてください。

6. 研究治療の期待される効果と危険性・不都合⑥

期待される研究治療の効果

傷ついた軟骨が自然に治らない一番の原因として、組織を修復する (治す) 際の主役である細胞が傷ついた部位にほとんど存在しないことがあげられます。この研究治療では、軟骨に分化する能力のある間葉系幹細胞と線維 (コラーゲン) に富む人工組織を損傷部に移植するため、人工組織が移植された部位の環境に適応し、軟骨様組織が再生されます。