

細胞シートによる関節治療を目指した臨床研究の評価

研究協力者	谷 良樹	東海大学医学部外科学系整形外科学・大学院生
研究協力者	横山 宗昂	東海大学医学部外科学系整形外科学・大学院生
研究協力者	石原 美弥	防衛医科大学校医用工学講座医用工学・教授
研究分担者	三谷 玄弥	東海大学医学部外科学系整形外科学・講師
研究協力者	高垣 智紀	東海大学医学部外科学系整形外科学・講師
研究協力者	小林 美由希	東海大学医学部外科学系整形外科学・大学院生
研究分担者	小久保 舞美	東海大学医学部外科学系整形外科学・特定研究員
研究協力者	岡田 恵里	東海大学医学部外科学系整形外科学・特定研究員

研究要旨：本研究事業の目的は「自己軟骨細胞シートによる先進医療の実現」と「同種軟骨細胞シートによる再生医療を目指した臨床研究の実現」である。軟骨細胞シートによる再生医療は、厚生労働大臣通知により東海大学医学部付属病院においてヒト幹細胞臨床研究の実施が認められ、平成 23 年 11 月 29 日に第 1 例が実施された。平成 26 年 3 月 31 日までに 8 例の軟骨細胞シート移植が終了し、第 1 例から第 4 例は移植後 1 年を経過し、臨床研究を終了した。今後は本臨床研究による安全性の評価を速やかに行うとともに、先進医療の実現を目指している。

研究実施予定期間：承認後～3 年間

予定症例数：10 例（プライマリーエンドポイントである安全性の評価が十分に達成できたと判断した場合、本臨床研究は予定症例数に達しなくても終了する。）

A. 選択基準

以下の選択基準を全て満たし、かつ同意能力を有する患者を対象とする。

1. 20 歳から 60 歳までの性別を問わない患者
2. （外傷または変性により生じた）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 分類で Grade 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 1.0cm² 以上 4.2cm² 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

B. 除外基準

下記の除外基準に 1 つでも当てはまる患者は対象としない。

1. 患者や御家族への特別な配慮が必要となり倫理的に困難な場合
2. 重大な合併症を有している場合
3. 問題となるような感染症（HBV、HCV、HIV、HTLV、FTA-ABS 等の陽性を含む）を有している場合

以上より、「細胞シートによる関節治療を目指した臨床研究」の被験者としての確であると判断した患者に対して、時期を変えて 2 回の臨床研究に関するインフォームドコンセントが取れた場合に開始し、細胞シート作製のために軟骨および滑膜組織を採取した。

C. 検査・評価項目とスケジュール

1) 臨床評価

臨床評価基準として、Tegner-Lysholm Knee Scoring Scale、Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score での評価を術前、術後1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、1年で実施する。

2) 単純レントゲン写真

関節裂隙、軟骨下骨の状態、関節症の進行の有無を評価する。関節症の進行度はKellgren-Lawrence grading scale (1)を用いて術前、術後1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、1年で実施して、客観的に評価する。

3) MRI 検査

経時的な軟骨の厚み、性状の変化を評価し、Nelson MRI Grading (2)を用いて、術前、術後1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、1年で実施して、客観的に評価する。

4) 関節鏡

術後1年の時点での関節表面の軟骨性状（色調、硬さ、平滑性）、Outerbridge分類(3)を評価する。また痛みや関節の腫脹などが生じた場合には適宜実施し軟骨の状態を評価する。

5) 光音響法検査

術後1年の時点での関節軟骨の粘弾性特性を定量的に評価するために、我々が独自に開発した機能診断装置により、関節鏡視下に移植部と周辺軟骨部の軟骨を評価する。本評価法は東海大学医学部臨床研究審査委員会承認下で、東海大学医学部附属病院で既に臨床応用されている機能評価法である。

6) 病理検査

関節鏡を行った際に再生組織の一部を生検し、Safranin-O 染色を行い、Modified Mankin Score(4)を用いて客観的に組織学的評価を行う。

D. 軟骨細胞シート移植症例報告

Entry No.1

43歳男性

2011.12.21 移植施行

【術前評価】

Lysholm score : 36

KOOS score Total : 47.0

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade3

関節鏡 : grade3

【術後1ヶ月】

Lysholm score : 75

KOOS score Total : 67.9

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade3

【術後3ヶ月】

Lysholm score : 67

KOOS score Total : 76.2

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後6ヶ月】

Lysholm score : 75

KOOS score Total : 86.3

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後1年】

Lysholm score : 85

KOOS score Total : 79.8
単純レントゲン写真 : grade3
MRI 検査 : grade1
関節鏡 : grade1
超音響検査法 : 表 1 参照
病理検査 : Mankin score : 1
→2013.01.07 臨床研究終了

Entry No.2

46 歳男性

2012.3.7 移植施行

【術前評価】

Lysholm score : 72

KOOS score Total : 58.3

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

関節鏡 : grade4

【術後 1 ヶ月】

Lysholm score : 59

KOOS score Total : 60.7

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後 3 ヶ月】

Lysholm score : 88

KOOS score Total : 63.7

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後 6 ヶ月】

Lysholm score : 96

KOOS score Total : 78.0

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後 1 年】

Lysholm score : 85

KOOS score Total : 88.7

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade1

関節鏡 : grade1

超音響検査法 : 表 2 参照

病理検査 : Mankin score : 1

→2013.03.19 臨床研究終了

Entry No.3

48 歳女性

術前関節鏡評価にて軟骨損傷が

Outerbridge grade で適応外のため逸脱

Entry No.4

52 歳男性

細胞数が基準細胞数に満たず逸脱

Entry No.5

31 歳男性

2012.12.19 移植施行

【術前評価】

Lysholm score : 58

KOOS score Total : 72.0

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

関節鏡 : grade4

【術後 1 ヶ月】

Lysholm score : 86

KOOS score Total : 72.6

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後 3 ヶ月】

Lysholm score : 81
KOOS score Total : 75.0
単純レントゲン写真 : grade3
MRI 検査 : grade2

【術後 6 ヶ月】

Lysholm score : 78
KOOS score Total : 84.5
単純レントゲン写真 : grade3
MRI 検査 : grade2

【術後 1 年】

Lysholm score : 95
KOOS score Total : 96.4
単純レントゲン写真 : grade3
MRI 検査 : grade1

関節鏡 : grade1

超音響検査法 : 解析中

病理検査 : Mankin score : 1

→2014/5 月臨床研究終了

Entry No.6

50 歳男性

2013.02.06 移植施行

【術前評価】

Lysholm score : 45
KOOS score Total : 29.2
単純レントゲン写真 : grade3
MRI 検査 : grade2

関節鏡 : grade4

【術後 1 ヶ月】

Lysholm score : 39
KOOS score Total : 66.7
単純レントゲン写真 : grade3
MRI 検査 : grade2

【術後 3 ヶ月】

Lysholm score : 81
KOOS score Total : 62.5
単純レントゲン写真 : grade3
MRI 検査 : grade2

【術後 6 ヶ月】

Lysholm score : 94
KOOS score Total : 81
単純レントゲン写真 : grade3
MRI 検査 : grade2

【術後 1 年】

Lysholm score : 99
KOOS score Total : 84.5
単純レントゲン写真 : grade3
MRI 検査 : grade1

関節鏡 : grade2

超音響検査法 : 解析中

病理検査 : Mankin score : 1

→2014/4 月臨床研究終了

Entry No.7

37 歳女性

剥離試験不適合で逸脱

Entry No.8

53 歳男性

2013.6.26 移植施行

【術前評価】

Lysholm score : 27
KOOS score Total : 42.1
単純レントゲン写真 : grade3
MRI 検査 : grade2

関節鏡 : grade4

【術後 1 ヶ月】

Lysholm score : 69

KOOS score Total : 54.2

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後 3 ヶ月】

Lysholm score : 42

KOOS score Total : 64.3

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後 6 ヶ月】

Lysholm score : 57

KOOS score Total : 69.6

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

Entry No.9

59 歳女性

2013.8.1 移植施行

【術前評価】

Lysholm score : 28

KOOS score Total : 29.2

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

関節鏡 : grade3

【術後 1 ヶ月】

Lysholm score : 62

KOOS score Total : 70.7

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後 3 ヶ月】

Lysholm score : 73

KOOS score Total : 75.6

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後 6 ヶ月】

Lysholm score : 93

KOOS score Total : 85.7

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

Entry No.10

55 歳女性

2013.9.12 移植施行

【術前評価】

Lysholm score : 52

KOOS score Total : 54.2

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

関節鏡 : grade3

【術後 1 ヶ月】

Lysholm score : 50

KOOS score Total : 67.9

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後 3 ヶ月】

Lysholm score : 78

KOOS score Total : 67.9

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後 6 ヶ月】

Lysholm score : 67

KOOS score Total : 78

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

Entry No.11

54 歳男性

2013.11.21 移植施行

【術前評価】

Lysholm score : 60

KOOS score Total : 66.1

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

関節鏡 : grade3

【術後 1 ヶ月】

Lysholm score : 58

KOOS score Total : 54.3

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

【術後 3 ヶ月】

Lysholm score : 63

KOOS score Total : 67.3

単純レントゲン写真 : grade3

MRI 検査 : grade2

E. 結果

以上、2014年3月31日までに11症例がエントリーし、8症例に軟骨細胞シート移植を施行した。第1~4例は移植術後1年が経過し、臨床研究を終了している。

F. 考察

これまでに移植後1年経過した4症例に関しては、術後1年後の臨床評価スコア(表3,4参照)、単純レントゲン写真、MRI検査、関節鏡検査、病理検査において術前から軟骨変性の改善を認めている。また臨床研究中の重篤な有害事象の発生も認めず、

軟骨細胞シート移植による有効な関節軟骨再生効果が得られている。

今後は移植症例数をさらに追加し、軟骨細胞シート移植による関節治療効果の検討を進め、先進医療としての実現を目指す予定である。

G. 健康危害情報

本研究による健康危害情報はなかった。

H. 研究発表

1. 著書

なし

2. 論文発表

なし

I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

1 Kellgren-Lawrence Grading Scale

Grade1 : doubtful narrowing of joint space and possible osteophytic lipping

Grade2 : definite osteophytes, definite narrowing of joint space

Grade3 : moderate multiple osteophytes, definite narrowing of joints space, some sclerosis and possible deformity of bone contour

Grade4 : large osteophytes, marked narrowing of joint space, severe sclerosis and definite deformity of bone contour

2 Nelson の MRI 分類

Grade0 : normal

Grade1 : intact cartilage with signal change

Grade2 : high signal breach of cartilage

Grade3 : thin, high signal rim extending behind the osteochondral fragment indicating synovial fluid around the fragment

Grade4 : mixed or low signal loose body in the center of lesion or free within the joint

3 Outerbridge-Brittberg

grade1 : 関節軟骨の軟化を認める

grade2 : 軟骨表面の羽毛立ち、浅い亀裂を認める

grade3 : 軟骨下骨の深さまでの軟骨損傷があるが、軟骨下骨の露出は認めない

grade4 : 軟骨下骨の露出を認める

4 Mankin score system

: 構造

a. 正常 : 0

b. 表面の不整 : 1

c. 表面の不整、パンヌス形成 : 2

d. 中間層までの亀裂 : 3

e. 深層までの亀裂 : 4

f. 石灰化層までの亀裂 : 5

g. 完全な破壊 : 6

：細胞

- a. 正常：0
- b. びまん性の細胞数増加：1
- c. クローニング：2
- d. 細胞数減少：3

：サフラニン-O 染色性

- a. 正常：0
- b. 軽度の低下：1
- c. 中等度の低下：2
- d. 重度の低下：3
- e. 染色性の消失：4

：Tidemark の状態

- a. 正常：0
- b. 血管の横断：0

総得点：0～14

軽度変性：1-3

中等度変性：4-7

重度変性：> 7

表 1. 第 1 症例の超音響検査法評価結果

Day	手術前	12 ヶ月
評価日	2011 12 / 21	2013 1 / 7
移植部	0.65	0.87
周辺軟骨部	1	1

表 2. 第 2 症例の光音響検査法評価結果

Day	手術前	12 ヶ月
評価日	2012 02 / 14	2013 3 / 8
移植部	0.60	1.06
周辺軟骨部	1	1

表 3. 第 1 ~ 4 症例の Tegner-Lysholm Knee Scoring Scale 推移

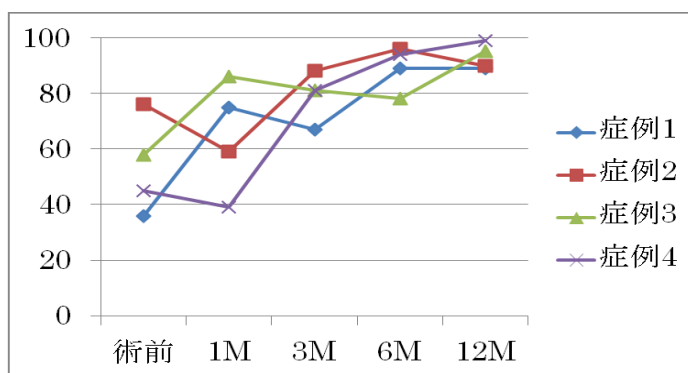
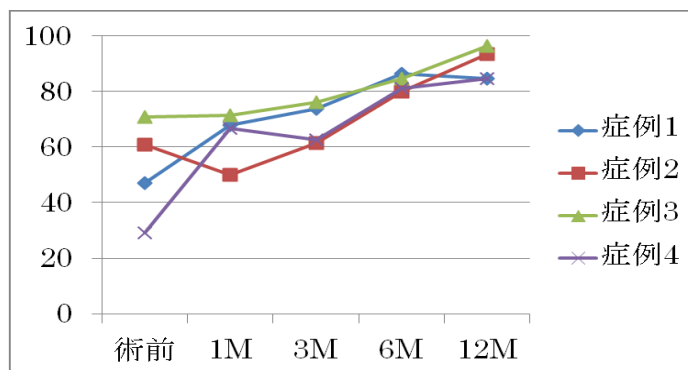


表 4. 第 1 ~ 4 症例の Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score 推移



付記 「細胞シートによる関節治療を目指した臨床研究」 研究実施の流れ

