

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、滑膜由来間葉系幹細胞（MSC）を用いた再生医療のレギュトリーサイエンスについての国内外の情報収集、解析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。また早川は（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ないことがない等、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2月に第1例目の臨床研究を開始し、平成26年3月までに4例の移植を終了した。5例目の移植も本年度中に終了する予定であったが、5例目のマトリックス形成が不良でありTECの出荷基準を満たさず、移植を中止した。

移植1例目の関節鏡視では、軟骨損傷部は隣接組織との癒合良好な修復組織を認め、現在生検組織標本を作製中である。

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との薬事戦略相談を実施し、安全性の観点から必要とされる培地原材料の基準を確認した。加えてGLPによる非臨床試験の試験デザインを確認した。

国内外での情報収集や交流を行い、本研究事業の薬事戦略支援を進める上で必要な情報収集ネットワークを強化し、有用な知見を蓄積した。

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

1例目の関節鏡視により、TEC移植によりヒトでも軟骨修復促進が示唆された。また現在移植に伴う大きな有害事象は認めておらず、安全性に関しても良好な結果が得られることが期待される。TECの形成が悪かった1例に関しては、直前の顔面神経麻痺に対するステロイドパルス等の影響が考えられ、現在同症例細胞を用いた特性解析を進めている。

E．結論

4例のTEC移植が完了し1例に関しては最終評価を行うことができた。試験と並行したPMDAとの薬事戦略相談、情報収集、さらには手術手技改良も順調に推移している。

F．健康危険情報

特になし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Nakamura N. Platelet-rich plasma added to the patellar tendon harvest site during anterior cruciate ligament reconstruction enhanced healing. *J Bone Joint Surg Am.* 2013 95:942.
2. Fujie H, Nakamura N. Frictional properties of articular cartilage-like tissues repaired with a mesenchymal stem cell-based tissue engineered construct. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2013 Jul;2013:401-4.
3. Hui JH, Goyal D, Nakamura N, Ochi M. Cartilage repair in Asia: selected reports on research and clinical trials. *Arthroscopy.* 2013 Dec;29(12):1991.
4. Hui JH, Goyal D, Nakamura N, Ochi M; Asian Cartilage Society. Cartilage repair: 2013 asian update. *Arthroscopy.* 2013 Dec;29(12):1992-2000.
5. Shino K, Gobbi A, Nakamura N, Kumar A, Mae T. How to Handle a Poorly Placed Femoral Tunnel in ACL Revision Surgery. (Ed) Marx RG. *Reconstruction: Indications and Technique.* Springer 2013
6. 大家 溪, 佐藤慶秀, 青木 峻, 下村和範, 鈴木健司, 中村憲正, 藤江裕道, 培養表面のマイクロ周期構造が間葉系幹細胞自己生成組織の力学特性におよぼす影響, *材料の科学と工学*, 2013; 50(1): 34-39.
7. 杉田憲彦 中村憲正 アスリートの関節軟骨損傷、その病態と治療の overveiw *臨床スポーツ医学* 第30巻 第4号 P303-308
8. 小泉宏太, 杉田憲彦, 安井行彦, 吉川秀樹, 中村憲正: 半月板変性に対する治療法、国際的現況, *Bone Joint Nerve*, 4: 133-139, 2014.

2. 研究発表

- ・ Annual meeting of Orthopaedic Research Society 2013, San Antonio, January 26, 2013
Yu Moriguchi, Takeshi Teramura, Haruko Hasegawa, Morito Sakaue, Ryota Chijimatsu, Norihiko Sugita, Kota Koizumi, Hideki Yoshikawa, Akira Myoui, Norimasa Nakamura Development of Sca_old-Free Tissue-Engineered Construct (TEC) with Chondrogenic Differentiation Capacity Using Rabbit Embryonic Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells
- ・ 11th International Cartilage Repair Society 2013, Izmir, September 12, 2013
Shimomura K, Moriguchi Y, Ando W, Nansai R, Fujie H, Horibe S, Shino K, Yoshikawa H, Nakamura N. Comparison of hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate-based

biphasic implant for osteochondral repair.

- ・ 11th International Cartilage Repair Society 2013, Izmir, September 12, 2013
Moriguchi Y, Shimomura K, Teramura T, Ando W, Sakaue M, Hasegawa H, Sugita N, Shino K, Yoshikawa H, Nakamura N Development of scaffold-free tissue-engineered construct (TEC) with chondrogenic differentiation capacity using rabbit embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells.

- ・ 11th International Cartilage Repair Society 2013, Izmir, September 12, 2013
Morito Sakaue, Y. Moriguchi, N. Sugita, H. Hasegawa, R. Chidimatsu, K. Koizumi, Y. Yasui, H. Yoshikawa, N. Nakamura Effect of preservation conditions of human synovial mesenchymal stem cell (MSC) derived tissue engineer construct (TEC) on its chondrogenic differentiation.

- ・ 11th International Cartilage Repair Society 2013, Izmir, September 12, 2013
W. Ando, Y. Moriguchi, R. Nansai, R. Chijimatsu, K. Shimomura, H. Yoshikawa, H. Fujie, N. Nakamura, Abnormalities in the superficial zone of repair cartilage using a tissue engineered construct (TEC) derived from mesenchymal stem cells

- ・ 阪上守人 森口悠 杉田憲彦 千々松良太 安井行彦 小泉宏太 吉川秀樹 中村憲正 ヒト滑膜由来間葉系幹細胞から作成した三次元人工組織(TEC)の移植前保存条件の検討 第12回 日本再生医療学会学術集会 平成25年3月21日 横浜

- ・ 青木 峻, 大家 溪, 杉田憲彦, 中村憲正, 藤江裕道, ナノ周期構造表面を用いた幹細胞自己生成組織の創成, 第4回日本材料科学会医用・生体材料分科会講演会講演予稿集, 32, 2013, 3: 八王子.

- ・ 谷 優樹, 大家 溪, 中村憲正, 杉田憲彦, 藤江裕道, フェムト秒レーザーによりチタン表面に形成したナノ周期構造が間葉系幹細胞の接着特性に及ぼす影響, 第4回日本材料科学会医用・生体材料分科会講演会講演予稿集, 33, 2013, 3: 八王子.

- ・ 池谷基志, 大家 溪, 杉田憲彦, 中村憲正, 藤江裕道, 幹細胞自己生成組織の多層化, 第4回日本材料科学会医用・生体材料分科会講演会講演予稿集, 34, 2013, 3: 八王子.

- ・ 中村亮介, 藤江裕道, 中村憲正, ウサギ修復軟骨のナノスケール摩擦特性, 第4回日本材料科学会医用・生体材料分科会講演会講演

予稿集, 35, 2013, 3: 八王子.

- ・谷 優樹, 大家 溪, 杉田憲彦, 中村憲正, 藤江裕道, フェムト秒レーザにより加工したナノ周期構造が間葉系幹細胞の接着特性に及ぼす影響, 日本機械学会関東支部講演会抄録, 75,76, 2013, 3: 東京.
- ・池谷 基志, 大家 溪, 杉田 憲彦, 中村 憲正, 藤江 裕道, 多層化した幹細胞自己生成組織の力学特性, 日本材料科学会学術講演大会予稿集, ??, 2013, 6: 東京.
- ・谷 優樹, 大家 溪, 杉田 憲彦, 中村 憲正, 藤江 裕道, ナノ周期構造の形状の違いが間葉系幹細胞の接着特性におよぼす影響, 日本材料科学会学術講演大会予稿集, ??, 2013, 6: 東京.
- ・大家 溪, 谷 優樹, 中村憲正, 藤江裕道, ナノ・マイクロ加工表面における幹細胞培養と基質生成, 日本機械学会機械材料・材料加工部門講演会 (M&P2013) ワークショップ: 関節のバイオメカニクス - 生体医工学における材料と加工 -, WS2, 2013, 11: 八王子.
- ・今出久一郎, 望月翔太, 中村亮介, 中村憲正, 藤江裕道, 間葉系幹細胞を用いた軟骨修復, 日本機械学会機械材料・材料加工部門講演会 (M&P2013) ワークショップ: 関節のバイオメカニクス - 生体医工学における材料と加工 -, WS3, 2013, 11: 八王子.
- ・谷 優樹, 大家 溪, 杉田憲彦, 中村憲正, 藤江裕道, フェムト秒レーザ加工によるナノ周期構造の創成と間葉系幹細胞の接着特性, 日本機械学会機械材料・材料加工部門講演会 (M&P2013), 512, 2013, 11: 八王子.
- ・中村 亮介, 望月 翔太, 中村 憲正, 藤江 裕道, 滑膜由来間葉系幹細胞より生成した組織再生材料と人工骨補填材を用いた軟骨修復 - ナノスケール力学特性 -, 日本臨床バイオメカニクス学会抄録集, 157, 2013, 11: 神戸.
- ・望月 翔太, 中村 亮介, 中村 憲正, 藤江 裕道, 滑膜由来間葉系細胞より生成した組織再生材料と人工骨補填剤を用いた軟骨修復 - マクロスケール力学特性 -, 日本臨床バイオメカニクス学会抄録集, 157, 2013, 11: 神戸.
- ・今出久一郎, 望月翔太, 柳田 駿, 藤江 裕, 道線維強化多孔質弾性体モデルを用いた変性軟骨の力学特性解析, 日本臨床バイオメカニクス学会抄録集, 166, 2013, 11: 神戸

3. 講演

- ・The 16th US-Japan Cellular and Gene Therapy Conference -Potential Applications of Mesenchymal Multipotent Stromal Cells- Thursday, February 28, 2013, National

Institutes of Health, Maryland, USA
Nakamura N. Cartilage Repair using a scaffold-free tissue engineered construct derived from synovial mesenchymal stem cells

- ・広島大学歯学部特別講義 2013年2月6日 広島大学
- 中村憲正 間葉系幹細胞による軟骨再生 - 現状と展望 -
- ・第39回 九州膝関節研究会 平成25年3月9日 福岡
- 中村憲正 関節の再生医療 - その最先端と未来像 -
- ・第11回日本再生医療学会 パネルディスカッション4 広範囲軟骨欠損を再生医療でどこまで直せるか? 横浜 平成25年4月12日
- 中村憲正 下村和範 森口悠 藤江裕道 吉川秀樹
- 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軟骨再生
- ・第11回日本再生医療学会、ランチョンセミナー 横浜 平成25年4月12日
- 中村憲正 スキャフォールドフリー間葉系幹細胞由来三次元人工組織(TEC)移植による軟骨修復
- ・第86回 日本整形外科学会学術集会 教育研修講演 平成25年5月24日 広島
- 中村憲正 スキャフォールドフリー間葉系幹細胞由来人工組織による軟骨再生
- ・第7回 医療機器レギュラトリーサイエンス研究会 平成25年5月28日(火)東京
- 中村憲正 関節軟骨再生医療に関するガイドライン構築にむけて
- ・NEDO公開シンポジウム~再生医療の産業化を支える技術開発~ 2013年10月10日 横浜
- 中村憲正 スキャフォールドフリー間葉系幹細胞由来三次元人工組織による軟骨再生
- ・第51回 日本人工臓器学会大会 2013年9月29日 横浜
- 中村憲正 関節軟骨再生医療の評価指標・ガイドラインの構築
- ・第28回 日本整形外科学会基礎学術集会シンポジウム 平成25年10月18日 千葉
- 中村憲正 森口悠 下村和範 寺村岳士 千々松良太 安井行彦 小泉宏太 福田寛二 吉川秀樹

ウサギ胚性幹細胞由来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 北海道大学 ORS 平成25年10月28日

中村憲正 関節軟骨の再生医療 -その現状と未来像-

・第2回 Knee Osteotomy フォーラム 平成25年10月19日 東京

中村憲正 軟骨再生の現状と将来展望 -HTOとの関連について-

・大阪大学大学院医学系研究科 English lecture 平成25年12月13日 大阪

Nakamura N. Scaffold-free Tissue Engineered Construct (TEC) derived from synovial mesenchymal stem cells to repair and regenerate cartilage

・9th Biennial Congress of ISAKOS Pre-course "Study Design" May 11, 2013, Toronto, Canada

Nakamura N. Assessment of Biological Outcomes in Clinical Research -Cartilage repair as a model-

・9th Biennial Congress of ISAKOS May 12-16, 2013, Toronto, Canada

Nakamura N, Shinomura K, Moriguchi Y, Yoshikawa H, Shino K Biological resurfacing of osteochondral lesions using a novel biphasic implant made of scaffold-free tissue engineered construct derived from synovial mesenchymal stem cells and hydroxyapatite-based artificial bone. -A potential future option-

・International Society of Cartilage Repair in Ankle 2013 Asian meeting, August 2, 2013, Tokyo

Nakamura N. Stem cell therapy in Cartilage repair

・11th International Cartilage Repair Society 2013, Izmir, September 12, 2013

N. Nakamura Evolution and Implementation of Clinical Cartilage Tissue Engineering Strategies

・World Summit of Regenerative Medicine October 21, 2013, Xian, China

Nakamura N. Stem cell-based therapy in Cartilage Repair

・2nd Combined Congress of Asian Cartilage Repair Society and Indian Cartilage Society Nakamura N Yasui Y Koizumi K Synovial mesenchymal stem cell-based cartilage repair -In vitro characterization of Tissue Engineered Construct (TEC)-

2nd Combined Congress of Asian Cartilage Repair Society and Indian Cartilage Society

Nakamura N Yonetani Y Management of Chondral Fracture of the Knee

・ICRS Focus meeting on Stem Cells and Scaffolds December 5, 6 Bologna, Italy Nakamura N. Scaffold-free Tissue Engineered Construct (TEC) derived from synovial mesenchymal stem cells to repair and regenerate cartilage

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を用いた骨軟骨再生治療出願中 PCT

・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中 PCT/JP2012/008410