

201306013A

厚生労働科学研究費補助金  
再生医療実用化研究事業

関節鏡視下自己骨髄間葉系幹細胞移植による  
関節軟骨欠損修復—多施設共同、非盲検、  
ランダム化、並行比較試験

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 脇谷 滋之

平成25(2013)年3月

## 目 次

I. 総括研究報告	
関節鏡視下自己骨髄間葉系幹細胞移植による関節軟骨欠損修復 —多施設共同、非盲検、ランダム化、並行比較試験	1
脇谷滋之	
II. 分担研究報告	
1. 関節鏡視下自己骨髄間葉系細胞移植による関節軟骨欠損修復に関する研究	6
越智光夫	
2. 関節鏡視下自己骨髄間葉系細胞移植による関節軟骨欠損修復に関する研究	8
吉矢晋一	
3. 関節鏡視下自己骨髄間葉系細胞移植による関節軟骨欠損修復に関する研究	10
赤木将男	
4. 関節鏡視下自己骨髄間葉系細胞移植による関節軟骨欠損修復に関する研究	12
田中康仁	
5. 関節鏡視下自己骨髄間葉系幹細胞移植による関節軟骨欠損修復に関する研究	14
橋本祐介	
6. 関節鏡視下自己骨髄間葉系幹細胞移植による関節軟骨欠損修復 —多施設共同、非盲検、ランダム化、並行比較試験	17
名井 陽	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	20
IV. 研究成果の刊行物・別刷	21

関節鏡視下自己骨髄間葉系幹細胞移植による関節軟骨欠損修復  
—多施設共同、非盲検、ランダム化、並行比較試験

研究代表者 脇谷 滋之 武庫川女子大学 健康・スポーツ科学部 教授

研究要旨

関節鏡視下に、骨髄刺激法と単独と骨髄刺激法に自己骨髄間葉系幹細胞移植を併用した新たな関節軟骨欠損修復法の長期的安全性と有効性を検討するために、多施設共同ランダム化並行比較試験を計画立案し、準備し開始する。

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

越智光夫・広島大学大学院医歯薬保健  
学研究院整形外科学 教授

吉矢晋一・兵庫医科大学 整形外科学  
教授

赤木将男・近畿大学医学部 整形外科  
教授

田中康仁・奈良県立医科大学整形外科  
学 教授

橋本祐介・大阪市立大学大学院医学研  
究科 整形外科学 講師

名井陽・大阪大学医学部附属病院 准  
教授

に修復する方法は確立されていない。従来、軟骨損傷に対して行われてきた骨髄刺激法は軟骨下骨の連続性を絶ち出血させることで骨髄中の間葉系細胞を動員し修復を得る方法である。簡便に施行できるため昔から広く行われてきたが、これにより修復される組織は線維軟骨であるために、将来的には変形性関節症になると考えられている。近年開発されたモザイクプラスチックあるいは自己培養軟骨細胞移植は、正常の軟骨組織を一部犠牲にしなければならないなどいくつかの欠点がある。

本臨床研究の目的は、関節鏡視下に、骨髄刺激法と自己骨髄間葉系幹細胞移植を併用した新たな関節軟骨欠損修復法の長期的安全性と有効性を、標準的治療である骨髄刺激療法単独と比較し、有効性において優れており、安全性において非劣性であると推定可能であるか否かを明らかにすることである。

A. 研究目的

関節軟骨の損傷は自然修復が期待できず、放置すると10年から20年の長期の経過で変形性関節症に移行すると考えられる。したがってもし可能なら修復すべきであるが、現在のところ、関節軟骨を完全にかつ確実に

## B. 研究方法

### [患者選択]

実施計画書に記入された対象疾患患者で選択基準を満たす患者を選択する。

### [細胞の採取方法]

プロトコル治療実施研究機関で定められた手順書に従って約30mLの自己骨髄液の採取を行い、直ちに搬送容器に収納して試験物調製施設に冷蔵輸送する。輸送中の温度変化を輸送容器内に設置された測定装置で記録する。

### [調製方法]

試験物調製施設の手順書に従い、骨髄液約30mLに培養液を加え、T-500フラスコ6個で培養する。培養液は3～4日毎に交換する。培養開始から数日後に接着性の骨髄間葉系細胞が出現する。赤血球等の非接着細胞は培養液交換時に除去される。9～12日後に細胞を剥離して、遠心分離法で回収する。自己血清とヒアルロン酸の混合液に細胞を懸濁し、移植用細胞（試験物）とする。試験物を搬送容器に入れ、試験物調製施設からプロトコル治療実施研究機関に冷蔵輸送する。輸送中の温度変化を輸送容器内に設置された測定装置で記録する。

### [移植・投与方法]

プロトコル治療実施研究機関で、関節鏡手術にて関節軟骨欠損部に骨髄刺激法を施術する。細胞治療群においては、さらに試験物を関節内に注入する。治療後に創部を縫合し、手術を終了する。術後は抗菌薬を投与して感染予防を行なう。

[臨床研究施行の準備] 上記、臨床研究を施行するためにドライランを施行し、細胞の増殖が良好で、簡便な培養方法を開発を計画した。

臨床研究を施行するための臨床試験保険加入、CRFの作成、コーディネーターの

設定、データ割り付けシステム、データセンターでのデータ管理システムを作成した。（倫理面への配慮）

自己細胞移植を受ける患者に対して、試提供者に一切不利益、危険性が伴わないように配慮し、人権擁護を含めたインフォームドコンセントのもとに施行する。研究目的を含め、研究内容の倫理的、科学的妥当性について適正な倫理委員会等による審査・承認を得て、さらに厚生労働省「ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会」に申請し、承認を得た。対象患者は16才から70才である。この臨床研究の利点、不利益を十分に説明し、文書による同意が得られていることを前提とした。本人が未成年の場合、本人に加え、法廷代理人（代諾者）の文書による同意を必要とした。未成年者は中間評価が終了するまで登録しないこととした。文書による同意の後でも、いつでも研究参加を断ることは自由であり、それにより何ら不利益を得ないことを説明に加えた。

## C. 研究結果

本臨床研究を行うにあたりその準備として以下のことを行った。

### 1. 細胞培養プロトコルの改良、確定、標準手順書の作成およびその手順書の大坂大学CPCコンピュータシステムへの移植

細胞培養を簡便に、しかも確実に細胞を増殖させることが出来るように改良を行った。

継代培養の時に失われる細胞が多いこと、継代直後の細胞分裂が活発でないことから、当初の培養用フラスコを大きいものに変更し、継代培養を行わないこととした。比較培養を繰り返し、充分量の

細胞数が得られることを確認した。

	年齢	継代	継代 日数	細胞 数	生存 率%	CD44/105 陽性%
検体1	23	-	15	24	87	92.5
検体2	45	-	14	7.6	88	69.8
検体3	64	+	10	8.7	78	99
検体4	59	+	10	3.8	84	99

これに基づき、標準手順書を改訂し各施設に配布した。

大阪大学未来医療センターでの細胞培養のチェックは紙ベースではなく、コンピューターベースなので、改良した細胞培養標準手順書をコンピューターに移植した。これに基づきドライランを施行し、年度内にコールドランを施行予定である。

## 2. 臨床研究保険への加入

5病院で行われる細胞移植群40例、対照群40例のカバーする臨床試験賠償責任保険および補償責任保険について見積もりを取り、我々の希望条件を満たし、最も安価であった保険会社と契約した。

## 3. 症例報告書 (clinical report form ; CRF) の確定

臨床データ収集のためにCRFを確定した。

実施計画書の『15.1. 症例報告書の種類』にCRFが以下の5つの分冊になることを記載した。

1. スクリーニング～手術6週後
2. 手術12週後
3. 手術24週後
4. 手術48週後
5. 再同意・併用治療・有害事象

## 4. モニターの準備

臨床データ収集において、カルテからCRFへの記載の齟齬をなくすため、両者を比較し確認するモニターを準備する

こととし、派遣する会社と契約した。

手続き上、各施設の研究責任者又は分担者は、登録した被験者について症例報告書を作成し記入捺印又は署名の上、モニタリング実施期間による確認を受けることとした。

## 5. データセンターの準備

5病院の臨床データを客観的に一カ所で一括して処理するために、大阪大学データセンターに依頼した。

大阪大学データセンターと契約し、システムを作成した。

## 6. 登録システムの準備

登録患者をランダムに2群に分けて登録するために、登録センターと契約し、システムを作成した。

割付システムのURL及び、ログインID/パスワードを各施設に配布した。

## 7. キックオフミーティング

平成26年2月14日、大阪大学未来医療センターにて全体会議を施行し、臨床研究の準備状況を確認した。

次回会合を平成26年3月19日に開催し、臨床研究開始のキックオフ会議とすることとした。

これにより準備が完了し、患者の登録が可能になる予定である。

## D. 考察

前年度末、我々は、5病院6施設の施設内倫理審査委員会の承認を得たのち、厚生労働省「ヒト幹細胞と用いる臨床研究に関する指針」に申請した。

厚生労働省「ヒト幹細胞と用いる臨床研究に関する指針」への申請は、順次承認され、本年度前半には全施設で承認された。本年度に入り、細胞培養を簡素化しアイソレーターでの培養を容易にし、しかも充分

量の細胞を確保できるようにするために、細胞培養法の改良を開始した。

培養方法に関しては、検体1と2は従来通り継代培養を、検体3と4は継代培養なしで施行した。検体1と2の年齢が若く細胞増殖力が強く、特に検体1では多くの細胞が得られていた。しかし、年齢が64才、59才の検体3と4では、45才の検体2に匹敵する細胞が短い培養日数で得られ、生存率の十分で、特筆すべきは非常に高いCD44/105陽性率が得られた。

これに基づき、工程標準手順書を改訂した。

各施設、マイナー変更を倫理審査委員会に申請、承認後、厚生労働省「ヒト幹細胞と用いる臨床研究に関する指針」にも変更を届け出た。

この時点で我々は臨床研究を行うために準備を開始した。

結果に示したように、様々な必要事項を整えた。

症例数不足あるいは資金不足のため、各施設のコーディネーターを用いることが困難であったのでコーディネーターは設定せず、少なくとも2人以上の医師が、責任をもって臨床研究を進めることを基本とすることを確認した。

モニターは省略することは困難である。本研究の参加施設は4施設は関西地区にあるが、1施設は広島であるために少し距離がある。モニターが定期的に広い範囲を巡回し、カルテとCRFを照合し、確認することとした。疑義は担当医に確認し、大阪大学データセンターにCRFを送ることとした。

本研究においては、細胞移植群が5例に達した時点で臨床研究をいったん中止し、その安全性を確認するために、効果安全評

価委員会を開催し、安全性が確認されてから臨床で確実に登録を中断できるようにするため研究を再開することに設計されている。5例に、細胞移植3例目、および4例目でアラームを各施設に送付、5例目の登録で中止連絡が入るよう設定した。

平成26年3月初めに準備を完了し、19日に全施設の責任者を集め、キックオフミーティングを行う予定である。これにより、臨床研究の登録が可能になる。

## E. 結論

臨床研究開始のために様々な準備を行い、平成26年3月に完成、3月19日キックオフミーティングを行う予定である。これにより臨床研究のための登録が可能になる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- ・目良恒、脇谷滋之. 骨髄間葉系細胞移植による軟骨再生治療. *Pharma Medica* 31(4) : 21-24, 2013
- ・目良恒、糸数万紀、脇谷滋之. 軟骨修復・再生の歴史と未来. *CLINICAL CALCIUM* 23(12) : 23-30, 2013

### 2. 学会発表

- ・Wakitani S. Clinical experience of stem cell implantation in an OA joint. 1st Summit meeting of International Cartilage Repair Society, Tallin, May 30-31, 2013
- ・Wakitani S. Cartilage repair with autologous bone marrow mesenchymal stem cells in OA joints. 11th World Congress of International Cartilage Repair Soci-

ety, Izmir, September 15-18, 2013

- ・山崎真哉、脇谷滋之、橋本祐介、中村博亮. ビーグル犬を用いた骨髄間葉系幹細胞の軟骨修復能の効果検討. 第28回日本整形外科学会基礎学術集会2013.10.17

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 関節鏡視下自己骨髄間葉系細胞移植による関節軟骨欠損修復に関する研究

研究分担者 越智 光夫 広島大学大学院医歯薬保健学研究院整形外科学 教授

### 研究要旨

関節鏡視下に、骨髄刺激法と自己骨髄間葉系細胞移植を併用した新たな関節軟骨欠損修復法の長期的安全性と有効性を検討する。

### A. 研究目的

本臨床研究の目的は、関節鏡視下に、骨髄刺激法と自己骨髄間葉系細胞移植を併用した新たな関節軟骨欠損修復法の長期的安全性と有効性を、標準的治療である骨髄刺激療法単独と比較し、有効性において優れており、安全性において非劣性であると推定可能であるか否かを明らかにすることである。

### B. 研究方法

#### [細胞の採取方法]

プロトコル治療実施研究機関で定められた手順書に従って約30mLの自己骨髄液の採取を行い、直ちに搬送容器に収納して試験物調製施設に冷蔵輸送する。輸送中の温度変化を輸送容器内に設置された測定装置で記録する。

#### [調製方法]

試験物調製施設の手順書に従い、骨髄液約30mLに培養液を加え、T-500フラスコ6個で培養する。培養液は3～4日毎に交換する。培養開始から数日後に接着性の骨髄間葉系細胞が出現する。赤血球等の非接着細胞は培養液交換時に除去される。9～12

日後に細胞を剥離して、遠心分離法で回収する。自己血清とヒアルロン酸の混合液に細胞を懸濁し、移植用細胞（試験物）とする。試験物を搬送容器に入れ、試験物調製施設からプロトコル治療実施研究機関に冷蔵輸送する。輸送中の温度変化を輸送容器内に設置された測定装置で記録する。

#### [移植・投与方法]

プロトコル治療実施研究機関で、関節鏡手術にて関節軟骨欠損部に骨髄刺激法を施行する。細胞治療群においては、さらに試験物を関節内に注入する。治療後に創部を縫合し、手術を終了する。術後は抗菌薬を投与して感染予防を行なう。

#### (倫理面への配慮)

自己細胞移植を受ける患者に対して、試料提供者に一切不利益、危険性が伴わないように配慮し、人権擁護を含めたインフォームドコンセントのもとに施行する。研究目的を含め、研究内容の倫理的、科学的妥当性について適正な倫理委員会等による審査・承認を得て、さらに厚生労働省「ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会」に申請し、承認を得た。



## C. 研究結果

移植する間葉系細胞の培養および品質評価に関して教育・訓練を行った。

本報告書作成時点において臨床研究の準備中であり、患者さんへの移植手術は施行していない。

## D. 考察

間葉系細胞の培養および表面マーカー解析の条件検討を終了した。

## E. 結論

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

・ 亀井豪器、安達伸生、越智光夫. 自家培養軟骨移植による軟骨再生治療と磁気ターゲティングによる新たな治療開発.  
Pharma Medica 31(4) : 25-28, 2013

### 2. 学会発表

なし

## H. 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

## 関節鏡視下自己骨髄間葉系細胞移植による関節軟骨欠損修復に関する研究

研究分担者 吉矢 晋一 兵庫医科大学 整形外科学 教授

### 研究要旨

関節鏡視下に、骨髄刺激法と自己骨髄間葉系細胞移植を併用した新たな関節軟骨欠損修復法の長期的安全性と有効性を検討する。

### A. 研究目的

本研究の目的は、関節鏡下に、骨髄刺激法と自己骨髄間葉系細胞移植を併用した新たな関節軟骨欠損修復法の長期（48週）の安全性と有効性を、標準的治療である骨髄刺激療法単独と比較し、有効性において優れており、安全性において非劣性であると推定可能であるか否かを明らかにすることである。

### B. 研究方法

#### [細胞の採取方法]

プロトコル治療実施研究機関で定められた手順書に従って約30mLの自己骨髄液の採取を行い、直ちに搬送容器に収納して試験物調製施設に冷蔵輸送する。輸送中の温度変化を輸送容器内に設置された測定装置で記録する。

#### [調製方法]

試験物調製施設の手順書に従い、骨髄液約30mLに培養液を加え、T-500フラスコ6個で培養する。培養液は3～4日毎に交換する。培養開始から数日後に接着性の骨髄間葉系細胞が出現する。赤血球等の非接着細胞は培養液交換時に除去される。約10日

後に細胞を剥離して、遠心分離法で回収する。自己血清とヒアルロン酸の混合液に細胞を懸濁し、移植用細胞（試験物）とする。試験物を搬送容器に入れ、試験物調製施設からプロトコル治療実施研究機関に冷蔵輸送する。輸送中の温度変化を輸送容器内に設置された測定装置で記録する。

#### [移植・投与方法]

プロトコル治療実施研究機関で、関節鏡手術にて関節軟骨欠損部に骨髄刺激法を施術する。細胞治療群においては、さらに試験物を関節内に注入する。治療後に創部を縫合し、手術を終了する。術後は抗菌薬を投与して感染予防を行なう。

#### (倫理面への配慮)

自己細胞移植を受ける患者に対して、一切不利益、危険性が伴わないように配慮し、人権擁護を含めたインフォームドコンセントのもとに施行する。研究目的を含め、研究内容の倫理的、科学的妥当性について適正な倫理委員会等による審査・承認を得た上で、さらに厚生労働省「ヒト幹細胞に用いる臨床研究に関する指針」に申請し、承認後に施行する。

## C. 研究結果

本報告書作成時点において臨床研究の準備中であり、患者さんへの移植手術は施行していない。

## D. 考察

なし

## E. 結論

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

## H. 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

## 関節鏡視下自己骨髄間葉系細胞移植による関節軟骨欠損修復に関する研究

研究分担者 赤木 将男 近畿大学医学部 整形外科 教授

### 研究要旨

関節鏡視下に、骨髄刺激法と自己骨髄間葉系細胞移植を併用した新たな関節軟骨欠損修復法の長期的安全性と有効性を検討する。

### A. 研究目的

本臨床研究の目的は、関節鏡視下に、骨髄刺激法と自己骨髄間葉系細胞移植を併用した新たな関節軟骨欠損修復法の長期的安全性と有効性を、標準的治療である骨髄刺激療法単独と比較し、有効性において優れており、安全性において非劣性であると推定可能であるか否かを明らかにすることである。

### B. 研究方法

#### [細胞の採取方法]

プロトコル治療実施研究機関で定められた手順書に従って約30mLの自己骨髄液の採取を行い、直ちに搬送容器に収納して試験物調製施設に冷蔵輸送する。輸送中の温度変化を輸送容器内に設置された測定装置で記録する。

#### [調製方法]

試験物調製施設の手順書に従い、骨髄液約30mLに培養液を加え、T-500フラスコ6個で培養する。培養液は3～4日毎に交換する。培養開始から数日後に接着性の骨髄間葉系細胞が出現する。赤血球等の非接着細胞は培養液交換時に除去される。9～12

日後に細胞を剥離して、遠心分離法で回収する。自己血清とヒアルロン酸の混合液に細胞を懸濁し、移植用細胞（試験物）とする。試験物を搬送容器に入れ、試験物調製施設からプロトコル治療実施研究機関に冷蔵輸送する。輸送中の温度変化を輸送容器内に設置された測定装置で記録する。

#### [移植・投与方法]

プロトコル治療実施研究機関で、関節鏡手術にて関節軟骨欠損部に骨髄刺激法を施行する。細胞治療群においては、さらに試験物を関節内に注入する。治療後に創部を縫合し、手術を終了する。術後は抗菌薬を投与して感染予防を行なう。

#### (倫理面への配慮)

自己細胞移植を受ける患者に対して、試料提供者に一切不利益、危険性が伴わないように配慮し、人権擁護を含めたインフォームドコンセントのもとに施行する。研究目的を含め、研究内容の倫理的、科学的妥当性について適正な倫理委員会等による審査・承認を得た上で、さらに厚生労働省「ヒト幹細胞に用いる臨床研究に関する指針」に申請し、承認後に施行する。

## C. 研究結果

本報告書作成時点において臨床研究の準備中であり、患者さんへの移植手術は施行していない。

## D. 考察

なし

## E. 結論

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

## H. 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

## 関節鏡視下自己骨髄間葉系細胞移植による関節軟骨欠損修復に関する研究

研究分担者 田中 康仁 奈良県立医科大学整形外科学 教授

### 研究要旨

関節軟骨欠損に対して、関節鏡視下に骨髄刺激法と自己骨髄間葉系幹細胞移植を併用した新たな修復法の効果を検証することである。

### A. 研究目的

本臨床研究の目的は、関節鏡下に、骨髄刺激法と自己骨髄間葉系細胞移植を併用した新たな関節軟骨欠損修復法の長期(48週)の安全性と有効性を、標準的治療である骨髄刺激療法単独と比較し、有効性において優れており、安全性において非劣性であると推定可能であるか否かを明らかにすることである。

### B. 研究方法

局所麻酔下、腸骨から骨髄液を採取する。その後、約10日間、培養増殖させる。関節軟骨欠損部に関節鏡視下に骨髄刺激法を施行し、同時にあらかじめ培養増殖させた自己骨髄間葉系細胞を関節内に注入する。対象は関節軟骨欠損部に関節鏡下に骨髄刺激法のみを施行する。術後48週まで、定期的に血液検査、MRIにて有効性を評価する。  
(倫理面への配慮)

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、本臨床研究への参加を求める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。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。

### C. 研究結果

被験者の登録、割付業務を行うメビックス(株)と契約し、web登録システムの構築を行った。モニタリング業務を行うウェルビー(株)と契約し、試験工程の調整を行った。臨床試験の準備段階でまだ行っていない。

### D. 考察

被験者のプライバシーを保護し、健康被害が発生しないように慎重に準備する必要がある。

## E. 結論

臨床試験準備段階である。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

発表なし

### 2. 学会発表

発表なし

## H. 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

## 関節鏡視下自己骨髄間葉系幹細胞移植による関節軟骨欠損修復に関する研究

研究分担者 橋本 祐介 大阪市立大学大学院医学研究科 整形外科学 講師

### 研究要旨

関節鏡視下に、骨髄刺激法と自己骨髄間葉系幹細胞移植を併用した新たな関節軟骨欠損修復法の長期的安全性と有効性を検討する。

### A. 研究目的

関節軟骨が損傷は自然修復が期待できず、放置すると変形性関節症に移行すると考えられる。現在のところ、関節軟骨を完全にかつ確実に修復する方法は確立されていない。従来、軟骨損傷に対して行われてきた骨髄刺激法は軟骨下骨の連続性を絶ち出血させることで骨髄中の間葉系細胞を動員し修復を得る方法である。簡便に施行できるため昔から広く行われてきたが、これにより再生されるのは線維軟骨であり、将来的には変形性関節症になると考えられている。近年開発されたモザイクプラスチックあるいは自己培養軟骨細胞移植は、正常の軟骨組織を一部犠牲にしなければならないなどいくつかの欠点がある。

本臨床研究の目的は、関節鏡視下に、骨髄刺激法と自己骨髄間葉系幹細胞移植を併用した新たな関節軟骨欠損修復法の長期的安全性と有効性を、標準的治療である骨髄刺激療法単独と比較し、有効性において優れており、安全性において非劣性であると推定可能であるか否かを明らかにすることである。

### B. 研究方法

#### [対象疾患]

外傷性損傷あるいは離断性骨軟骨炎に起因する膝関節軟骨損傷

#### [選択基準]

以下に挙げた全ての項目を満たす患者を選択する。

- 1) 対象疾患に対して骨髄刺激法の施行が予定されている患者
- 2) MRIで関節軟骨の50%以上の損傷が認められる患者（International Cartilage Repair Society (ICRS) articular cartilage injury classificationグレード3以上に相当）
- 3) MRIで損傷面積が $2\text{cm}^2$ 以上と診断された患者
- 4) 同意取得時年齢が16歳以上、70歳以下の患者。ただし、中間評価が終了するまでは20歳未満の患者は登録しないこととする。
- 5) 本人の文書による同意が得られている患者。本人が未成年の場合、本人に加え、法定代理人（代諾者）の文書による同意が得られている患者。



### [細胞の採取方法]

自己末梢血液採取（細胞移植群のみ）

プロトコル治療実施研究機関で約400mLの自己末梢血液採取を行い、血清を分離凍結後、試験物調製施設に輸送する。必要に応じて、1回目の自己血採取の1週間後（細胞培養開始後）にも、同様の手順で2回目の自己血清採取並びに試験物調製施設への輸送を行う。

骨髄液の採取（細胞移植群のみ）

プロトコル治療実施研究機関で定められた手順書に従って約30mLの自己骨髄液の採取を行い、直ちに血液搬送用クーラーボックスに保存して試験物調製施設に搬送する。温度変化はクーラーボックスに設置された温度センサーでチェックして記録する。

細胞、血清の調製（細胞移植群のみ）

試験物調製施設の使用に関する教育訓練を受けたプロトコル治療実施研究機関調製担当者が、試験物調製施設の試験物調製支援担当者と共同にて、施設で定められた手順書に従い、細胞及び血清の調製を行う。培養液に15%自己血清を加える。

### [調製方法]

試験物調製施設の手順書に従い、骨髄液約30mLに培養液を加え、T-500フラスコ6個で培養する。培養液は3～4日毎に交換する。培養開始から数日後に接着性の骨髄間葉系細胞が出現する。赤血球等の非接着細胞は培養液交換時に除去される。9～12日後に細胞を剥離して、遠心分離法で回収する。自己血清とヒアルロン酸の混合液に細胞を懸濁し、移植用細胞（試験物）とする。試験物を搬送容器に入れ、試験物調製施設からプロトコル治療実施研究機関に冷蔵輸送する。輸送中の温度変化を輸送容器内に設置された測定装置で記録する。

### [移植・投与方法]

搬送された細胞の品質管理成績をチェックし、定められた標準作業手順書に従って調製された細胞であることを確認する。プロトコル治療実施研究機関で、関節鏡手術を施行し関節軟骨欠損部を確認、同部に骨髄刺激法を施行する。試験物を関節内に注入し、創部を縫合し手術を終了する（標準治療群では、骨髄刺激法の施行のみ）。術後は抗菌薬を投与して感染予防を行なう。

### [観察・評価]

中間評価：効果安全性評価委員会により、有害事象の有無、種類、重症度を基に、臨床研究継続の適否の確認（細胞移植群5例登録後、6週間の観察終了時）

主要評価項目：

IKDC subjective scoreのプロトコル治療前と治療48週間における改善度

副次評価項目：MRI、局所単純X線

Knee injury and Osteoarthritis

Outcome Score：KOOS

血清KS値

有害事象

（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」及び実施計画書を遵守して実施する。自己細胞移植を受ける患者に対して、試料提供者に一切不利益、危険性が伴わないように配慮し、人権擁護を含めたインフォームド Consentのもとに施行する。研究目的を含め、研究内容の倫理的、科学的妥当性について適正な倫理委員会等による審査・承認を得た上で施行する。

### C. 研究結果

本報告書作成時点において臨床研究の準

備中であり、患者さんへの移植手術は施行していない。大阪市立大大学医学部の倫理審査委員会への申請は以前から行っていたが、その改訂版を提出中である。

#### D. 考察

なし

#### E. 結論

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

山崎真哉、脇谷滋之、橋本祐介、中村博亮.

ビーグル犬を用いた骨髄間葉系幹細胞の軟骨修復能の効果検討.

第28回日本整形外科学会基礎学術集会  
2013.10.17

#### H. 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

関節鏡視下自己骨髄間葉系幹細胞移植による関節軟骨欠損修復  
—多施設共同、非盲検、ランダム化、並行比較試験—

研究分担者 名井 陽 大阪大学医学部附属病院 准教授

研究要旨

大阪市立大学および兵庫医科大学のヒト幹細胞臨床研究について、平成25年5月9日に指針適合性に関する厚生労働大臣の意見が発出された。本研究の調整事務局として実施体制の整備をすすめ、モニターの配置、臨床試験ツールの作成、多施設間契約などを行い、実施体制整備はほぼ完了した。また、大阪市立大学および兵庫医科大学附属病院の被験者の細胞培養を受託する準備をすすめこれも完了した。

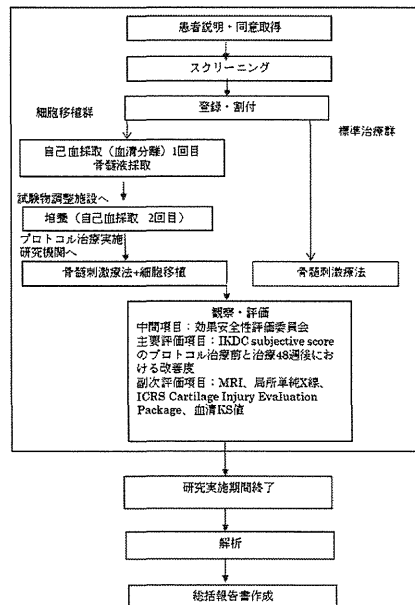
A. 研究目的

細胞移植による関節軟骨損傷修復法は、我が国でもようやく製造販売承認されたところであるが、現在の方法はまだ満足のできる方法とはいえない。本研究では、従来の方法に比べてより手術侵襲の小さい、関節を切開せずに関節鏡視下手術で自家骨髄由来間葉系幹細胞を移植する方法の開発を実施している。これまで、前臨床試験では有効性・安全性が証明されているが、今回、ヒトの関節軟骨修復での有効性・安全性について評価を行うため、広島大学、兵庫医科大学、奈良医科大学、大阪市立大学、近畿大学を含む西日本を中心とした病院において、試験群40例、対照群40例の非盲検、ランダム化、並行比較試験を多施設共同研究として計画した。このうち大阪市立大学、兵庫医科大学にはヒト移植用細胞培養施設（CPC）がない。これらの病院の患者の骨髄液および末梢血を大阪大学未来医療セン

ターに送り、培養増殖させ、各施設に送り返し移植を行う細胞培養依託システムの構築をめざす。

B. 研究方法

以下の様なスケジュールで臨床試験を実施する。



大阪市立大学と兵庫医大の被験者の細胞は、以下の手順で大阪大学医学部附属病院未来医療センター細胞培養調整施設にて培養されて製剤化されたあと各大学病院で移植される。

1. 大阪市立大学、兵庫医大では末梢血液採取（外来）を行い血清を分離凍結後、大阪大学医学部附属病院未来医療センター（以下、大阪大学未来医療センターと略）のCPCに輸送する。
2. 大阪市立大学あるいは兵庫医科大学外来手術室で採取した骨髄液は、直ちに血液搬送用クーラーボックスに保存し大阪大学未来医療センターのCPCに移送する。CPCまでの搬送時間は約60分である。
3. CPC内のアイソレーターで細胞および血清の調製を行う。培養液に15%自己血清をいれる。運び込まれた骨髄液約30mLに培養液を加え20枚のT-75フラスコで培養する（1.5ml/flask）。3日ごとに培養液を交換する、約3日後に接着細胞が出現する。赤血球等の非接着細胞は培養液交換の時に除去される。約10日後、培養細胞が50%コンフルエントに達したところで継代培養する（ $5 \times 10^5$  cells/flaskでT-75フラスコに播種）。約10日後、細胞がほぼコンフルエントに達したら細胞を剥離し、ヒアルロン酸を加えて細胞浮遊液とする。
4. 調製細胞を搬送用クーラーボックスに入れて大阪大学未来医療センターCPCから大阪市立大学あるいは兵庫医科大学医学部附属病院に移送する。移送交通手段は公共交通とする。
5. 搬送された細胞の品質管理成績をチェックし、GMP基準下で調製された細胞であることを確認する。
6. 関節鏡手術を施行し関節軟骨欠損部を

確認、同部に骨髄刺激法を施行する。細胞浮遊液を関節内に注入し、創部を縫合し手術を終了する。術後は抗菌薬を投与して感染予防を行う。

（倫理面への配慮）

臨床研究実施計画書、被験者説明文書、同意書、大阪大学医学部附属病院を含む各施設の倫理審査委員会で本研究の承認済みで、4病院とも厚労省「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に申請の書類を提出済みである。同指針に関する大臣確認を受ける。

### C. 研究結果

平成24年度に厚生労働省ヒト幹臨床研究審査委員会に提出していた大阪市立大学および兵庫医科大学の幹細胞臨床研究の申請について、平成25年5月9日に厚生労働大臣の意見が発出され、この際、対応を行った疑義などについて、平成25年6月5日の大阪大学のヒト幹細胞臨床研究審査委員会にて最終的な承認を得た。

また、実施体制の整備として、各大学病院の治験外臨床試験支援体制の状況を鑑み、本試験にはモニターをおいてモニタリングを実施することを決定し、モニタリングおよび施設ファイル等の臨床試験ツールの作成をCRO（(株) ウェルビー）に依頼した。責任医師およびモニターが大阪大学で作成した症例登録票の確認作業を実施し合意を得るなど、臨床研究の実施準備を進めた。

細胞培養による試験物の製造に関しても準備を進めた。具体的には、製品標準書に基づき、本製品に関する標準操作手順書（SOP）ならびに工程表を作成、さらにこれらを細胞調整専用の工程管理システムに作り込む作業を実施した。現時点では同システムが完成し、CPC内での作業が開始で