

## 議事録

厚生労働科学研究費補助金 再生医療実用化研究事業  
【関節治療を加速する細胞シートによる再生医療の実現】  
平成 26 年度 第 1 回班会議

日時：平成 26 年 11 月 6 日（木）14:00～16:00

場所：霞ヶ関ビル 35 階 東海大学交友会館【三保の間】

出席者：光島健二、花井荘太郎、木下奈津美（医薬基盤研究所）

長嶋比呂志、前原美樹、高草木大地（明治大学）

加藤玲子（国立医薬品食品衛生研究所）

丸木秀行、小久保舞美（東京女子医科大学）

的場亮、平賀育英、伊東紀子（DNA チップ研究所）

橋本せつ子、初岡政典、菊地鉄太郎、高野りや、河毛知子、

佐藤千香子（セルシード）

佐藤正人、豊田恵利子、岡田恵里、白砂早織、渡部綾子（東海大学）

順不同、敬称略

記録者：渡部綾子

### 1. 開会

研究代表者あいさつ

### 2. 研究報告

#### （1）「関節治療を加速する細胞シートによる再生医療の実現」

研究代表者 佐藤正人（東海大学）

私共の厚労科研究事業は今年度で 3 年目になり、進捗は順調です。まずは研究事業の概要をご説明いたします。PO の先生方には、本日の資料と議事録を後日お送りいたします。

現在、細胞シートは自己細胞で臨床研究を実施しています。3 層に積層化したものを患部に貼って治すという方法で非常にシンプルな系で行っています。軟骨細胞シートは、動物実験において、軟骨の全損欠損と部分損傷の両方に作用するというのがユニークな点です。世界中で既に行われている軟骨の再生は、全損欠損を対象としているものです。部分損傷の方が治すのが非常に難しいと言われていたのですが、私共の軟骨細胞シートは、全損欠損と部分損傷の両方に動物実験で効果があることを確認しています。また、臨床研究においても変形性膝関節症に適応していて、そのような患者さんを集めて軟骨の欠損部に対して移植するというような研究をしています。この部分損傷にも効果があった結果は、以前 BBRC の雑誌の紙面で取り上げられました。

各国で承認されている主な再生医療製品ですが、軟骨に限ってもかなり多くのところが

行っています。日本で昨年保険収載されたジャック®も、外傷あるいは離断性骨軟骨炎のものが対象で、変形性関節症は対象外となっています。また世界のこのようなメーカーもほぼ全て外傷の軟骨損傷が対象であって、変形性関節症に踏み込んだものはありません。ジャック®の保険収載の要件設定に際して、整形外科学会で委員会を設置し、こういったものに適応するのかなどの事案を議論しましたが、「外傷性の軟骨欠損、離断性骨軟骨炎（変形性膝関節症を除く）」としっかり明記されていますので、私共の系は決してジャック®と同じではありません。対象疾患が明らかに違うということをご承知いただければと思います。

私共の自己細胞シートのヒト幹細胞臨床研究は、平成 23 年 10 月に厚労大臣の意見書の発布をもって約 3 年間施行しています。対象患者さんは 20-60 歳、対象は外傷または変性（変形性膝関節症を有した患者様も含まれています）により生じた膝関節軟骨損傷で、変形性膝関節症あるいは靭帯損傷で 10 年以上放置して明らかに不安定性が原因で膝関節症が進んでいるような患者様を対象としています。軟骨の欠損が  $4.2\text{cm}^2$  以下という大きさの制限が厚労省との話し合いの中で決められましたが、これは 1 枚の細胞シートでおおえる大きさでまずはやりなさいという事でこの大きさが基準となっています。エンドポイントの根拠は、安全性を見るための有害事象の頻度、術後 1 年までの臨床症状の変化、レントゲン、MRI、さらに私共のユニークな点は術後 1 年で必ず関節鏡でセカンドルックを行って直視下に再生した軟骨の粘弾性特性を超音響法で評価するという事です。その部分のバイオプシーを行い組織学的にもしっかり評価をします。手術は、骨切り術というアライメント矯正あるいは靭帯再建術をして、同時に合併する軟骨損傷に対して細胞シートを移植して、細胞を組織で評価する流れとなります。現在、5cm 程度切開し、直視下に細胞シートを移植しています。移植後 3 ヶ月もすると MRI で新しい軟骨の修復が確認できるようになってきます。大腿骨内課の加重部の軟骨損傷に対して、細胞シートを移植した 1 年後の結果です。上がお皿（膝蓋骨）で下が大腿骨です。お皿と大腿骨が擦れ合う、いわゆる PF 関節と呼ばれる部位は非常に治りにくいという事が従来の軟骨の再生医療では言われていますが、ここもきれいに治りました。先日、ドイツとオランダで講演した際にも、PF 部分の修復効果は非常に注目されました。術後 1 年のバイオプシー時には、再生した軟骨が盛り上がった感じで治っている事が多くあります。プローブで触れたり、超音響法で粘弾性特性を直接評価し、患者様の許可を頂いてバイオプシーを行い評価しています。超音響法の粘弾性特性では、厚さと粘弾性特性比が半定量的に分かり、プローブを変えると組織学的なプロパティの差も測定できます。私共と防衛医大との共同研究で開発したものを使用しています。組織学的にも Type コラーゲンで濃染され、組織染色のサフラニン O でも強く染まり、明らかに硝子軟骨で再生しているという事を確認しています。現在までに 11 例エントリーし、移植できたのは 8 例となっています。これは大きさの基準の  $4.2\text{cm}^2$  以下に合わなかった患者様 2 例と、1 例は基準細胞数に満たなかったという例がありました。11 月の末に 8 例目の最終の患者さんのセカンドルックでバイオプシーを予定しています。患者立脚型の術後の評価ですが、これは患者さんへの問診で、こういった日常生活に影響が

あるのか、またスポーツアクティビティなどを点数評価したものです。おおむね術後 3 か月以上経つと、ほぼ術前より回復してきています。

こちらは、先日の再生医療学会の市民公開シンポジウムでの 6 例目の患者さんの VTR 紹介です。この患者さんは両膝手術されていて、片方は骨切り術のみでシートの移植には損傷の大きさが対象には合わず、もう片方は 4.2cm<sup>2</sup> のサイズに適合したので再生の治療を合わせて行いました。全て東海大で手術しています。

自己細胞シートは非常に成績が良いのですが、自分の細胞で治す限り目の前の病変を直ぐに治療できない問題点があります。また、自分の組織を犠牲にするので正常な部分から採取できる大きさには限界があり、また悪くなったときに繰り返し治療を受けることはできません。さらに、必ずしも活きの良い細胞とは言えませんし、高齢者の変形性膝関節症の患者さんでは 7 番染色体のトリソミーや遺伝子異常も頻繁に認める事があるため、そのような細胞を自分の細胞だから自分に戻して良いのかという問題もあります。

私共が現在取り組んでいるのは、同種の軟骨細胞シートです。私共が着目しているのは多指症患者様由来の細胞です。この細胞を 1 度凍結保存して、十分に細胞シートの特性や安全性を評価し、必要な時に培養してシート状にしたものを移植するという事を考えています。将来的には、細胞シートの状態になった所で保存出来ないかと考えています。ヒト幹細胞臨床研究を始めるにあたり、厚労省と細胞ソースを何にするかについて相談しました。多指症由来のもの、地域ごとにあるボーンバンクの骨に付いている軟骨、あるいは既に海外でチップ状にして売られている軟骨を輸入して使用する等の 3 つを提案しましたが、トレーサビリティの観点から、自施設内で得られる手術時に廃棄処分となる多指症の軟骨でという方向に決まりました。

共同研究先である阿久津先生と梅澤先生の国立成育医療研究センター研究所からサンプルをたくさん頂き、安全性のチェックを行いました。36 例以上検討し、多指症の細胞が使えるということになりました。この細胞は非常に良く増えます。あくまで予測値ではありますが、パッセージ 2 (P2) で 2 週間の培養で細胞シート 745 枚分、P3 まで含めると 8000 枚近く 1 本の多指症由来の軟骨から作製できることが分かりました。自分の細胞で治す場合、これまで臨床研究で患者さんに移植できたのは 2-6 枚でしたので、この数値は非常に驚くべき数であると思っています。超免疫不全マウスの NOG マウス皮下に移植して腫瘍化しないこと、また IVIS システムを用いて移植細胞の残存する細胞を観察したところ 21 ヶ月以上関節内に留まって他に転移しないことなど、安全性評価として確認しました。平成 26 年の 8 月 6 日に同種細胞シートのヒト幹細胞臨床研究の承認を得ました。これは 27 年度中に実施予定だったところ、非常に早く安全性の確認ができたので今年度申請し承認を得ています。現在、移植に適した細胞の選定準備に入りました。8 月 16 日の読売新聞の一面でも紹介され、同種細胞シートの臨床研究が始まるという事を取り上げて頂きました。東海大での多指症の手術症例は年間 10 症例程度ありますので、形成外科の先生とタイアップして、院内で協力体制を整えて準備を進めているところです。

私共は、変形性膝関節症は単なる軟骨損傷だけではないので、患者様には O 脚をアライメント矯正し不安定性を治して、同時に軟骨が無い所には移植して治すという方法で行っています。変形性関節症はリウマチまではいきませんが、炎症あるいは血管新生などがあります。こういった変形性関節症にトータルで取り組むという事を考えて、Anti-VEGF の抗体(市販薬)が変形性膝関節症に効果があることを動物実験で確認したところですので、再生医療と一緒に使うことも視野に現在検討している所です。

自己細胞シートは平成 23 年 8 月に承認されて現在 8 例の移植が完了し、有害事象はなく本年 11 月末で 1 年フォローアップが終了して臨床研究を完了する予定です。現在、先進医療として実施するために、病院長、医学部長などの了解を得て学内会議に諮る準備をしているところです。同種細胞シートに関しては、ヒト幹細胞臨床研究として今年度 8 月に承認されて、現在移植に適した細胞の選定作業を開始したところです。

## (2)「ウサギ軟骨細胞シートのガラス化保存に関する研究：長期保存の実現に向けての基礎的検討」

研究協力者 前原美樹(明治大学)

私共はウサギ軟骨細胞シートのガラス化保存に関する研究を担当しています。長期保存の実現に向けての基礎的検討を行いましたのでご報告いたします。研究背景として、軟骨細胞シートの凍結保存が実現することによって、細胞シートの作製と移植時期の調整が容易になる点や、治療用シートのストックが可能になる事で、同種移植の促進が可能になると考えられます。実用的な細胞シートの凍結保存方法の確立が不可欠な課題となっています。

我々は、これまでに細胞シートのガラス化保存に受精卵を凍結保存する技術を応用してきました。対象の細胞に対して、なるべく容量の少ないガラス化保存液で保存する(ミニマムボリュームクーリング)により細胞の生存性が保たれるコンセプトが受精卵の凍結保存法であり、それを細胞シートに応用して研究を進めています。また、ガラス化の効果の非常に高いカルボキシル化ポリリジン(化合物)を用いて、細胞シートのガラス化保存に応用し、これらが細胞シートガラス化保存のポイントとなっています。2011 年に特許出願し、2013 年には BMC Biotechnology で論文が掲載されました。

今年度の取組みとして、実用化に向けた改良研究、実用的な細胞シート凍結保存デバイスの開発、融解した細胞シートの機能解析を行ってきたので報告いたします。実用化に向けた改良研究は、細胞シートをガラス化保存する際のガラス化処理時間について検討しました。これまで 1 枚の細胞シートをガラス化保存するのに、ガラス化保存が完了するまで 45 分と非常に時間が掛かっていたため、操作の簡略化を目的としてガラス化処理時間短縮の検討を行いました。結果、ガラス化処理の時間を約半分の 23 分に短縮しても、細胞シート of 生存性を高く保つ事ができることが分かりました。ただし、ガラス化保存状態が不安

定なサンプルも数枚出てきたため、今後は最適な時間の条件検討が必要であると思われる。また、これまで積層化細胞シートを用いて検討してきましたが、より薄いシートを想定して凍結保存方法を応用できるかを検討しました。非積層化細胞シートでも、ガラス化によって構造が崩れず、生存性も低下することはなく保存できることが分かりました。この実験に関しても、ガラス化の処理時間の短縮の検討を行ったところ、45 分間から 15 分に短縮することが可能でした。

シートの長期保存を目的とした細胞シートのパッケージング素材と保存方法について、食品用ラップフィルムとアルミホイルを用いて液相内での保存による細胞シートの構造変化と細胞生存性について確認しました。予め液体窒素の蒸気で細胞シートをガラス化した後に液体窒素に浸漬する方法（液相内保存）を試しました。液体窒素に浸漬すると、ラップは一部の細胞シートで破損してしまったものがありましたが、アルミはシートが破損することなく保存が可能でした。しかし、アルミでパッケージしても、予め液体窒素の蒸気で細胞シートのガラス化処理をしていないと、液体窒素へ浸漬させた際に破損してしまいました。パッケージングの素材として、アルミホイルが有用であること、予め液体窒素の蒸気でガラス化処理されていれば、液体窒素の気相中、液相中でも保存に耐え得る事が分かりました。また、これまで手作業で少量ずつ作製していたガラス化保存液について、今後安定的に大量処理することを想定して、市販のガラス化保存液の効果の比較検討を行ったところ、同等の成績が得られ市販品を使用できることが確認できました。

次に、実用的なガラス化凍結保存デバイスの開発では、凍結保存デバイスの作製を行いました。イメージとして箱型のデバイスを現在作製中で、箱の中に引出し状のラックが複数個入っているようになっています。1つのラックの中に1枚の細胞シートの保存が出来るようになっています。液体窒素のタンクの中に箱ごと収納することができます。タンクの半分程度液体窒素を入れると上部の気相の部分が 150 くらいに冷却されるので、気相中で細胞シートを大量に保存できるというものを現在開発しています。実物は、来週納品予定となっています。このデバイスが完成することによって、より長期的に細胞シートを保存することが可能となり、長期保存した細胞シートの融解後の機能性評価ということを今後中心に行っていく予定です。

細胞シートの融解後の機能解析についてですが、細胞シートから生産される TGF- $\beta$  の生産量を測定することによって評価しています。凍結保存後の細胞シートにそれぞればらつきがないということを、WST1 を平行して確認しています。細胞シート融解後の生存性を Live/dead 染色法によって評価しています。現在は非ガラス化細胞シートを用いて条件検討を行っているところです。今後、ガラス化された細胞シートに応用して機能解析の評価を進めていく予定です。

今後の計画として、細胞シートをより長期的に保存することを目標として、加えてガラス化された細胞シートの融解後の機能解析を行っていきます。実用的なガラス化保存装置の開発も視野に入れていきます。最終目的としては、ヒト細胞への応用となります。

<質疑応答>

佐藤：ヒト幹細胞臨床研究で同種細胞シートが承認されましたが、細胞の状態でストックし、それを患者様がいらっしゃった時に3週間かけて培養して移植するというやり方です。明治大学との共同研究は、最終的に細胞シートごと保存するということを目標に行っている研究になります。

光島：確認ですが、ヒト細胞シートはこれからということで、今はウサギの細胞シートということですね。

前原：はい、そうです。

光島：ヒトの細胞シートは薄いので、ウサギの方で3層、2層、単層ということですね。ヒトの場合はやはり3層が基本ということになりますか。

佐藤：そうですね。自己細胞は3層なのですが、同種は自然に重層化してきますが、それでもだいたい3層くらいと考えていいかと思います。

光島：ヒトの細胞シートはいつごろになりますか。もうすぐ取り掛かれる状況なのですか。

佐藤：ヒトのサンプルを他施設に出して実験するには両方の倫理委員会を通したりなどでなかなか時間が掛かってしまいます。前原さんは来年度から東海大で研究員として働く事になりますので、そこはスピードアップできると思います。

光島：凍結融解のところですが、前回報告されたと思いますが凍結融解条件の基本はほぼきまったと思ってよいのですか。

長嶋：はい。条件は決まったと思います。当初はほとんどヒト幹の申請段階に入っても凍結したシートは使われるか分からないし、おそらく手作業的に作るものになるであろうと。PMDAの嶽北先生のお話にもありましたが、そうなる衛生条件を担保するためには液体窒素に漬けるのは厳しいとのご意見があったので、液体窒素蒸気で長期保存するという前提としました。このところ佐藤先生と相談しましたが、場合によってはメーカーの力を借りて完全に密閉できるパッケージを考えようということにもなってきています。完全に密閉してあれば、液体窒素に漬けても衛生条件は担保されますから、実験段階ではありますが、今後液体窒素の蒸気で保存するとなっても、液相に漬けることになっても、どちらでも対応できるだろうと思います。パッケージ素材としては、実験当初は食品用ラップで始めましたが、アルミが一番扱いやすく性能も良いので、アルミの薄膜のようなパッケージを作れば臨床に十分適応に向かだろうと確定したと考えています。

花井：製品化を目指すのであれば、ある程度規格を決めていかないといけないのではありませんか。

長嶋：はい。

花井：方向性を決めておかないと、あれもこれもあるとなると、全部検討するのは大変ですよね。ガラス化して、液相で、アルミホイルパックで、基本的にはヒト由来細胞は3層でということが最終形と考えてよいのですね。

長嶋：最終形は、そのようなイメージを持っています。どういうメーカーさんが協力して

くれるか、パートナー選びといたしますか。

花井：例えば、メーカーとしての製造工程の管理とか扱い易さとか、実際に製造されるメーカーさんのご意見は伺っているとかないのですか。

長嶋：大手医療機器メーカーの技術系の人と佐藤先生も含めて話をした事がありますが、あまり食いつきは良くなかったです。

花井：会社となると、コストとか技術とかそういうものがたぶんあるので、またちょっと違った視点が得られるのかなと思ひまして。是非、いろんなところにあたられるといいのかなと思ひます。

佐藤：ありがとうございます。今回長嶋先生には、気相と液相の両方を検討して頂きました。今日はバンク化の話は議題にはありませんでしたが次回ご説明したいと思ひますが、今東海大では専用のタンクを購入してバンキング出来るようなシステム作りが大体整って、コールドランの時から保存に使うという取組みで行っています。

光島：以前の時に大日本印刷が共同研究でスタートされると聞いたのですが、大日本印刷はどういった役割分担をされるのでしょうか。

佐藤：パッケージングのところですか。長嶋先生のこうした技術を優れたパッケージングで活かせるメーカーであればどこでも良いと思ひます。大日本印刷さんの社内事情等もありまして、共同研究契約はありますが、そこと進捗は確認しながら少しずつ進めるという形になっております。

光島：アルミパッケージのところも担当されるのでしょうか。

佐藤：凍結のところに関しては、長嶋先生にご提案頂いたやり方が良さそうですけれど、医療現場となると何重にもパッケージングされるものになりますので、こういった物が最終的に良いのか、いろいろ工夫が必要になってくると思ひます。

的場：長期保存用の入れ物を新しく開発されているということで、構造的なもので何か特徴があるのでしょうか。

長嶋：はい。細胞シートの凍結というのは、お金を掛ければおそらく自動化できると思ひます。細胞の普通の凍結は、バイアルの様な物をフリーザーに入れるとか液体窒素にポンと入れるとか、容器の中で徐々に凍っていく、あるいは瞬間に凍っていくというのが凍結のイメージだと思ひます。細胞シートは容器の外、つまり実験室の環境の中でオペレーターがデリケートに扱いながら容器の外で一旦凍結が完成するわけです。その後に、液体窒素のタンクなどにしまわないといけません。しまう間に溶けてしまうので、目の前で溶けないようなアイスボックスのようなものに一旦入れて、それを持って数歩移動出来る程度にしないと、フリーザー等にしまうにしても出来ません。作製したのはただの箱に見えますが、ドライシッパーという液体窒素の吸収材がぎっしり詰まっていて、箱そのものが非常に冷気を保ちやすい構造になっています。引き出しの中にシートを入れてしまえば、その中は非常に低温に保てますので、その状態で液体窒素タンクの中にしまい込むためのものを作りました。見た目は簡単ですが、中身は手が込んでいます。

的場：温度コントロール出来ている箱ということですね。

長嶋：そうです。これをタンクにしまうのか、あるいは太陽日産に相談したのですが、iPS用のフリーザーが既にあるので、多分それをそのまま流用できるのではないかと思いますと聞いています。あの箱で、大量に処理するようなものがおそらく作れるであろうと思います。メドはたっているのですが、あとはどの程度メーカーが協力してくれるかによります。

的場：或いは、シート状の細胞に特徴的にカスタムメイドしているというものではないのですね、今のところ。

長嶋：カスタマイズされています。非常に弱いので、アルミでパックしても加重で割れますから、シート用に1枚が1つの引き出しに入っているような感じになって、大事に守られるよう担保されています。

加藤：これまでガラス化保存液はカルボキシルカポリリジンなど色々検討されて最適化したと認識していますが、市販のガラス化保存液でも同じようにガラス化出来たというのは、市販品は先生方の組成と同じなのでしょうか。

長嶋：全く同じです。バイオベルテという会社から、カルボキシルカポリリジンの粉末を我々が供給を受けていて、ポリリジンを供給している会社に溶液を作製して頂きました。彼らの得意分野ですので、全く同じ組成で作っています。いわゆる、市販化された商品にはなっていませんが、そういう培地メーカーのような所できちっと作れるという事を確認したので、今後大量消費の段階になっても大丈夫だろうと思います。

佐藤：融解時の白濁の原因は、何でしょうか。

前原：シートが白濁するという事は、ガラス化状態がきちんと成立していないという事で、原因としてはガラス化処理液が細胞に染込んでいないこと、温度の下降が不完全であったなどが考えられます。先ほどのガラス化状態が不完全だったというのは、処理時間が短かったために、細胞へのガラス化液の浸透が十分でない状態でガラス化してしまうと、白濁して細胞の生存性が低下してしまいます。

### (3)「多指症軟骨由来細胞シートの作製」

研究協力者 岡田恵里（東海大学）

多指症軟骨細胞シートの作製についてご報告いたします。多指症軟骨由来細胞から多指症軟骨細胞シート作製を検討して、CPCのコールドランの準備を整えました。前回までの報告の内容ですが、多指症軟骨由来細胞の安全性評価をGバンド、アレイCGH、NOGマウスで行い安全性を確認し、多指症由来の細胞を細胞ソースとして採用しました。実際の細胞の増殖性ですが、継代しても増殖性を維持しています。増殖性が良いので、細胞ストックを作製可能であることが分かりました。バンキングシステムの目的としては、いつでも、どこでも、どの年齢の患者様にでも治療できる事を期待して細胞ストックを作製します。あらゆる検体の細胞を集めることにより、より安全性や質の高い細胞を選択すること

ができます。選択した細胞を移植用の細胞としてストックできます。バンキング化による細胞への影響は、細胞を起こした時の生存率は97%以上あり、その後培養すると増殖性も3-5日でサブコンフルエントになり、継代が出来る量まで増え、実際播種した量の7-8倍ほど増殖しているので細胞をストックすることは問題ないと思います。

次にシート作製の最適化を検討しました。検討項目として、日数と播種数、積層化の有無を条件にしました。結果は、14日間で $1.0 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>で播くと、積層化しなくても自然に重層化したシートが作製できました。自然に積層化した多指症の細胞シートと自己細胞の細胞シートと比較してみると、自己細胞は3層積層化シートで $2.32 \times 10^6$ の細胞数で生存率が93.4%、多指症細胞シートは単層シートでも $1.73 \times 10^6$ の細胞数で生存率が97.5%と、自己細胞シートに比べ単層でも同等もしくは同等以上の細胞シートを作製できることが分かりました。シート作製の条件を纏めると、自己の播種細胞数 $5 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>が、多指症細胞だと1/5量の $1 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>でできます。培養方法は、自己細胞は滑膜を共培養に使用しましたが、多指症細胞では共培養は必要ありませんでした。また、シートの作製は多指症細胞だと事前にバンキング化してストックをするので、患者さんが決まり次第、細胞シートを移植出来るようになります。シートも3層から1層になることで、積層化という人為的な操作段階を1つ省く事ができ、その面でも省力化が図れることとなります。また、シート作製日数も、短縮できることとなります。シートの作製枚数ですが、自己細胞も多指症細胞も個人差がありますが、多指症細胞だとバンキング化により事前に安全性を確認できますし、シート作製枚数も自己で1枚作製する細胞量で、多指症細胞は15枚できる計算となります。この条件で「同種細胞シートによる関節治療を目指した臨床研究」を申請し承認されました。

全体の工程は 多指症細胞から細胞を凍結するまでの段階、 実験室でバリデーション試験により安全性と質の良いものを確認して移植に用いるかの適正判定の段階、 患者様が決まったら移植に適した細胞を起こして培養しシートを作製し品質確認ができたものを移植する段階の3つとなります。この工程内検査で安定性試験やエンドトキシンなどの各種の試験で安全性の担保を取ります。

CPCでのコールドランは、3つの工程を全て行います。本来ならば、昨日予定していましたが、患者様の体調により中止となりました。いつでも開始出来る準備を整えています。

本年度は、細胞ソースの評価と増殖性の評価を行い、CPCでのコールドランの準備もできています。次年度は、細胞を収集して評価をしていきます。

#### < 質疑応答 >

花井：自己細胞と、多指症由来の細胞では増殖性がかなり違う原因は、多指症の方が小児だからということなのでしょうか。

佐藤：はい、そうですね。全然、活きが違います。やはり、細胞自体が未分化なものも勿論ありますし、指の軟骨のプロパティチェックをしています。小児の関節の部分ですと、

軟骨になる部分と骨になる部分が多少含まれているのではないかという点を非常に気にして、そういったところのプロパティチェックを沢山しているところです。キャラクターが同じでありながら見た目は同じ軟骨ではありますが、全然違います。

花井：そうすると安全性上の懸念として、異所性に骨化を起こしてしまうのではないかということが懸念されますか。

佐藤：ただ異所性の骨化に関しては、Type10 コラーゲンや Runx など骨になるようなものは強くは発現してないので、異所性骨化を起こすような事はないと思いますし、関節の中に MSC に近いものがあったとしても関節内に移植したものが骨化を起こすようなことはないと考えています。別の実験で、あまり沢山 MSC を関節内投与すると小さな軟骨の塊ができる、それは細胞浮遊の状態で  $10^7$  レベルのような非常に高密度で入れると軟骨の欠片が沢山できるという報告はあります。

光島：確認ですが、軟骨組織を採ってきて、ゆくゆくはシングルセルになるまで純化されるのでしょうか。

岡田：多指症細胞は手術室で医師によって軟骨組織を採取して頂いて、コラゲナーゼ処理でバラバラにして、それをストックして実際に安全性と品質検査でその細胞が適しているかどうかを判断します。

光島：シングルセルアイソレーションというか、個々の細胞からスタートしていると思うてよいのですか。コラゲナーゼ処理でバラバラにした時に、一部の集団の塊を持ってくるのか、細胞一つ一つを分けて持ってきているのか。

佐藤：それは、1 細胞由来ということでしょうか。1 細胞由来という事ではありませんが、ストックは 10 の何乗かレベルではしています。

光島：スタート時は、いわゆる細胞集団なのですね。

佐藤：そうです。一応その集団をもって、同一ロットであるとしています。

光島：バンキングなのですが、一人の多指症の患者さんから幾つかコラゲナーゼ処理した塊を数個とって安全性評価までもっていくのか、一人の多指症の患者さんには一つの組織由来の細胞単位としてやられるのか、どういうようにするのでしょうか。

岡田：一人の患者さんに対して 1 つの塊とみなして、コラゲナーゼ処理の時点で組織全体を同じ液で溶かすので、一人の患者さんは 1 ロットで、バッチのように細胞数が取れると、ストック時点で一人の患者さんから 5 本とか、多い方だともっと本数が取れるようになります。均一という事で管理します。

光島：今まで何例くらい多指症患者さんのストックがあるのでしょうか。

佐藤：ヒト幹が通ってからは、実は昨日第 1 例目だったのですが、患者さんが熱発してキャンセルになってしまいました。そのために CPC のサニテーションなど準備していたのですが、延期になってしまいました。

光島：今ご説明頂いていたのは、こういうふうにやりますよということなのですね。

佐藤：そうです。安全性のことがあって、今までの積み重ねが成育とありますので、同じ

事を CPC 内でやるというところを準備しているところです。

光島：計画では、何症例くらい多指症の患者さんの組織をバンキングされる予定なのですか。

佐藤：厚労省に出しているのは、20 症例です。東海大の年間の多指症の手術件数が大体 10 例程度です。ただ、多指症の組織は大きいものから小さいものまで様々ですので、あまり小さいと評価もできない事が予想されるので、この件数を取らせていただく事になっています。

花井：細胞としては、1 症例 1 ロットで症例を集めるのでしょうか。

佐藤：ある程度ストックをして、一番良い細胞で何人かの患者さんを治したいと思っていますので、その為にも一番良い細胞を得るために 20 症例くらい計画しています。

光島：一番良い細胞というのは、移植される患者さんと細胞ストックの何をマッチングして見られるのですか。

佐藤：マッチングのところは、実際やってみないと分からないところがあります。ただ、細胞シートの質の評価に関しては、自己細胞の時のデータもあり、見た目にも培養の仕方が全然違った多指症由来の細胞シートができあがっていくので、その条件設定もかなり最適化されていますので、過去の自己の細胞とのデータを見比べながら一番良いものをという形にしたいと思っています。

光島：前回の発表で、低酸素環境下で生育が良いとありましたが、あの成果はこちらでは検討しないのでしょうか。

佐藤：低酸素下でとなると CPC 室内に装置を持ち込む必要があって、それはかなり大変なことです。基礎研究レベルあるいは将来的な発展としての選択肢はあると思いますが、今現在 CPC にその装置を持ち込むというのはバリデーションのやり直しなどあって現実的ではないので、この事業には入らないと思います。

#### (4) 「多指症軟骨由来細胞の同種 T 細胞におよぼす影響 (その3)」

研究分担者 加藤玲子 (国立医薬品食品衛生研究所)

同種細胞シートの特性と安全性に関する研究の中で、多指症軟骨由来細胞(PDCCs)が同種 T 細胞に及ぼす影響について検討していますのでご報告いたします。

これまでに、自己の軟骨細胞シートを用いた関節軟骨修復再生の有効性が示されてきていますが、この技術の再生治療の将来的な普及を考えると、同種細胞移植が必須になると考えられます。同種細胞利用の利点ですが、予め細胞シートを作製することが可能となり、患者さんの負担が軽減、より計画的な移植が行えるということ等が考えられます。また、品質の良い細胞の選択も可能になることが考えられます。

現在、同種細胞移植の細胞ソースとして多指症軟骨由来細胞を考えています。これは優れた増殖性を持ち、手術時廃棄組織であることから、倫理上の問題も少ないと考えられま

す。しかしながら同種細胞を移植するということで、拒絶反応を引き起こす可能性があるということが懸念されます。そもそも軟骨細胞は、経験上免疫応答が低いといわれている組織ですが、宿主内でこの軟骨細胞が特に免疫反応においてどのような挙動を示すかの詳細な報告はなかったことから、同種軟骨細胞およびその積層化シートが免疫応答に及ぼす影響をこれまでに *in vitro* で検討してきました。

マウス、ウサギおよびヒトの軟骨細胞シートが T 細胞に及ぼす影響を見てきましたが、T 細胞の活性化を惹起しない、活性化した T 細胞の増殖も抑制する報告をしてきています。また、患者さん由来の積層化シートで、液性因子である TGF- $\beta$ 1 が高発現しているという報告があることなどから、TGF- $\beta$ 1 を抑制効果に關与する候補因子の一つと考えています。

このように、PDCCs は活性化 T 細胞の増殖を抑制できるということから、抑制機構のメカニズムの解明をめざしたいと思っています。変形性膝関節症の患者さんの場合、病態の周辺部は炎症が起きていますが、炎症には T 細胞など他の免疫細胞も関わっているのですが、そのような活性化を抑制できれば、移植した軟骨細胞シートが構造的に治療部分に役立つだけでなく炎症なども抑制できればと考え、この抑制メカニズムを解明することを一つの目標として研究を行っています。まず、メカニズムの一端として、液性因子の影響をみました。TGF- $\beta$ 1 が高発現しているということから、TGF- $\beta$  mAB(中和抗体)を培養液中に添加することにより、培養反応中の TGF- $\beta$  レベルを低下させることで、PDCCs による増殖抑制効果が減弱するかどうか、さらに積層化軟骨細胞シートでは、PGE2 の発現も高いと報告されていたので、アラキドン酸カスケードの PGE2 の上流にある、Cox2 のインヒビターである NS398 により PGE2 量を減少させることで、同様に PDCCs による増殖抑制効果が減弱するか、さらに両方を同時に抑えることで、PDCCs による増殖抑制効果が減弱するか、ということを確認しました。

実験方法は、T 細胞と樹上細胞を混合培養(リンパ球混合培養)すると T 細胞が増殖します。そこに多指症軟骨由来細胞を共培養すると、T 細胞の増殖が抑えられることがこれまでに分かっています。この培養系にさらに TGF- $\beta$  の中和抗体、もしくは同時に Cox2 のインヒビターを加えることで、この反応が抑制されたままになるのか、もしくは抑制効果が減弱して T 細胞の活性化が起こるかというのを細胞増殖解析により確認しました。その結果、TGF- $\beta$  中和抗体により、培養液中の TGF- $\beta$ 1 量は MLR のみと同等レベルまで低下している環境下でも、MLR と PDCCs との共培養系で抑制されていた T 細胞の増殖活性には影響がみられない、つまり抑制されたままであるということが示されました。さらに NS398 を添加して PGE2 量を減少させても、PDCCs により抑制されていた T 細胞の増殖活性には影響がみられず、抑制されたままでした。次に、TGF- $\beta$  中和抗体と Cox2 インヒビターを加えて、TGF- $\beta$ 1 および PGE2 を同時に抑制しても、有意な差はみられず、PDCCs による T 細胞増殖抑制効果には影響がみられないという結果が得られました。これらの結果より、今回のように接触培養条件下においては、PDCCs が有する T 細胞増殖抑制効果には、TGF- $\beta$ 1 だけでなく PGE2 の寄与も少ないことが示唆されました。

一方、間葉系幹細胞はもともと免疫原性が低く免疫細胞の活性化を抑制するという性質を持つ細胞なのですが、その免疫細胞活性化抑制効果には液性因子による抑制と、接触到依存した抑制の両方の関与が示唆されています。このことと今回の結果から、PDCCs による活性化 T 細胞の増殖抑制効果には、液性因子よりも接触到依存した抑制の経路が強く関わっている可能性が考えられます。今後、非接触培養条件下にて検討すること、また別ルートからの検討も考えています。プレリミナリーなデータになりますが、これまでの結果から成人の軟骨細胞では T 細胞の活性化した状態での増殖活性を数パーセントまで抑えることが分かっているのですが、PDCCs は MLR との共培養系では T 細胞の増殖 20%ほどまで（他のロットでは 50%前後もあった）しか抑えていない結果をえられています。しかしながら、この系においては、PDCCs 自身の BrdU 取り込みも加味した値になっていることから、これを差し引くために PDCCs の増殖を抑制してから、MLR との共培養実験を行いました。増殖の抑制にはマイトマイシン(MMC)処理をすることで、PDCCs 自身の増殖を抑制しました。すると、増殖抑制した PDCCs では、活性化 T 細胞の増殖抑制効果が減弱していました。X 線照射により増殖抑制した PDCCs でも、増殖抑制効果が弱まる傾向が観察されたことから、PDCCs はそれ自身が増殖しない状況になると、抑制効果が減弱する可能性が高いことが考えられました。これまで、MSC や成人の膝軟骨細胞は増殖抑制しても活性化 T 細胞の増殖抑制効果にさほど影響はなかったということがあるので、PDCCs は大人の軟骨とは若干違ったキャラクターを持っているのではないかということを感じています。これらのことから、増殖抑制有り無しとの PDCCs 間で、タンパク質もしくは RNA 発現の網羅的比較解析を行うことで、両者間で発現に違いのある分子を探索しようと思っています。発現に違いのある分子の中に増殖抑制に関わる候補因子が含まれる可能性は高いと考えられ、抑制機構のメカニズムの解明につなげたいと思っています。

#### < 質疑応答 >

佐藤：細胞をシート化すると、マトリックスができますから、細胞としての活性という増殖が止まる方向にいきます。多指症由来の細胞シートでの系というのでも検討するという方法でよいのでしょうか。

加藤：はい。是非やらなければならないと思っています。マトリックスが出てきて、単層培養しているのとは違う状況というのもありますので、その状況下での比較も重要かと思えます。

的場：同種の場合は単層でも移植できるような感じですが、分泌されているものが同種と自己と違うという印象なのでしょうか。

加藤：今回の結果からは、自己と同種で分泌されるものが違うとは言えませんが、どちらかと言うと多指症は液性因子というよりは実際に接触することで抑制している方が強いような印象が今のところあります。もう少し詰めた実験をしないとハッキリ言えませんが、若干、間葉系幹細胞や大人の軟骨細胞とは抑制のメカニズムも違うのではないかと

思います。何が関与しているかは、今のところお答えすることができません。

佐藤：免疫抑制の効果があることは、確かなのですよね。

加藤：そうですね。はい。

#### (5)「アレイ CGH 解析による軟骨培養細胞の品質評価」

研究協力者 伊東紀子 (DNA チップ研究所)

軟骨培養細胞に特化した解析の設定値とカスタムアレイ作製について発表いたします。アレイ CGH 実験と解析の概要になります。本研究では、リファレンスゲノム DNA としてパッケージ 2 (P2) を使用します。テストサンプルとして P4,6,12 を使います。それぞれ異なる蛍光色素で標識し、競合ハイブリダイゼーションを行います。スキャナーでそれぞれの蛍光強度を読み取って、Cy5/Cy3 の  $\log_2$  比をプロットします。実際のデータは図のようになり、染色体短腕から 10 プローブずつの移動平均をとると結果としてテストサンプルの増幅が認められれば + 方向へプロットされ、欠失が認められれば - 方向へプロットされます。差異を検出する解析アルゴリズム Aberration Detection Method-2 (ADM-2) を用いてアベレーション ( $\log_2$  Ratio の変化が大きい) 領域を検出します。続いて Agilent 社が行った解像度を示すデータになります。リファレンスに HAPMAP DNA の健常のものを、テストサンプルに HAPMAP DNA 一卵性双生児 (片方が健常で片方が 22 番染色体に Partial trisomy を持っている) の各混合比を 10% ずつ変えた計 11 サンプルを用いた実験の結果になります。10% ずつ Partial trisomy の割合を増やしていくと、それぞれ + 側に線が別れて引けますので、こちらのアレイは 10% の差を検出できることになります。

解析の設定値の検討を行いました。プラットフォームとしては、Agilent 社のカタログアレイを用い、サンプルはリファレンスに HAPMAP DNA の健常人、テストサンプルに骨肉腫の DNA を用いています。Moving Average を染色体 1 番から Y 染色体まで並べた図になります。normal と dye swap を行い、ユーザー側で設定できる数値 (閾値: Threshold) を変え、6,7,8,9,10,11,12 とそれぞれ設定しました。例として Threshold 6 と設定した場合、normal サンプルでは 50 個 Aberration を検出し、dye swap では 41 個 Aberration を検出します。数だけ見ると差は 9 個なのかと思いますが、データを確認すると normal のみで検出されているものと、dye swap のみで検出されているものがあり、差を見ると 11 個ありました。この差というのは、擬陽性という事になり、Threshold 6 で設定すると擬陽性が 11 個あるということになります。同じ領域を判定していても、スタートとストップのポジションが若干違うことがあり、数えてみると 24 個ありました。グラフ化すると、Threshold の設定値を 10 にすると擬陽性が減ることがわかりました。Threshold の設定値を変えてもスタートとストップのポジションの違いにはあまり差は無いことがわかりました。そこで我々は Threshold の設定値は 10 が最適であると結論付けました。続いて Aberration call の際の疑陽性、疑陰性を排除するために使用する cut off の設定値ですが、通常の aCGH 解

析に用いる値にすると、軟骨の 7 番トリソミーが検出されないということがあります。Agilent の CGH 解析の解像度は 10% ですので、我々は 5% の差以内のものは擬陽性として排除するという cut off 値を設けたところ、7 番染色体のトリソミーも検出できることがわかり、軟骨培養細胞の品質評価に適した cut off 値として決定しました。

もう一つのトピックですが、品質評価に適したカスタムアレイの作製です。カタログアレイに搭載されている 6 万プローブが基本構成ですが、品質管理用に特化したアレイという事で、癌関連 1312 遺伝子のプローブ数については密に搭載しています。この 1312 遺伝子については 1 遺伝子につき 5 プローブ以上搭載する様に設計しています。このアレイは既に完成していて、8 比較の検討実験を行い既知の結果と同じであったことを確認しています。実験と解析の条件のまとめですが、佐藤先生の研究を始めて 3 年が経ち、実験のプロトコルや解析用のソフトウェアのバージョンが変わりましたが、我々は同じサンプルを用いて従来のバージョンと差が無いということを確認しています。ですので、実験は最新版を使用し、解析は Threshold が 10、cut off が 5% 以下を排除する値を設定値と定め、進めていきたいと思っています。

今後の展開としては、今回定めた設定値で多サンプルを実施しデータを蓄積することと、解析結果を比較し、妥当であり安定した結果が得られているかを確認したいと思っています。

#### < 質疑応答 >

光島：実際にこのシステムを用いて、多指症の患者さんのサンプルのバンキングの前の段階でチェックを掛けられるという理解でよいのでしょうか。

佐藤：バリデーションのところなので、そうです。

光島：実際にシート化するのには P2 でお聞きしましたが、パッセージの影響 P1, P2 もここで同時に分析して、実際使われるのは安全の為に P2 で行きましょうという判断基準に使われるということによろしいのでしょうか。

佐藤：はい。その通りです。

佐藤：私共、このアレイ CGH、G バンド解析と NOG マウスで安全性の担保として今回のヒト幹に申請しています。

#### ( 6 ) 「軟骨細胞シート専用器材の開発」

研究協力者 菊地鉄太郎 (セルシード)

細胞シートによる関節治療を目指した臨床研究の実現において、当社として専用の器材、治具の開発、臨床研究データを活用した軟骨細胞シートの製品化の検討につきまして協力したいと考えております。今年度から専用器材に関して着手していますので報告いたします。

従来の UpCell インサートで既存の培養器材ですが、実際は市販されている培養器材の表面に温度応答性ポリマーを固定しています。その為、市販の培養皿の培養面積  $4.2\text{cm}^2$  で、専用の 6 ウェルプレート上で培養する形になっています。この為、積層化やインサートのメンブレンを切り抜いたりする際に最適化されていませんし、 $4.2\text{cm}^2$  の培養面積より大きな軟骨欠損に対応できないという問題があります。また、1 枚のシートでも、6 ウェルプレートが必要となり効率の面からも最適化されていないということで、軟骨細胞シート専用の温度応答性器材が望ましいと考えています。こちらは自家の軟骨細胞シートを剥離する際の作業ですが、インサートのメンブレンを切り抜いて積層化しています。操作上のやり易さでこの様なやり方で行っていますが、既存の培養皿を用いていますので最適化されていないという事で、最適化した形状を考えていきたいと思っています。培養面積ですが、ジャックの審査報告書のデータですが、軟骨欠損のサイズとして  $2\text{cm}^2$  までは骨穿孔法が適応であり、 $2\sim 4\text{cm}^2$  までは自家骨軟骨柱移植術が適応であるとなっています。従来法では修復の難しい  $4\text{cm}^2$  以上のサイズの治療を目指すには、より大きな面積の温度応答性インサートが必要と考えられます。試作した大型の温度応答性インサートですが、手作りで作り始めて現在 3D プリンターを用いて 2 度ほど試作を行いました。この形状を色々と検討して、3 回目の 3D プリンターによる試作を現在検討しており、この大型の温度応答性インサートの設計の基本的な方針としては、現在行われている自己の軟骨細胞シートや同種の軟骨細胞シートの移植も始まりますので、現在使っているインサートと培養条件を踏襲したいことが設計の方針になっています。こちら、3D プリンターで 2 回目から 3 回目の試作では、インサート部の耳を扱い易さを変更、現在使っているインサートと培養条件を同じにする観点で下側の受け皿の培養表面と温度応答性インサート間の隙間を現行と同じ  $0.9\text{mm}$  にする変更、容器内へのインサートの収まりを改善、培養容器の高さ自体を現行の  $21\text{mm}$  へ近づける等の改良をして、現在 3 回目の試作を行っています。この様に 3D プリンターで形状を検討しており、次はプラスチックの射出成型に金型の作製を行って、実際に培養可能な大型のインサートの試作を行って行きたいと思います。

今後のスケジュールですが、大型インサートの試作は今年中に金型作製に着手して、金型によってできたプラスチックの射出成型を実際に使用して頂いて培養やり易さや細胞を実際に増殖するかなどの培養評価を行って頂き、それを元に改良を行い最終的には包装や滅菌の工程を開発して、材質試験や溶出物試験などの安全性試験を行って臨床研究や治療に用いられるものを作って行きたいと思っています。現在取り組んでいるのは、金型作製ですが、温度応答性処理条件については最適化を進めていく方針です。また、この様な器材を用いて臨床研究のデータを元に軟骨細胞シートによる関節軟骨治療の製品化の検討の方も行って行きたいと思っています。PMDA の薬事戦略相談で、実際にどの様なことを今後検討していけば治験や製品化に持っていけるか検討して行きたいと思っています。

<質疑応答>

光島：自家でやっているのは 4.2cm<sup>2</sup> 以下で、他家の場合はどのくらいのサイズを考えているのでしょうか。

佐藤：他家の場合は必要枚数が十分確保できるので、大きさの制限を外して頂くことが出来ました。実際問題として、人工関節が適用となるような末期のものは難しいと思います。ただ、変形性膝関節症の中で末期に至るまでの患者さんで、アライメント矯正して一緒に軟骨の損傷部を治すという患者さんに対しては、大きさの制限は無しに是非使って行きたいと考えています。

光島：実際にセルシードさんの大型インサートではどのようなサイズをやっているのでしょうか。

菊地：面積にして 2 倍程度です。

佐藤：私共は自己細胞の臨床研究を終えて先進医療の準備をしているところですが、最初の臨床研究で設定した、この 4.2cm<sup>2</sup> というのが先進医療としても生きてくるのではないかと危惧しているところです。1 枚の細胞シートでおおえる大きさというところから設定が始まっていますので、このような大きな器材が出来てくるのであれば、この制限以上のものも適応にさせていただけるのではないかと考えてやっています。

### 3. 総合討論

光島：佐藤先生の発表で、これから薬事申請承認を目指されると思いますが全体のスケジュールの所で、自己の場合は臨床研究 8 例で終了と考えてよろしいのですね。これで、先進医療のほうへ行くと。今のスケジュールでは、先進医療への申請時期というのはいつごろを予定されているのでしょうか。

佐藤：はい。今年度、来年度始めまでは学内の倫理委員会始め 3 つの会議の承認が必要ですので、現在準備中です。できれば来年度中に一度、研発課の方に先進医療の相談を考えています。

光島：来年度中に相談ということですね。

佐藤：はいそうです。この事業プロジェクト自体が自己細胞で先進医療の実現までもっていくと、同種の方はヒト幹を通すというところが最終目標でありますので、是非やっていないかと思っています。

光島：嶽北さんの方で前回盛んに治験までもっていかないのかという事が言われていたが。最初の計画通り今後進められるという事でよろしいのですね。

佐藤：勿論、この事業にプラス として医師主導治験あるいは企業治験というところまで話が盛り上がってくれば良いとは思いますが、企業様相手のところがありますので是非そういう方向も視野に入れて進めて行きたいと思っています。

光島：同種の方ですが、8 月 6 日にヒト幹に承認されて、新法への対応で再申請書を出されるのですね。そうするとよりハードルが高くなるかと思うのですが、学内の委員会の設

置や再申請への対応はどのように考えていらっしゃるのですか。遅れそうですか。

佐藤： その混乱が非常に危惧されたので、今までの旧法のうちにヒト幹を通したいと何とかそこを目標にやってきました。目標より 1 年度繰り上げてやってきた事になります。来年の 11 月までの 1 年間が移行期間ですので、その間に新しい法律に則って申請し直す形をとりたいと思っています。ただ、移行期間中も旧法に則ったものに関しては、臨床研究を実施して良いという事になっています。

光島： 進捗管理という事で、皆様をお願いしていますが、最新のロードマップを作成して頂きたいと思います。特に、新法に対する対応がこれから始まると思いますが、自家細胞の場合と同種の 2 つを、薬事承認申請に至るまでの今現在考えられる研究開発のストーリーをロードマップで示して頂きたいと思います。1 ヶ月くらいで仕上げ頂けると、お願い致します。

佐藤： 本日の議事録と共に提出させていただきます。

橋本： 今年の 11 月から新法が施行され薬事法も改正されるということで、再生医療の事業化が現実のものとなってきましたが、私共も社内で軟骨シートの研究をより早く臨床に届けられるような形の体制を整えたいと努力しているところです。ロードマップのご要請が出ておりますが、佐藤先生と相談しながら作成させて頂きたいと思っています。

的場： 品質評価のところ、LDT(Laboratory Developed Test)というところで、品質評価のデータをお出しするという体制を整えてやっています。宜しくお願いいたします。

佐藤： DNA チップ研とは PMDA の事前相談に伺わせて頂きました。

佐藤： 昨年度の評価ですが、色々な評価委員の先生方に評価いただいて、PO 様のコメントも評価出来る点など研究をご理解頂いて評価して頂けて感謝しています。ありがとうございます。ご指摘頂いた点も、粛々と進めて、自己細胞の方は先進医療に向けて準備中です。同種の方も現在バンキングのところを行っています。どのようなバンキングシステムかにつきましては次回の班会議の時にご報告させて頂きたいと思います。同種の方も今年度無事にヒト幹で承認されまして順調に進んでいます。私共の軟骨細胞シートによる再生治療は、ジャックとはそもそも対象疾患が違いますので、あくまで私共は小さな外傷性の軟骨を治すというところは考えていません。目指すものは変形性膝関節症を有した患者さんの軟骨損傷に関して細胞シートが効くとアピールしていきたいと思っています。是非、自己細胞シートの系は先進医療でやっていきたいと思っています。

花井： そのあたりのアピールが足りなかったのでしょうか。変形性膝関節症をやるという。そこまで言うと言いすぎになるのでしょうか。

佐藤： 外傷と変形性膝関節症と両方を目指していますと、最初広く対象を言っていたところが少し分かりにくかったのかもしれません。実際に、ヒト幹細胞臨床研究を行った 8 例の患者さんは、皆さん変形性膝関節症を合併して持っている患者さんですので、今回はその点を考慮して頂けたらと思います。

光島： 先進医療のほうですが、10 例のところ 8 例で行くとのことですが、それは研発課の

ところと確認して、それで先進医療に申請してよいという確認済みなのでしょうか。

佐藤：これは5例以上あればよいと伺っていますし、エントリーは11例ありますので、適応外で移植に至らなかった等で実際は8例ということなので、この臨床研究の期限が3年間でしたので、この11月で終了というところで纏めたいと思っています。

木下：次年度の研究計画書も参考に進捗確認をしていきたいと思いますので、継続申請が出た後にまたご連絡させて頂きたいと思います。

#### 4. 事務連絡

今回は2015年3月の日本再生医療学会がパシフィコ横浜で開かれますので、例年通り学会期間中にパシフィコ横浜の会議室で行いたいと思います。お忙しいとは思いますが、ご指導頂けたらと思います。本日はありがとうございました。今後ともよろしく願いいたします。

#### 5. 閉会

以上