

201406008A

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26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 脇谷 滋之

平成27(2015)年3月

## 目 次

I. 総括研究報告書	
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 一多施設共同・非盲検・ランダム化・並行比較試験 .....	1
脇谷 滋之	
II. 分担者研究報告書	
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 .....	7
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 .....	10
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 .....	12
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 .....	15
田中 康仁	
5. 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 .....	18
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 一多施設共同・非盲検・ランダム化・並行比較試験 .....	21
名井 陽	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	24
IV. 研究成果の刊行物・別刷 .....	25

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（48週）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、開始した。全施設で合計7例登録し、4例が細胞移植群に割り当てられたために細胞移植を施行、3例が標準治療群に割り当てられ2例に標準治療を施行し、1例は待機中である。いずれの症例も予定通りの手術を施行され、術後経過も順調である。大阪市立大学および兵庫医科大学では、各々1例ずつ被験者の細胞培養を大阪大学に受託し、各施設で細胞治療を行った。

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・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・大阪市立大学医学部整形外  
科・講師

名井陽・大阪大学医学部附属病院・准  
教授

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己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。

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することが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

臨床研究のスケジュールを以下に示す。

### [患者選択]

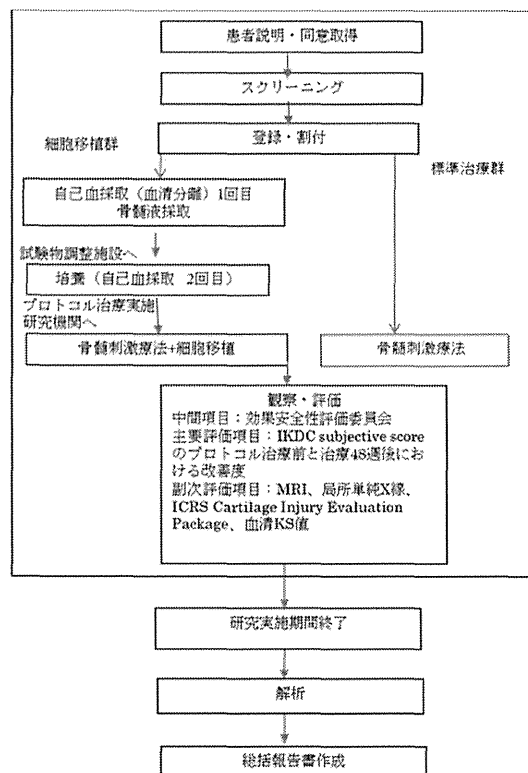
実施計画書に記入された対象疾患患者で選択基準を満たす患者を選択する。

#### 1. 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。

#### 2. 選択基準

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平方cm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。
- ### 3. 除外基準
- 1) 本臨床研究への登録より2ヶ月以内に前十字靭帯、後十字靭帯いずれか、もしくは両方の靭帯再建術を施行された患者。
  - 2) 活動性の癌を有する患者。

- 3) 妊娠中もしくは妊娠している可能性がある患者、又は授乳中の患者及び本臨床研究中に妊娠を希望する患者。
- 4) 感染症を有する患者（HIV抗体、HBs抗原、HCV抗体、ATLA抗体のいずれかが陽性）。
- 5) 精神疾患を有する患者。
- 6) その他、本臨床研究への参加を研究責任者又は研究分担者が不適当と判断した患者。

#### 4. 研究デザイン

標準治療を対照とする多施設共同、非盲検、無作為化、並行群デザインの早期探索研究である。

##### [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。

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。

##### [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。

大阪市立大学あるいは兵庫医科大学医学部附属病院では、大阪大学未来医療センターCPCで調製された細胞を搬送用クーラーボックスに入れて各施設に移送する。移送交通手段は公共交通とする。

##### [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。

##### [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週後における改善度

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

##### [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

### 1. 臨床試験施行のための準備

本臨床研究を行うにあたり、前年度までの準備に加えてさらに以下のことを行った。

大阪市立大学、広島大学、兵庫医科大学、近畿大学、奈良医科大学での臨床試験を開始するために、各大学での臨床データ管理方法、コーディネイト、モニタリングシステムを構築した、さらには細胞採取、培養のシステムを構築し、ドライランを行う。大阪市立大学および兵庫医科大学の細胞を大阪大学未来医療センターの細胞培養施設で培養するためのシステム構築およびドライランを施行する。5施設のデータを大阪大学未来医療センターデータセンターで一括管理するための割り付けシステム、データ管理システムを構築した。

各施設でのデータ管理、コーディネイト、

モニタリングシステムが構築され、大阪大学未来医療センターデータセンターで登録できるようなシステムの構築を終了した。

大阪市立大学、および兵庫医科大学では、各大学での細胞採取、大阪大学への輸送、大阪大学未来医療センターでの細胞培養、各大学への輸送のドライランを施行した。

広島大学、近畿大学、奈良医科大学では、自施設内細胞培養施設を使い、ドライランを施行した。

### 2. 臨床研究の施行

各施設で臨床試験対象患者候補を選定した。患者に説明し同意を得て、登録し、実際の臨床研究を開始した。

奈良医大では患者3例を選定し、平成26年10月16日、第1症例目を登録、割り付けシステムで標準治療群に割り付けられたため、平成26年11月14日に標準治療を施行した。標準治療群は56歳男性で、左大腿骨内顆9平方cmの軟骨損傷に対して、骨髄刺激法のみ施行し、術後12週が経過した。第2例目は平成26年11月13日にエントリーし、細胞移植群に割り付けられたため、平成27年2月13日に細胞移植手術を施行した。細胞治療群は53歳男性で、右大腿骨内顆6平方cmの軟骨損傷に対して、骨髄刺激法および自己骨髄間葉系細胞を含む試験物を関節内に注入した。いずれの群も有害事象は認めず、良好に術後経過している。

兵庫医大では平成26年12月18日、第1症例（全体で3例目）を登録し、細胞移植群に割り付けられたために、平成27年2月6日細胞移植手術を施行した。平成26年12月26日、第2症例（全体で4例目）を登録し、標準治療群に割り付けられたため、平成27年2月13日に標準治療を施行した。

大阪市立大学では平成27年1月8日、第1症例（全体で5例目）を登録し、細胞移

植群に割り付けられたために、平成27年2月23日に細胞移植手術を施行した。症例は23歳女性、6年前に半月板切除術を施行されていた。数年前から膝痛が出現し、MRIにて2平方cmの軟骨欠損を認めた。

広島大学では平成27年2月4日、第1症例（全体で6目）を登録し、細胞移植群に割り付けられたために、平成27年3月3日に細胞移植手術を施行した。症例は50歳男性で右膝内側部の大腿骨側と脛骨側の両方に関節軟骨欠損を認めた。第2症例（全体で7例目）を平成27年2月4日に登録し、標準治療群に割り付けられたため、現在準備中である。

いずれの症例も手術は問題なく施行され、術後経過も順調である。

#### D. 考察

培養方法の変更などで倫理審査委員会、厚生労働省への報告が必要であり、若干、臨床研究の開始が遅れたものの、平成26年内に開始し、年度内に7例登録、6例に手術を施行した。来年度にはさらなる症例の蓄積を行う予定である。

現時点で細胞移植群4例に手術を施行した。当初の計画では5例終了時点で効果安全性評価委員会を開催し、安全性を確認して再開する予定である。従って、次の登録から事前にデータセンターに連絡を入れ、細胞移植群に登録された場合には速やかに登録を中断する予定である。

これまで4例の細胞移植を施行し、いくつかの問題点が明らかになってきたので、それを変更し、特定再生医療等認定委員会に申請予定である。まず、細胞培養日数が10日（2日延長可能）であったが、不十分であるので、培養日数を2週間前後に変更する。培養日数の延長とともに血清がさら

に必要となるので、牛胎児血清の使用を検討する。牛胎児血清で培養したヒト骨髄間葉系幹細胞への残留牛血清アルブミンを測定し、低濃度であれば、牛胎児血清への変更を申請する。これらの変更を工程標準手順書に反映させる。

実際にモニタリングシステムを稼働させた。本研究の参加施設のうち4施設は関西地区にあるが、一施設は広島であるために少し距離がある。モニターが広い範囲を巡回し、カルテとCRFを照合し、確認することが可能であることが確認できた。今後定期的にモニタリングを施行する予定である。

臨床研究の実施と並行して、再生医療等の安全性の確保等に関する法律への対応・移行の準備を進めている。CPCは3月中に特定細胞加工物製造施設の届出を行う目途が立った。臨床研究のプロトコルについては、次年度5月を目途に申請する予定である。

#### E. 結論

臨床研究を開始し、7例登録、4例に細胞移植手術施行、2例に標準治療を施行、1例は標準治療待機中である。いずれの症例も術後問題なく順調に経過中である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

・Yamasaki S, Mera H, Itokazu M, Hashimoto Y, Wakitani S. Cartilage repair with autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation: review of pre-clinical and clinical stud-

ies. Cartilage E-pub on May 19, 2014.2.

- ・大串始、脇谷滋之. 第86回日本整形外科学会学術総会 シンポジウム：運動器再生医療の最先端 序文. 日本整形外科学会誌 88 (4): 203-204,2014
- ・目良恒、糸数万紀、脇谷滋之. 関節軟骨損傷の治療－最新の知見－. 関節外科印刷中

## 2. 学会発表

- ・Wakitani S. Cartilage repair with autologous culture-expanded bone marrow mesenchymal stem cell transplantation -over 10 years follow-up. 5th meeting of Asian Cell Therapy Organization, Osaka, November 10, 2014
- ・Wakitani S. Cartilage repair with autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation. International Invited lecture The annual meeting of Korean Society of Stem Cell and Regenerative Medicine for Locomotor System, Yonsei Univ. Hospital (Severance Hosp) , Seoul, November 16, 2014
- ・脇谷滋之. 細胞移植による関節軟骨修復の現状. 第31回大阪リウマチフォーラム, 大阪, 平成26年4月19日
- ・脇谷滋之. 自己骨髄間葉系幹細胞移植による関節軟骨欠損修復. 第96回幹細胞研究会, 広島, 平成26年5月13日
- ・脇谷滋之. 自己骨髄間葉系幹細胞移植による関節軟骨欠損修復. 再生・細胞治療 strategy2014, 東京, 平成26年5月22日
- ・脇谷滋之. 関節軟骨損傷に対する手術療法. 第6回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会セミナー, 平成26年7月26～27日, 広島 (抄録集P35-38)
- ・脇谷滋之. 環境・医療機器の国際研究開

発・実証プロジェクト/先進的医療機器システムの国際研究開発及び実証 再生・細胞医療技術および製造インフラ最適化の研究開発. NEDOセミナー NEDO成果発表および新規事業紹介～これまでと明日へ～. BioJapan2014 — World Business Forum— パシフィコ横浜 平成26年10月16日

## 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 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す。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、試験物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

まず、臨床研究の開始準備として、骨髄間葉系細胞培養のコールドランを行った。購入した骨髄間葉系細胞をセルプロセッシングセンター（広島大学病院内）へ搬入し、プロトコールに沿って工程を確認しながら約2週間の培養を行った。細胞は順調に増殖し、コンタミなどの異常は認められず、問題無く細胞培養を終了した。次に、整形外科外来処置室でボランティア（当院整形外科医師）の左腸骨から局所麻酔下に13G骨髄穿刺針を用いて骨髄液30mlを採取し、骨髄液をセルプロセッシングセンターへ搬入し、プロトコールに沿って間葉系細胞の培養を行った。細胞は順調に増殖し、コンタミなどの異常は認められず、問題無く間葉系細胞を培養可能であった。

2015年2月4日に2症例を臨床研究に登録した。割付登録システムによって、1例は細胞移植群に、もう1例は標準治療群に登録された。

細胞移植群の症例の治療を開始した。

症例は50歳男性で右膝内側部の大腿骨側と脛骨側の両方に関節軟骨欠損を認めた。人工関節置換術を施行するには若く、大腿骨側と脛骨側の両方に関節軟骨欠損がある場合には手技的に骨軟骨柱移植や自家培養軟骨移植（ジャック®）の適用が不可能であり、従来の治療法の中では骨髄刺激法のみが適応となると考えられたため、本人から本臨床研究への参加に関する同意を得て、登録された。局所麻酔下に左腸骨からの骨髄穿刺で、約30mlの骨髄を採取でき、プロトコールに沿って培養を行った（図1）。手術当日には $4 \times 10^7$ 個以上の間葉系細胞を確保できた（図2）。無菌試験、マイコプラズマ否定試験、エンドトキシン試験はすべて陰性であった。また、フローサイト

メトリーで90%以上がCD44陽性で80%以上がCD105陽性であった（図3）。手術では、まず関節鏡視下に右膝の大腿骨側と脛骨側の剥離していた軟骨片を切除して局所をリフレッシュし、骨髄刺激法（マイクロフラクチャー）を行った。次に、関節鏡視下に軟骨損傷部を確認しながら、軟骨損傷部近傍に間葉系細胞を注入した。



図1：骨髄穿刺

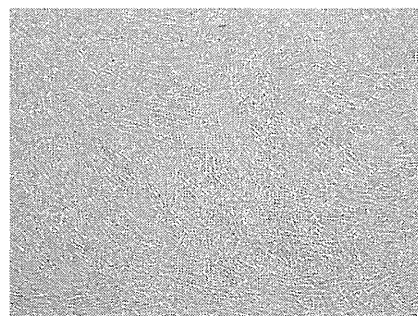


図2：間葉系細胞

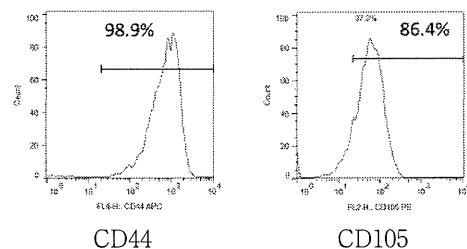


図3：フローサイトメトリー

## D. 考察

臨床研究では、開始前の準備として骨髄穿刺からセルプロセッシングセンターでの間葉系細胞の培養までのコールドランを行い、安全な骨髄採取と無菌での培養が可能なることを確認できた。この結果を受けて、臨床研究を開始した。臨床研究でも明らかな有害事象の発生なく、骨髄穿刺から間葉系細胞の培養および細胞移植まで行うことができた。今後臨床症状のスコアリングやMRIによる有効性の評価を行っていく予定である。

## E. 結論

臨床研究「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」の当院での第一例目の治療を開始し、有害事象なく細胞移植治療を行うことができた。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

越智光夫、(Presidential Lecture) Biological Reconstruction of the Knee Joint. AP-KASS 2014. (2014.4.14 奈良)

越智光夫、膝関節の生物学的再建術 2014. 整形外科Expertセミナー学術講演会。(2014.4.19 札幌)

Mitsuo Ochi, (Keynote Speech) Cutting edge technique for cartilage repair. International Forum of Orthopaedics Sports Medicine & Arthroscopy Surgery. (2014.5.8, China)

Mitsuo Ochi, Biological reconstruction of the knee. Sacred Heart Catholic University. (2014.5.12, Italy)

Mitsuo Ochi, Cartilage repair using magnet. ESSKA CONGRESS. (2014.5.14,

Netherlands)

越智光夫、関節軟骨局所欠損から変形性関節症に対する治療法。第87回日本整形外科学会学術総会。(2014.5.23 神戸)

越智光夫、(招待講演) 膝関節再建術 - 基礎から臨床へ -。第138回愛媛整形外科集談会。(2014.6.7 松山)

Mitsuo Ochi, Cartilage Repair; Past, Present, and Future. ConMed Linvatec Asia Arthroscopy Symposium. (2014.6.28 Indonesia)

Mitsuo Ochi, (招待講演) Cartilage repair: past, present and future: lessons learned. TUSYAD Congress. (2014.9.24 Turkey)

越智光夫、(教育研修講演) 軟骨欠損治療に関する世界の情勢。第29回日本整形外科学会基礎学術集会。(2014.10.9 鹿児島)

Mitsuo Ochi, (招待講演) Basic researches on cell transplantation and microRNA. Translational Research in Orthopedics and Traumatology. (2014.11.15 Italy)

Mitsuo Ochi, (招待講演) Cartilage repair using magnets. SFA Annual Congress 2014. (2014.12.3 Luxembourg)

Mitsuo Ochi, Cutting edge techniques of cartilage repair. Asian Cartilage Repair Society 2nd annual congress 2014. (2014.12.7, Korea)

亀井直輔、越智光夫、自家骨髄間葉系幹細胞を用いた関節軟骨再生。第14回日本再生医療学会総会。(2015.3.19 横浜)

## 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 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]

プロトコルに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した。

#### [調製方法]

試験物調製施設の手順書に従い、骨髄液に培養液を加え、培養した。培養液は3～4日毎に交換し、約10日後に細胞を回収した。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）とした。試験物を搬送容器に入れ、兵庫医科大学病院に冷蔵輸送した。

#### [移植・投与方法]

兵庫医科大学病院で、標準治療群は、関節鏡下に関節軟骨欠損部に骨髄刺激法を施行した。細胞移植群においては、さらに試験物を関節内に注入した。

術後は、抗菌薬を投与して感染予防を行った。

#### (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した。

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、承認後に施行した。

### C. 研究結果

細胞移植群1例、標準治療群1例を実施し、経過観察中であるが、特に経過に問題は無い。

### D. E. 考察・結論

手術を実施した症例をプロトコールに

沿って経過観察し、また、新たな症例を選  
定していく予定である。

#### 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

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 cm<sup>2</sup>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週後における改善度

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・承認を得た上で施行する。

## C. 研究結果

本年度は、培養液や細胞培養手順などを含めたプロトコルを改訂し最適化した。そのため、ドライランおよびコールドラン2例を実施し、手順の確認を行うことで研究方法の確立を行った。また、研究を実施する上で必要な症例ファイルの作成や、再生医療新法に適応した施設および実験に関連した書類作成を行っている。現在は、本研究の症例対象者の探索を行っており、対象者を登録でき次第、順次研究を進めていく予定である。

## 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

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（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

#### 1. 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

#### 2. 選択基準

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平方cm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。

#### 3. 除外基準

1) 本臨床研究への登録より2ヶ月以内に前十字靭帯、後十字靭帯いずれか、もしくは両方の靭帯再建術を施行された患者

2) 活動性の癌を有する患者

3) 妊娠中もしくは妊娠している可能性がある患者、又は授乳中の患者及び本臨床研究中に妊娠を希望する患者

4) 感染症を有する患者(HIV抗体、HBs抗原、HCV抗体、ATLA抗体のいずれかが陽性)

5) 精神疾患を有する患者

6) その他、本臨床研究への参加を研究責任者又は研究分担者が不適当と判断した患者

#### 4. 研究デザイン

標準治療を対照とする多施設共同、非盲

検、無作為化、並行群デザインの早期探索研究である。

## 5. 治療スケジュール

### 1) 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、定められた手順書に従って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。

### 2) 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。

### 3) 細胞と培養液の調製（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に、施設で定められた手順書に従い、細胞及び培養液の調製を行う。培養液に15%自己血清を加える。

運び込まれた骨髄液約30mLに培養液を加えT-500フラスコで培養する。3～4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。9～12日後に細胞を剥離して遠心分離し、回収する。

細胞を自己血清に懸濁し、さらにヒアルロン酸を加えて攪拌する。

### 4) 試験物の搬送（細胞移植群のみ）

調製済みの試験物を搬送用クーラーボックスに入れて試験物調製施設からプロトコル治療実施研究機関に搬送する。

### 5) 骨髄刺激法、及び骨髄間葉系細胞の移植手術（入院）

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。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。

## 6. 評価

### 1) 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を行う。

（細胞移植群5例登録後、6週間の観察終了時）

### 2) 主要評価項目

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

### 3) 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」及び本実施計画書を遵守して実施する。

また各参加研究機関の倫理委員会は、研究機関の長の諮問を受け、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。

## C. 研究結果

本報告書作成時点において、患者の同意を得て本臨床研究の登録を行ったのち、ラ

ンダム化によって、標準治療群 1 例と細胞治療群 1 例に対して治療を行った。標準治療群は56歳男性で、左大腿骨内顆 9 平方cmの軟骨損傷に対して、骨髄刺激法のみ施行し、術後12週が経過した。細胞治療群は53歳男性で、右大腿骨内顆 6 平方cmの軟骨損傷に対して、骨髄刺激法および自己骨髄間葉系細胞を含む試験物を関節内に注入し、術後1週間が経過した。いずれの群も有害事象は認めず、良好に術後経過している。

#### 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

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 橋本 祐介 大阪市立大学医学部 整形外科 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 cm<sup>2</sup>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。