

201432003A

厚生労働科学研究委託費

再生医療実用化研究事業

高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体を用いた
骨軟骨組織再生の探索的臨床研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者
九州大学病院 整形外科
岡崎 賢

平成27（2015）年3月

別添1

厚生労働科学研究委託費

再生医療実用化研究事業

高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体を用いた
骨軟骨組織再生の探索的臨床研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者
九州大学病院 整形外科
岡崎 賢

平成27（2015）年3月

本報告書は、厚生労働省の再生医療実用化研究委託事業による委託業務として、九州大学病院 整形外科・岡崎 賢が実施した平成26年度「高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体を用いた骨軟骨組織再生の探索的臨床研究」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）

高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体を用いた骨軟骨組織再生の探索的臨床研究 岡崎 賢	-----	1
---	-------	---

II. 委託業務成果報告（業務項目）

1 臨床研究実施準備および臨床研究の開始・実施 岡崎 賢	-----	7
2 PMDAへの薬事戦略相談の実施 中西 洋一	-----	11
3 非臨床GLP試験・製造関連試験の開始 中山 功一	-----	13

III. 学会等発表実績	-----	17
--------------	-------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	21
-----------------	-------	----

厚生労働科学研究委託費（再生医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（総括）

高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体を用いた
骨軟骨組織再生の探索的臨床研究

業務主任者 岡崎 賢 九州大学病院 整形外科・講師

研究要旨

九州大学において研究開発された、細胞のみで厚みを有し骨と軟骨の同時再生が可能な細胞構造体、『高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体（HDMAC）』を用い、離断性骨軟骨炎患者を対象に、HDMAC移植による安全性確認と骨軟骨再生の有効性探索を目的とした臨床研究を実施し、平成28年度までに全5症例の観察・評価の完了を目指す。並行して、特発性膝関節骨壊死症をターゲットとした治験を行うためのGLP非臨床試験を本研究内で実施し、次相の治験実施後に薬事承認取得・実用化を目指す。

業務項目の担当責任者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

岡崎 賢 九州大学病院 整形外科・講師
中西 洋一 九州大学病院 ARO次世代医療センター・センター長／教授
中山 功一 佐賀大学医学部 臓器再生医工学講座 教授

A. 研究目的

これまで九州大学 整形外科では、細胞を培養・増殖させた後、鋳型に流し込み、特殊な条件下で培養することにより、細胞だけで任意の形状の立体構造体を作成する方法の開発に成功した。本技術を用い、骨髄および脂肪由来幹細胞で作成した細胞構造体（高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体（High Density Mesenchymal stem cell scaffold free Autologous Construct：以下、HDMAC））を、家兎骨軟骨欠損モデルに自家移植した結果、組織学的に良好な骨軟骨の同時再生が得られた。先行する骨髄由来幹細胞移植実験では後4年以上経過後も滑らかな再生軟骨が維持されていることが分かった。

本技術は1) Scaffold を用いない高い安全性、2) 細胞のみで厚みを有する点、3) 骨と軟骨の同時再生が可能な点において他技術を凌駕することが期待される。本製造方法は、本邦において特許 第4122280号（組織プラグの製造方法）を取得している。

本事業においては、離断性骨軟骨炎患者を対象とした高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体（HDMAC）移植による安全性確認と骨軟

骨再生の有効性探索を目的とした臨床研究を実施し、平成28年度までに全5症例の観察・評価の完了を目指す。

厚生労働省は、日本発の革新的な医薬品・医療機器等の創出により、健康長寿社会を実現するとともに、国際競争力強化による経済成長に貢献することを目指す「ライフ・イノベーション」を推進し、再生医療等の早期実用化を促進している。2014年11月には薬事法改正により「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律」が施行され、また同月には「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」も施行され、治験・薬事承認と臨床研究の双方での再生医療に対する法整備が行われている。

本研究は、高齢化により罹患者増加傾向にある関節疾患をターゲットとしており、更には安全性および有効性の高い再生医療製品の開発を目指しており、それらの行政課題の実現に貢献すると考えられる。

B. 研究方法

本事業では、HDMACのFirst in human試験を行い、平成28年度までに全5症例の観察・評価の完了を目指す。並行して、特発性膝関節骨壊死症をターゲットとした治験を行うためのGLP非臨床試験を本研究内で実施し、次相の治験実施後に薬事承認取得・実用化を目指す。

① 臨床研究実施準備

(a) 臨床研究実施体制の構築

九州大学病院ARO次世代医療センターの支援を受け、データの品質管理・品質保証が適切に実施できるモニタリング担当者・データマネジメント担当

者、CPCでの製造業務担当者、および被験者対応・症例記録作成を支援する臨床研究コーディネーター（CRC）を割り当て、臨床研究実施体制を構築し、必要なトレーニング等を実施する。

- (b) 各種標準業務手順書・文書整備
臨床研究実施、準備/管理業務および試験物製造に関する各種標準業務手順書および文書を作成・整備する。

② 臨床研究の開始・実施

- (a) 厚生労働省・照会事項への対応
審査委員会からの照会事項対応を完了し、大臣通知を受領する、もしくは特定認定再生等委員会の承認を受ける。
- (b) 臨床研究の開始
承認後速やかに症例登録を始め、臨床研究を開始する。

③ PMDAへの薬事戦略相談の実施

- (a) 承認申請データパッケージの検討
薬事承認に向け、必要な安全性、品質、有効性のデータパッケージを検討する。
- (b) 薬事戦略事前相談の実施
非臨床・品質・生物由来原材料に関する薬事戦略事前相談の実施をし、治験開始までに必要なデータを検討する。必要な場合、対面助言を実施する。

④ 非臨床GLP試験・製造関連試験の開始

- (a) ミニブタ移植試験の実施
治験開始に向け必要なミニブタでの移植試験計画を立て、委託試験を開始する。
- (b) 製品製造工程の最終化
治験で使用する細胞構造体製品の製造法、品質管理試験、規格等を検討し、PMDAとの協議も踏まえ最終化する。

(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原則および再生医療等の安全性の確保等に関する法律に則り実施する。非臨床試験は動物実験等の実施に関する基本指針を遵守して行う。

C. 研究結果

1. 臨床研究実施準備

(a) 臨床研究実施体制の構築

「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」施行に伴う九州大学病院の特定認定再生医療等委員会設立に向け、ワーキンググループに参画した。院内規程の検討を行い、院内規程を2015年2月27日に制定し、2015年3月3日に届出を行った。2015年5月の審議開始に向け準備を行っている。また、本臨床研究で使用する製造施設として、九州大学病院 分子細

胞調製センターおよび手術室の特定細胞加工物製造届出をそれぞれ2015年12月12日および12月19日に提出し受理された。

臨床研究業務の体制として、研究代表者の岡崎を中心とし、ARO次世代医療センターによる支援体制を構築した。プロジェクトマネジメント、データマネジメント、モニタリング、安全性情報管理、臨床研究コーディネーター(CRC)の各担当者を割り当て、業務を開始した。

(b) 各種標準業務手順書・文書整備

同法改正に合わせ、臨床研究実施計画書、同意説明文書の改訂を行った。更に、再生医療等提供計画提出に必要な書類の整備を行った。

他の開始前準備として、データマネジメント担当者と協議し、症例報告書、被験者登録手順書、データマネジメント計画書等の文書整備を実施し、臨床研究用のデータベースを構築した。また、モニタリング担当者、安全性情報管理担当者も各業務の手順書を整備した。

2. 臨床研究の開始・実施

(a) 厚生労働省・照会事項への対応

本事業開始当初は、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に基づく厚労大臣の承認を目指し、2013年6月7日に申請以降、照会事項対応をしていた。照会事項において要求された、非臨床試験の査読論文採択が間に合わず同指針下での承認に至らなかったため、2014年11月の「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」の施行に伴い、特定認定等再生医療委員会への申請資料準備に切り替えた。

(b) 臨床研究の開始

臨床研究の開始には至らなかったものの、臨床研究コーディネーターと被験者対応、脂肪採取準備、移植準備等の手順について検討し、文書化を進めた。

3. PMDAへの薬事戦略相談の実施

(a) 承認申請データパッケージの検討

臨床研究完了後、特発性膝関節骨壊死症など難治性関節疾患を対象とした治験を実施し、本臨床研究データを参考資料とし、改正薬事法に基づく早期条件付き承認を目指す戦略を立てた。

(b) 薬事戦略相談の実施

2012年9月3日および2014年5月14日に薬事戦略相談事前面談を実施した。今後、まずは生物由来原料基準に基づく原材料の安全性確認について薬事戦略相談を実施し、以降品質、非臨床に区分し相談を進めていくこととした。

4. 非臨床GLP試験・製造関連試験の開始

(a) ミニブタ移植試験の実施

治験開始に向け必要なミニブタでの移植試験計画を立て、委託試験を開始した。

適齢期のミニブタ確保、委託施設の空き状況から2014年12月に(株)日本バイオリサーチセンターと契約を締結。12月末にミニブタ2頭を入手し、2015年1月に試験を開始した。ミニブタから脂肪組織を採取し、HDMACを作製後、ミニブタ2頭にHDMACを移植した。現在、安全性を確認しながら、経過観察中である。

平行して将来の適応拡大を目指して、荷重部への移植および、欠損面積の拡大を試みた。

大腿骨内顆部の荷重面に従来と同じ直径5ミリの欠損部を作成しHDMACを移植したところ、従来の非荷重面移植と同じプロトコールにも関わらず同等の軟骨・骨の同時再生が得られた。また、膝蓋骨滑車溝に、直径5ミリの欠損を連結した楕円状の欠損部にHDMAC2本を移植したブタでも円滑な関節面の再生が得られており連結部も非常にスムーズに再生されていることが確認できた。

加えて、本研究の基礎となった家兎を用いた骨軟骨同時再生のデータを集計し、論文化して公表した。また、骨軟骨再生に必要な分子メカニズムを生化学的に解析した。

(b) 製品製造工程の最終化

治験で使用する細胞構造体製品の製造法、品質管理試験について検討し、文書化を進め、最終案をとりまとめ中。PMDAとの協議を踏まえ、最終化する予定である。

D. 考察

「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」制度下での承認に至らず、新制度下での再申請が必要となり、時間的な損失があったうえ、申請資料再作成の業務、新制度対応の特定認定再生医療等委員会設置、製造場所の届出などの当初予定していない項目が発生したことが研究の進捗に影響した。しかしながら、臨床研究開始に向け、九州大学病院ARO次世代医療センターの業務支援のもと、主だった準備はほぼ完了し、来年度の臨床研究開始が見込める状態となった。

E. 結論

再生医療に関する大きな制度変更の影響を受け、臨床研究開始には至らなかったものの、特定認定再生医療等委員会設置後すぐに諮問し、承認次第臨床研究が開始できる状態まで準備作業を進めることができた。また、先行して実施した非臨床試験について論文化することができた。加えて、将来の実用化に向け、治験準備としてのPMDA薬事戦略相談事前相談を実施したことや、非臨床試験および製品の規格・品質に関わる試験を進めることができたことは前進であった。

F. 健康危険情報

2015年3月末時点で臨床研究の開始に至っていないため、被験者に関する危険情報は生じていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Simultaneous regeneration of full-thickness cartilage and subchondral bone defects in vivo using a three-dimensional scaffold-free autologous construct derived from high-density bone marrow-derived mesenchymal stem cells. Ishihara K, Nakayama K, Akieda S, Matsuda S, Iwamoto Y.

J Orthop Surg Res. 2014 Oct 14;9(1):98.

2) Multipotency of equine mesenchymal stem cells derived from synovial fluid.

Murata D, Miyakoshi D, Hatazoe T, Miura N, Tokunaga S, Fujiki M, Nakayama K, Misumi K. *The Veterinary Journal*, 2014 Oct, 202(1):53-61, 2014 Aug.4

3) A preliminary study of osteochondral regeneration using a scaffold-free 3-dimensional construct of porcine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells.

Murata D, Tokunaga S, Tamura T, Kawaguchi H, Miyoshi N, Fujiki M, Nakayama K, Misumi K.

J Orthop Surg Res 2015, 10:35

4) Detection of early cartilage deterioration associated with meniscal tear using T1ρ mapping magnetic resonance imaging

Matsubara H, Okazaki K, Takayama Y, Osaki K, Matsuo Y, Honda H, Iwamoto Y

BMC Musculoskelet Disord 16(1): 487, 2015

5) Subclinical cartilage degeneration in young athletes with posterior cruciate ligament injuries detected with T1ρ magnetic resonance imaging mapping.

Okazaki K, Takayama Y, Osaki K, Matsuo Y, Mizu-Uchi H, Hamai S, Honda H, Iwamoto Y.

Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2014

6) CCAAT/enhancer-binding protein β promotes receptor activator of nuclear factor-κB ligand (RANKL) expression and osteoclast formation in the synovium in rheumatoid arthritis

Tsushima H, Okazaki K, Ishihara K, Ushijima T, Iwamoto Y

Arthritis Res Ther 17(1):532, 2015

7) 細胞だけで立体的な構造体を作製する Scaffold-free 3D Biofabrication System の開発

中山功一

シーエムシー出版刊 Bio Industry Vol. 31(1)
pp.20-27 Jan 2014

8) 細胞だけで立体的な構造体を作製するバイオラ
ピッドプロトタイピングシステムの開発

川勝美穂、大嶋利之、田中麻衣、中山功一

遺伝子医学MOOK別冊 pp. 190-194 Feb, 2014

9) バイオ3Dプリンティング技術を用いた立体的
細胞構造体の作製

川勝 美穂、大嶋 利之、中山 功一

一般社団法人 日本印刷学会 日本印刷学会誌
Vol.51 pp.18-22, 2014

2. 学会発表

a) 国際学会発表

1) Iwasaki R, Oshima t, Kawakatsu M, Tanaka
M, Nakayama K.

Three dimensional construct fabrication and
mechanical pressure culture enhance.

ICJR Pan Pacific Orthopaedic Congress
2014.7.16-18, Kona, HI, USA

2) Oshima T, Iwasaki R, Kawakatsu M, Tanaka
M, Nakayama K.

In vitro fabrication of scaffold-free
meniscus-like constructs using bio-3D Printer.

ICJR Pan Pacific Orthopaedic Congress
2014.7.16-18, Kona, HI, USA

3) Nakayama K

A New Approach for 3D Tissue & Organ
Fabrication Inspired from Orthopedic Surgery.

The 5th meeting of Asian Cellular Therapy
Organization 2014.11. 10-12, Osaka

4) Nakayama K

A new approach for 3D tissue & organ
fabrication inspired from Orthopedic Surgery.

The 1st International Conference & Exhibition
for Nanopia 2014.11.13-14, Pusan, Korea

b) 国内学会発表

1) 中山功一

バイオ3Dプリンターを用いた臓器の再生とその応
用について

日本安全性薬理研究会 2014.2.14, 東京

2) 中山功一

スフェロイド積層型Scaffold freeバイオ3Dプリン
ターの開発とその応用について

第13回日本再生医療学会総会 2014.3.6, 京都

3) 大嶋利之、川勝美穂、田中麻衣、岩崎倫士、松
田秀一、中山功一

バイオ3Dプリンターを用いた半月板様構造体作製
の細胞種の探索

第13回日本再生医療学会総会 2014.3, 京都

4) 川勝美穂、大嶋利之、田中麻衣、岩崎倫士、松
田秀一、中山功一

バイオ3Dプリンターを用いて作製した半月板様構
造体の強度増強に関する検討

第13回日本再生医療学会総会 2014.3, 京都

5) 中山功一

骨折の治療から着想したあたらしい再生医療とバ
イオ3Dプリンターの開発について

日本組織培養学会 第87回大会 (東京)
2014.5.29-31, 東京

6) 中山功一

骨折の治療から着想したあたらしい再生医療とバ
イオ3Dプリンターの開発について

応用物理学会・有機分子バイオエレクトロニクス
分科会 2014.7.12, 東京

7) 中山功一

骨折の治療から着想したあたらしい再生医療とバ
イオ3Dプリンターの開発について

第52回日本人工臓器学会大会 2014.10.17-19, 北
海道

8) 中山功一

骨折の治療から着想したあたらしい再生医療とバ
イオ3Dプリンターの開発について

日本実験動物代替法学会 第27回大会
2014.12.5-7, 横浜

9) 大嶋利之、川勝美穂、田中麻衣、村田大紀、三
角一浩、松田秀一、中山功一

強度測定装置を用いた細胞構造体の力学的症状の
解析

第14回日本再生医療学会総会 2015.03.19-21, 横
浜

10) 大嶋利之、中野正貴、村田大紀、三角一浩、
中山功一

3Dプリンターを用いた靭帯様の細胞構造体の作製

第14回日本再生医療学会総会 2015.03.19-21, 横
浜

11) 松林久美香、川勝美穂、伊藤学、森田茂樹、
中山功一

細胞構造体連結による臨床利用可能な血管様細胞
構造体の作製

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

No.	特許番号・出願番号	発明の名称	特許権者・出願人	出願国
1	特許第4122280号	組織プラグの製造方法	九州大学	日本
2	PCT/JP 2007/075343	細胞移植用器具	岩本幸英、 ○中山功一、日本メディカルマテリアル(株)	米、欧、日、中、印
3	特許公開2008-20726	深さ調整用ドリル	日本メディカルマテリアル(株)、九州大学	日本
4	PCT/JP 2008/056826	細胞の立体構造体の製造方法	九州大学	米、欧、日、中、印など10カ国
5	特願2011-023848	移植用ガイドおよび移植用器具	佐賀大学 ○中山功一	国内出願に続き、PCT出願予定
6	特願2011-030043	細胞塊の培養システム	佐賀大学 ○中山功一、下戸健	国内出願に続き、PCT出願予定
7	特願2011-140111	細胞の立体構造体製造装置	佐賀大学、サイフューズ、澁谷工業 ○中山功一、米田健二、坂本匡弘、越田一朗、所村正晴、深村功	国内出願に続き、PCT出願予定
8	特願2015-023228	細胞培養用治具	永田昌博、高橋洋一、中山功一、口石幸治、田村忠士	国内出願に続き、PCT出願予定

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究委託費（再生医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

臨床研究実施準備および臨床研究の開始・実施

担当責任者 岡崎 賢 九州大学病院 整形外科・講師

研究要旨

『高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体（HDMAC）』を用い、離断性骨軟骨炎患者を対象に、HDMAC移植による安全性確認と骨軟骨再生の有効性探索を目的とした臨床研究を開始するため、実施体制を構築し、関連規制に対応した各種ドキュメント等の作成を行う。特定認定再生医療等委員会の承認、再生医療等提供計画の地方厚生局への提出を経て、臨床研究を実施する。

業務項目の担当責任者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

岡崎 賢 九州大学病院 整形外科・講師

審査委員会からの照会事項対応を完了し、大臣通知を受領する、もしくは特定認定再生等委員会の承認を受ける。

(b) 臨床研究の開始

承認後速やかに症例登録を始め、臨床研究を開始する。

A. 研究目的

骨髄および脂肪由来幹細胞で作成した細胞構造体（高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体（High Density Mesenchymal stem cell scaffold free Autologous Construct：以下、HDMAC））移植による安全性確認と骨軟骨再生の有効性探索を目的とした臨床研究を実施するため、関連規制に対応した臨床研究計画および各種文書を作成等の準備業務を行い、特定認定再生医療等委員会の承認、再生医療等提供計画の地方厚生局への提出を経て、臨床研究を開始する。平成28年度までに全5症例の観察・評価の完了を目指す。

（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原則および再生医療等の安全性の確保等に関する法律に則り実施する。非臨床試験は動物実験等の実施に関する基本指針を遵守して行う。

B. 研究方法

① 臨床研究実施準備

(a) 臨床研究実施体制の構築

九州大学病院ARO次世代医療センターの支援を受け、データの品質管理・品質保証が適切に実施できるモニタリング担当者・データマネジメント担当者、CPCでの製造業務担当者、および被験者対応・症例記録作成を支援する臨床研究コーディネーター（CRC）を割り当て、臨床研究実施体制を構築し、必要なトレーニング等を実施する。

(b) 各種標準業務手順書・文書整備

臨床研究実施、準備/管理業務および試験物製造に関する各種標準業務手順書および文書を作成・整備する。

② 臨床研究の開始・実施

(a) 厚生労働省・照会事項への対応

C. 研究結果

1. 臨床研究実施準備

(a) 臨床研究実施体制の構築

「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」施行に伴う九州大学病院の特定認定再生医療等委員会設立に向け、ワーキンググループに参画した。院内規程の検討、研究者用のセルフチェックリスト作成、申請までのフロー図作成等を行い、院内規程を2015年2月27日に制定し、委員の人選を行ったうえで、2015年3月3日に届出を行った。2015年4月に準備委員会を開催し、2015年5月の審議開始の予定である。

また、本臨床研究で使用する製造施設として、九州大学病院 分子細胞調製センターおよび手術室の届出書類を整備し、「特定細胞加工物製造届出」をそれぞれ2015年12月12日および12月19日に提出し受理された。当該届出において、HDMACを「製造をしようとする特定細胞加工物一覧表」に加えており、本臨床研究の特定認定再生医療等委員会での承認が得られれば、開始できる状態に至った。

臨床研究業務の体制として、研究代表者の岡崎を中心とし、ARO次世代医療センターによる支援体制を構築した。プロジェクトマネジメント、データマネジメント、モニタリング、安全性情報管理、臨床研究コーディネーター（CRC）の各担当者を割り当て、各業務を開始し

た。

試験物の製造体制については、製造および品質管理人員の不足および技術面でのサポートを得るため、株式会社サイフューズと連携すべく、本臨床研究に関する契約締結の協議を行った。

(b) 各種標準業務手順書・文書整備

同法施行に合わせ、臨床研究実施計画書、同意説明文書の改訂を行った。更に、再生医療等提供計画提出に以下の必要な書類の整備を行った。

- ・ 実施責任者及び再生医療等を行う医師／歯科医師の氏名、所属、役職及び略歴
- ・ 再生医療等に用いる細胞に関する研究成果を記載した書類
- ・ 記載された再生医療等と同様又は類似の再生医療等に関する国内外の実施状況
- ・ 特定細胞加工物概要書、特定細胞加工物標準書、衛生管理基準書、製造管理基準書、品質管理基準書
- ・ 再生医療等の内容をできる限り平易な用語を用いて記載したもの
- ・ 個人情報取扱実施規程

他には、データマネジメント担当者と協議し、症例報告書、被験者登録手順書、データマネジメント計画書等の文書整備を実施し、臨床研究用のデータベースを構築した。副次評価項目である、軟骨再生の評価法について検討し、既承認のジャックの審査報告書を参考に MOCART スコアでの評価を取り入れることとした。他には MRI、CT、関節鏡を用い、詳細な解析を行うようにし、それに応じた症例報告書を作成した。

モニタリングについては、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」では要求されていないものの、本研究が first in human であること、2015 年 4 月 1 日施行の「人を対象とする医学系研究に関する指針」でモニタリングが盛り込まれることを鑑み、実施することとした。モニタリング手法、頻度、内容について担当者と協議し、モニタリング計画を策定した。

また、安全性情報管理担当者を設け、重篤な有害事象および重大事態における院内の報告手順、規制当局への報告手順について業務手順書を整備した。

2. 臨床研究の開始・実施

(a) 厚生労働省・照会事項への対応

本事業開始当初は、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に基づく厚労大臣の承認を目指し、2013 年 6 月 7 日に申請以降、照会事項対応をしていた。2013 年 6 月 29 日の第 27 回 ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する審査委員会において提示された照会事項で、「整形外科領域の雑誌で、査読を受けた論文の提出」を求められたため、以降は過去に実施した非臨床試験のデータまとめと論文作成に着手した。しかしながら、非臨床試験の査読論文採扱が

法改正前に間に合わず同指針下での承認に至らなかったため、2014 年 11 月の「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」の施行に伴い、特定認定等再生医療委員会への申請資料準備に切り替えた。

論文以外の照会事項については、適切に対応を行った。

(b) 臨床研究の開始

臨床研究の開始には至らなかったものの、臨床研究コーディネーター 3 名を割り当て、実務に応じた観点から臨床研究実施計画書のレビューを受けた。また、被験者対応、脂肪採取準備、移植準備等の手順について検討し、文書化を進めた。脂肪幹細胞分離装置 Celution については、販売企業によるメンテナンスおよびソフトウェアのアップデートを行い、臨床研究開始に備えた。

D. 考察

臨床研究の開始準備については、概ね順調に完了したものの、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」制度下での承認に至らず、新制度下での再申請が必要となり、時間的な損失があったうえ、申請資料再作成の業務、新制度対応の特定認定再生医療等委員会設置、製造施設の届出などの当初予定していない項目が発生したことが研究の進捗に影響し、臨床研究の開始に至らなかった。

また、本件は企業と連携し事業化を進めているため、特許の取得を重視し、学術論文の作成を行っていなかったことが、旧制度内での承認を受けられない要因となってしまった。しかし、査読論文の採扱・提出は旧制度や新法において明文化されて求められている事項ではなく、何をもって信頼性のある非臨床データとするかは研究者のみならず、規制側も含めた問題であると思われる。

E. 結論

2015 年度の臨床研究開始に向け、概ねの準備が完了した。

F. 健康危険情報

2015 年 3 月末時点で臨床研究の開始に至っていないため、被験者に関する危険情報は生じていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Detection of early cartilage deterioration associated with meniscal tear using T1ρ mapping magnetic resonance imaging
Matsubara H, Okazaki K, Takayama Y, Osaki K, Matsuo Y, Honda H, Iwamoto Y
BMC Musculoskelet Disord 16(1): 487, 2015

2) Subclinical cartilage degeneration in young athletes with posterior cruciate ligament injuries detected with T1ρ magnetic resonance

imaging mapping.

Okazaki K, Takayama Y, Osaki K, Matsuo Y,
Mizu-Uchi H, Hamai S, Honda H, Iwamoto Y.
Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2014

3) CCAAT/enhancer-binding protein β promotes
receptor activator of nuclear factor-kappa-B
ligand (RANKL) expression and osteoclast
formation in the synovium in rheumatoid
arthritis

Tsushima H, Okazaki K, Ishihara K, Ushijima
T, Iwamoto Y
Arthritis Res Ther 17(1):532, 2015

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

厚生労働科学研究委託費（再生医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

PMDAへの薬事戦略相談の実施

担当責任者 中西 洋一 九州大学病院 ARO次世代医療センター・センター長/教授

研究要旨

『高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体（HDMAC）』の将来的な薬事承認を目指し、関連規制に応じた品質、安全性、有効性のパッケージを検討し、PMDAとの協議を進める。

業務項目の担当責任者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

中西 洋一 九州大学病院 ARO次世代医療センター・センター長/教授

A. 研究目的

臨床研究の実施と平行し、高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体（High Density Mesenchymal stem cell scaffold free Autologous Construct：以下、HDMAC）の将来的な薬事承認を目指し、PMDAの薬事戦略相談制度を活用し薬事戦略を策定する。

B. 研究方法

PMDAへの薬事戦略相談の実施

(a) 承認申請データパッケージの検討

薬事承認に向け、必要な安全性、品質、有効性のデータパッケージを検討する。

(b) 薬事戦略事前相談の実施

非臨床・品質・生物由来原材料に関する薬事戦略事前相談の実施をし、治験開始までに必要なデータを検討する。必要な場合、対面助言を実施する。

(倫理面への配慮)

治験の計画にあたっては、ヘルシンキ宣言に基づく倫理原則および医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律、関連省令等を順守した内容とする。非臨床試験は動物実験等の実施に関する基本指針を遵守して行う。

C. 研究結果

PMDA への薬事戦略相談の実施

(a) 承認申請データパッケージの検討

本事業における臨床研究により、HDMACの安全性を確認し、骨軟骨同時再生の有効性が確認された場合、特発性膝関節骨壊死症など難治性関節疾患を対象とした治験を実施し、本臨床研究データを参考資料とし、改正薬事法に基づく早期条件付き承認を目指す戦略を立てた。

そのため、臨床研究のデータの信頼性を確保するため、データマネジメント、モニタリングによる品質管理を行うこととした。

(b) 薬事戦略相談の実施

2014年5月14日に薬事戦略相談事前面談を実施した。相談内容は、以下のとおり。臨床研究開始に向け取得した非臨床、品質のデータを示したうえで相談を行った。

- 1) 治験開始までに必要な非臨床試験の具体的な内容についてご意見いただき整理したい。
- 2) 製品の規格、製造方法、工程内品質管理試験について、臨床研究と同様のものを考えている。項目・内容の妥当性についてご意見いただきたい。
- 3) 製造工程において、Cytori Therapeutics社のCelutionを用い脂肪幹細胞を分離する。当該機器の承認申請時の位置付けについて、ご教示いただきたい。

事前相談結果を踏まえ、今後の薬事関連業務について検討した。まずは生物由来原料基準に基づく原材料の安全性確認について薬事戦略相談を実施し、以降品質、非臨床に区分し相談を進めていくこととした。

D. 考察

臨床研究開始までに取得した非臨床、品質関係のデータに加え、規制要件に順じ、信頼性のあるデータの取得を今後行う必要がある。

本製品は企業と連携して開発を進めており、最終

製品や対象疾患について更なる検討が必要である。

E. 結論

最終製品の規格、品質の決定、非臨床試験パッケージの決定、薬事承認を目指す対象疾患の決定とそのためのお験デザインの策定をし、今後順次PMDAとの相談を進めて行く必要がある。

F. 健康危険情報

2015年3月末時点で臨床研究の開始に至っていないため、被験者に関する危険情報は生じていない。

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

非臨床GLP試験・製造関連試験の開始

担当責任者 中山 功一 佐賀大学医学部 臓器再生医工学講座 教授

研究要旨

臨床研究の実施と平行し、将来的にHDMACの治験を行うために必要な非臨床試験および製品の品質・製造関連試験を実施する。

業務項目の担当責任者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

中山 功一
佐賀大学医学部 臓器再生医工学講座 教授

A. 研究目的

臨床研究で使用する高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体（High Density Mesenchymal stem cell scaffold free Autologous Construct：以下、HDMAC）について、これまでの研究では家兎骨軟骨欠損モデルに自家移植した結果、組織学的に良好な骨軟骨の同時再生が得られ移植後 4 年以上経過後も滑らかな再生軟骨が維持されていることが分かっている。加えて、臨床研究開始に向け実施したミニブタでの脂肪由来幹細胞構造体での移植試験においても同様の結果が得られている。また、核型分析、腫瘍形成試験などの安全性試験、細胞の品質に関する試験についても実施した。

本製品について将来的な治験実施・薬事承認取得を目指すためには、これまで実施した試験では不足していたり、規制要件に応じていない手法での実施であったりするため、本事業内で必要な非臨床試験等を完了することを目指す。

B. 研究方法

非臨床GLP試験・製造関連試験の開始

(a) ミニブタ移植試験の実施

治験開始に向け必要なミニブタでの移植試験計画を立て、委託試験を開始する。

(b) 製品製造工程の最終化

治験で使用する細胞構造体製品の製造法、品質管理試験、規格等を検討し、PMDAとの協議も踏まえ最終化する。

(倫理面への配慮)

非臨床試験は動物実験等の実施に関する基本指針

を遵守して行う。

C. 研究結果

(a) ミニブタ移植試験の実施

治験開始に向け必要なミニブタでの移植試験計画を立て、委託試験を開始した。

適齢期のミニブタ確保、委託施設の空き状況から2014年12月に(株)日本バイオリサーチセンターと契約を締結。12月末にミニブタ2頭を入手し、2015年1月に試験を開始した。ミニブタから脂肪組織を採取し、HDMACを作製後、ミニブタ2頭にHDMACを移植した。現在、安全性を確認しながら、経過観察中である。

平行して将来の適応拡大を目指して、荷重部への移植および、欠損面積の拡大を試みた。

大腿骨内顆部の荷重面に従来と同じ直径5ミリの欠損部を作成しHDMACを移植したところ、従来の非荷重面移植と同じプロトコールにも関わらず同等の軟骨・骨の同時再生が得られた。また、膝蓋骨滑車溝に、直径5ミリの欠損を連結した楕円状の欠損部にHDMAC2本を移植したブタでも円滑な関節面の再生が得られており連結部も非常にスムーズに再生されていることが確認できた。

加えて、本研究の基礎となった家兎を用いた骨軟骨同時再生のデータを集計し、論文化して公表した。また、骨軟骨再生に必要な分子メカニズムを生化学的に解析した。

(b) 製品製造工程の最終化

治験で使用する細胞構造体製品の製造法、品質管理試験について検討し、文書化を進め、最終案をとりまとめ中。PMDAとの協議を踏まえ、最終化する予定である。

D. 考察

より広範囲の欠損領域へ適応範囲を拡大できる可能性も示唆されたが、薬事承認取得を目指す最終製品について、非臨床試験データを取得することを優先し、次年度以降の研究を進める必要がある。

E. 結論

治験開始に向け、必要な非臨床安全性試験に着手できた。今後本事業期間内に十分なデータを取得するとともに、PMDAとの協議を続け、治験開始に必要な安全性および品質のデータを揃える。

F. 健康危険情報

非臨床試験のため該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Simultaneous regeneration of full-thickness cartilage and subchondral bone defects in vivo using a three-dimensional scaffold-free autologous construct derived from high-density bone marrow-derived mesenchymal stem cells. Ishihara K, Nakayama K, Akieda S, Matsuda S, Iwamoto Y. *J Orthop Surg Res*. 2014 Oct 14;9(1):98.

2) Multipotency of equine mesenchymal stem cells derived from synovial fluid. Murata D, Miyakoshi D, Hatazoe T, Miura N, Tokunaga S, Fujiki M, Nakayama K, Misumi K. *The Veterinary Journal*, 2014 Oct, 202(1):53-61, 2014 Aug.4

3) A preliminary study of osteochondral regeneration using a scaffold-free 3-dimensional construct of porcine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. Murata D, Tokunaga S, Tamura T, Kawaguchi H, Miyoshi N, Fujiki M, Nakayama K, Misumi K. *J Orthop Surg Res* 2015, 10:35

4) 細胞だけで立体的な構造体を作製する Scaffold-free 3D Biofabrication System の開発 中山 功一 シーエムシー出版刊 Bio Industry Vol. 31(1) pp.20-27 Jan 2014

5) 細胞だけで立体的な構造体を作製するバイオラピッドプロトタイピングシステムの開発 川勝美穂、大嶋利之、田中麻衣、中山 功一 遺伝子医学MOOK別冊 pp. 190-194 Feb, 2014

6) バイオ3Dプリンティング技術を用いた立体的細胞構造体の作製 川勝 美穂、大嶋 利之、中山 功一 一般社団法人 日本印刷学会 日本印刷学会誌

2. 学会発表

a) 国際学会発表

1) Iwasaki R, Oshima t, Kawakatsu M, Tanaka M, Nakayama K. Three dimensional construct fabrication and mechanical pressure culture enhance. ICJR Pan Pacific Orthopaedic Congress 2014.7.16-18, Kona, HI, USA

2) Oshima T, Iwasaki R, Kawakatsu M, Tanaka M, Nakayama K. In vitro fabrication of scaffold-free meniscus-like constructs using bio-3D Printer. ICJR Pan Pacific Orthopaedic Congress 2014.7.16-18, Kona, HI, USA

3) Nakayama K

A New Approach for 3D Tissue & Organ Fabrication Inspired from Orthopedic Surgery. The 5th meeting of Asian Cellular Therapy Organization 2014.11. 10-12, Osaka

4) Nakayama K

A new approach for 3D tissue & organ fabrication inspired from Orthopedic Surgery. The 1st International Conference & Exhibition for Nanopia 2014.11.13-14, Pusan, Korea

b) 国内学会発表

1) 中山 功一

バイオ3Dプリンターを用いた臓器の再生とその応用について 日本安全性薬理研究会 2014.2.14, 東京

2) 中山 功一

スフェロイド積層型 Scaffold free バイオ3Dプリンターの開発とその応用について 第13回日本再生医療学会総会 2014.3.6, 京都

3) 大嶋利之、川勝美穂、田中麻衣、岩崎倫士、松田秀一、中山 功一 バイオ3Dプリンターを用いた半月板様構造体作製の細胞種の探索 第13回日本再生医療学会総会 2014.3, 京都

4) 川勝美穂、大嶋利之、田中麻衣、岩崎倫士、松田秀一、中山 功一 バイオ3Dプリンターを用いて作製した半月板様構造体の強度増強に関する検討 第13回日本再生医療学会総会 2014.3, 京都

5) 中山功一

骨折の治療から着想したあたらしい再生医療とバイオ3Dプリンターの開発について
日本組織培養学会 第87回大会 (東京)
2014.5.29-31, 東京

6) 中山功一

骨折の治療から着想したあたらしい再生医療とバイオ3Dプリンターの開発について
応用物理学会・有機分子バイオエレクトロニクス分科会 2014.7.12, 東京

7) 中山功一

骨折の治療から着想したあたらしい再生医療とバイオ3Dプリンターの開発について
第52回日本人工臓器学会大会 2014.10.17-19, 北海道

8) 中山功一

骨折の治療から着想したあたらしい再生医療とバイオ3Dプリンターの開発について
日本実験動物代替法学会 第27回大会
2014.12.5-7, 横浜

9) 大嶋利之、川勝美穂、田中麻衣、村田大紀、三角一浩、松田秀一、中山功一
強度測定装置を用いた細胞構造体の力学的症状の解析
第14回日本再生医療学会総会 2015.03.19-21, 横浜

10) 大嶋利之、中野正貴、村田大紀、三角一浩、中山功一
3Dプリンタを用いた靱帯様の細胞構造体の作製
第14回日本再生医療学会総会 2015.03.19-21, 横浜

11) 松林久美香、川勝美穂、伊藤学、森田茂樹、中山功一
細胞構造体連結による臨床利用可能な血管様細胞構造体の作製
第14回日本再生医療学会総会 2015.03.19-21, 横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

No.	特許番号・出願番号	発明の名称	特許権者・出願人	出願国
1	特許第4122280号	組織プラグの製造方法	九州大学	日本
2	PCT/JP2007/075343	細胞移植用器具	岩本幸英、 ○中山功一、日本メデイカルマテリアル(株)	米、欧、日、中、印
3	特許公開2008-20726	深さ調整用ドリル	日本メデイカルマテリアル(株)、九州大学	日本
4	PCT/JP2008/056826	細胞の立体構造体の製造方法	九州大学	米、欧、日、中、印など10カ国
5	特願2011-023848	移植用ガイドおよび移植用器具	佐賀大学 ○中山功一	国内出願に続き、PCT出願予定
6	特願2011-030043	細胞塊の培養システム	佐賀大学 ○中山功一、下戸健	国内出願に続き、PCT出願予定
7	特願2011-140111	細胞の立体構造体製造装置	佐賀大学、サイフューズ、澁谷工業 ○中山功一、米田健二、坂本匡弘、越田一朗、所村正晴、深村功	国内出願に続き、PCT出願予定
8	特願2015-023228	細胞培養用治具	永田昌博、高橋洋一、中山功一、口石幸治、田村忠士	国内出願に続き、PCT出願予定

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

様式第19

学 会 等 発 表 実 績

委託業務題目：高密度スキャフォールドフリー脂肪由来幹細胞構造体を用いた骨軟骨組織再生の
探索的臨床研究

機関名 九州大学

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所 (学会等名)	発表した時期	国内・外の別
Three dimensional construct fabrication and mechaical pressure culture enhance.	Iwasaki R, Oshima T, Kawakatsu M, Tanaka M, Nakayama K	ICJR Pan Pacific Orthopaedic Congress	July 16-18, 2014	国外
In vitro fabrication of scaffold-free meniscus-like constructs using bio-3D Printer.	Oshima T, Iwasaki R, Kawakatsu M, Tanaka M, Nakayama K	ICJR Pan Pacific Orthopaedic Congress	July 16-18, 2014	国外
A New Approach for 3D Tissue & Organ Fabrication Inspired from Orthopedic Surgery.	<u>Nakayama K</u>	The 1st International Conference & Exhibition for Nanopia	Nov. 13-14, 2014	国外
バイオ3Dプリンターを用いた臓器の再生とその応用について	<u>中山功一</u>	日本安全性薬理研究会	2014.2.14	国内
スフェロイド積層型 Scaffold freeバイオ3Dプリンターの開発とその応用について	<u>中山功一</u>	第13回日本再生医療学会総会	2014.3.4-6	国内
バイオ3Dプリンターを用いた半月板様構造体作製の細胞種の探索	大嶋利之、川勝美穂、田中麻衣、岩崎倫士、松田秀一、 <u>中山功一</u>	第13回日本再生医療学会総会	2014.3.4-6	国内
バイオ3Dプリンターを用いて作製した半月板様構造体の強度増強に関する検討	川勝美穂、大嶋利之、田中麻衣、岩崎倫士、松田秀一、 <u>中山功一</u>	第13回日本再生医療学会総会	2014.3.4-6	国内
骨折の治療から着想したあたらしい再生医療とバイオ3Dプリンターの開発について	<u>中山功一</u>	日本組織培養学会 第87回大会	2014.5.29-31	国内

骨折の治療から着想したあ たらしい再生医療とバイオ 3Dプリンターの開発につい て	<u>中山功一</u>	応用物理学会・有機分 子バイオエレクトロニ クス分科会	2014.7.12	国内
骨折の治療から着想したあ たらしい再生医療とバイオ 3Dプリンターの開発につい て	<u>中山功一</u>	第52回日本人工臓器学 会大会	2014.10.17-19	国内
A New Approach for 3D Tissue & Organ Fabrication Inspired from Orthopedic Surgery.	<u>Nakayama K</u>	The 5th meeting of Asian Cellular Therapy Organization	Nov. 10-12, 2014	国内
骨折の治療から着想したあ たらしい再生医療とバイオ 3Dプリンターの開発につい て	<u>中山功一</u>	日本実験動物代替法学 会 第27回大会	2014.12.5-7	国内
強度測定装置を用いた細胞 構造体の力学的症状の解析	大嶋利之、川勝 美穂、田中麻 衣、村田大紀、 三角一浩、松田 秀一、 <u>中山功一</u>	第14回日本再生医療学 会総会	2015.03.19-21	国内
3Dプリンタを用いた靱帯様 の細胞構造体の作製	大嶋利之、中野 正貴、村田大 紀、三角一浩、 <u>中山功一</u>	第14回日本再生医療学 会総会	2015.03.19-21	国内
細胞構造体連結による臨床 利用可能な血管様細胞構造 体の作製	松林久美香、川 勝美穂、伊藤 学、森田茂樹、 <u>中山功一</u>	第14回日本再生医療学 会総会	2015.03.19-21	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所 (学会誌・雑誌等名)	発表した時期	国内・外 の別
Multipotency of equine mesenchymal stem cells derived from synovial fluid.	Murata D, Miyakoshi D, Hatazoe T, Miura N, Tokunaga S, Fujiki M, <u>Nakayama K</u> , Misumi K.	<i>The Veterinary Journal</i>	2014 Oct, 202(1):53-61	国外
Simultaneous regeneration of full-thickness cartilage and subchondral bone defects in vivo using a three-dimensional scaffold-free autologous construct derived from high-density bone marrow-derived mesenchymal stem cells.	Ishihara K, <u>Nakayama K</u> , Akieda S, Matsuda S, Iwamoto Y.	<i>J Orthop Surg Res.</i>	2014 Oct 14;9(1):98.	国外
A preliminary study of osteochondral regeneration using a scaffold-free 3-dimensional construct of porcine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells.	Murata D, Tokunaga S, Tamura T, Kawaguchi H, Miyoshi N, Fujiki M, <u>Nakayama K</u> , Misumi K.	<i>Journal of Orthopaedic Surgery and Research</i>	2015, 10:35	国外
細胞だけで立体的な構造体を作製する Scaffold-free 3D Biofabrication System の開発	<u>中山功一</u>	シーエムシー出版刊 Bio Industry Vol.	31(1) pp.20-27 Jan 2014	国内
細胞だけで立体的な構造体を作製するバイオリピッドプロトタイピングシステムの開発	川勝美穂、 大嶋利之、 田中麻衣、 <u>中山功一</u>	遺伝子医学MOOK別冊	pp. 190-194 Feb, 2014	国内
バイオ 3D プリンティング技術を用いた立体的細胞構造体の作製	川勝美穂、 大嶋利之、 <u>中山功一</u>	一般社団法人 日本印刷学会 日本印刷学会誌	Vol.51 pp.18-22 2014	国内
Detection of early cartilage deterioration associated with meniscal tear using T1ρ mapping magnetic resonance imaging	Matsubara H, <u>Okazaki K</u> , Takayama Y, Osaki K, Matsuo Y, Honda H, Iwamoto Y	<i>BMJ Musculoskeletal Disorders</i>	2015 Feb,16(1):487	国外