

関節軟骨再生医療に関するガイドライン 構築に向けて

大阪保健医療大学スポーツ医科学研究所
大阪大学臨床医工学融合研究教育センター

中村 憲正

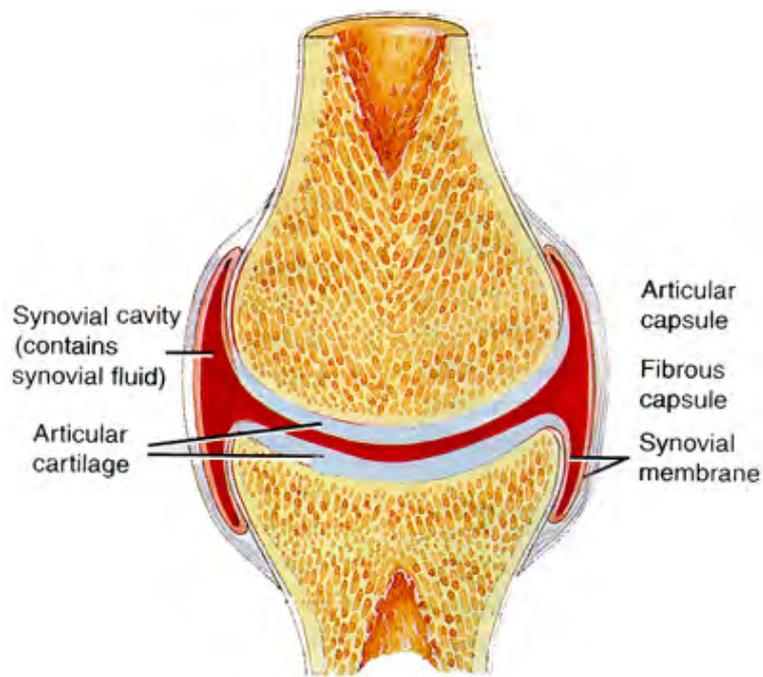


軟骨損傷

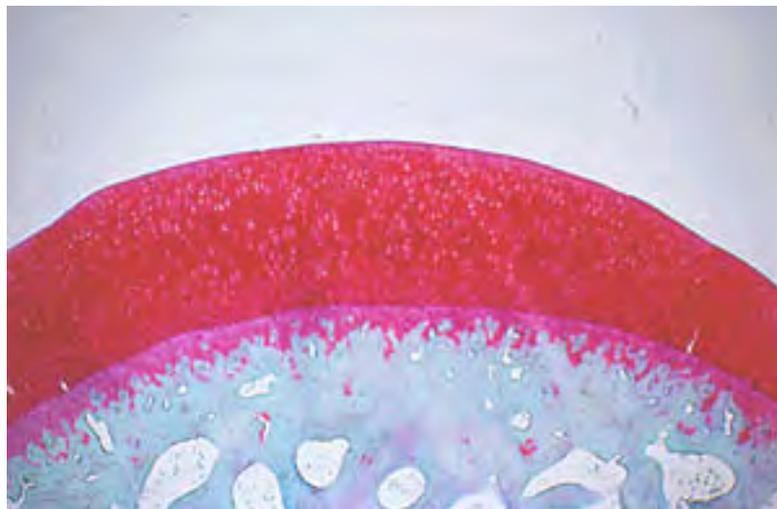


関節軟骨

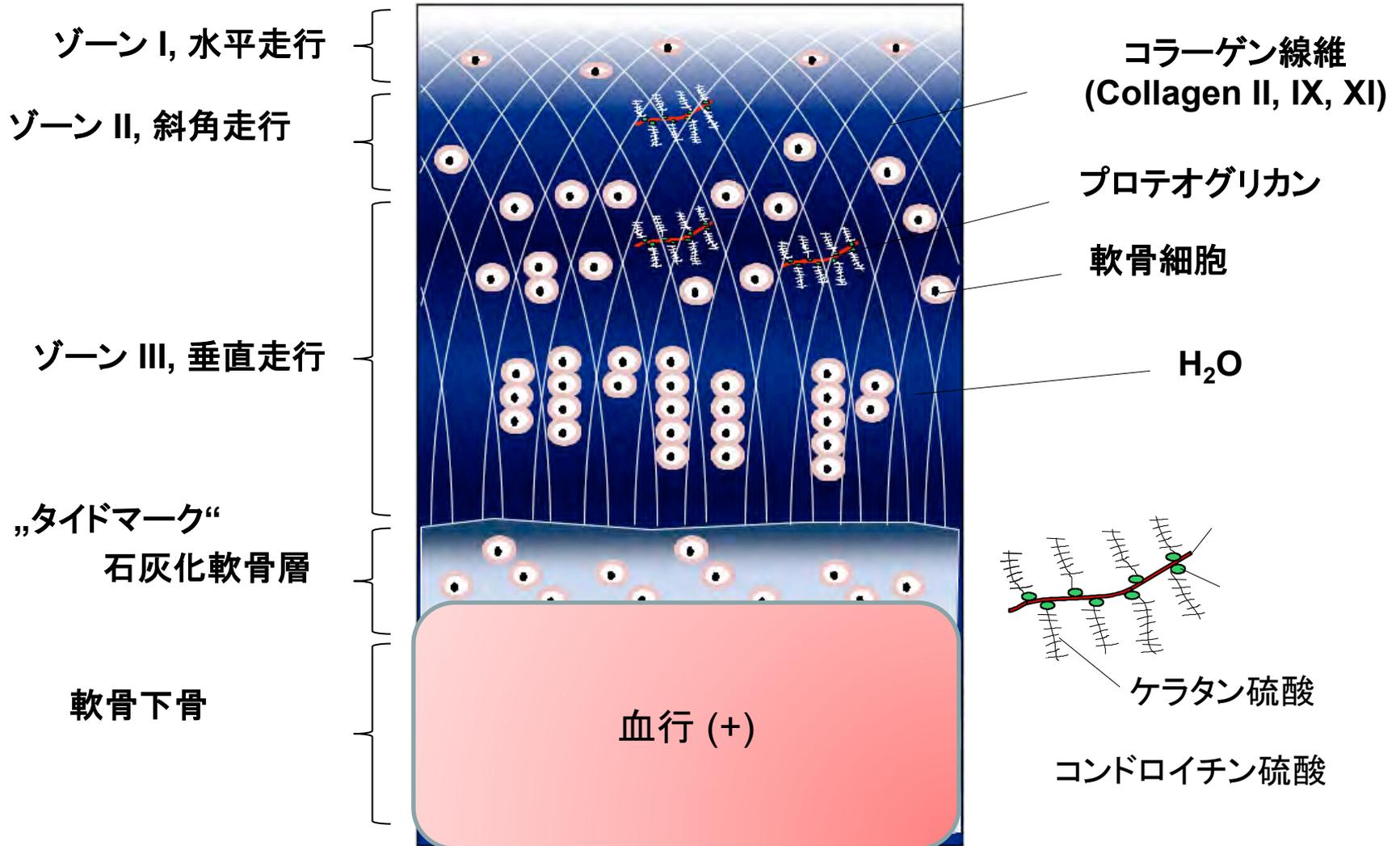
- 荷重伝播
- 衝撃吸収
- 関節滑動性の維持
- 無血管組織
乏しい修復能力



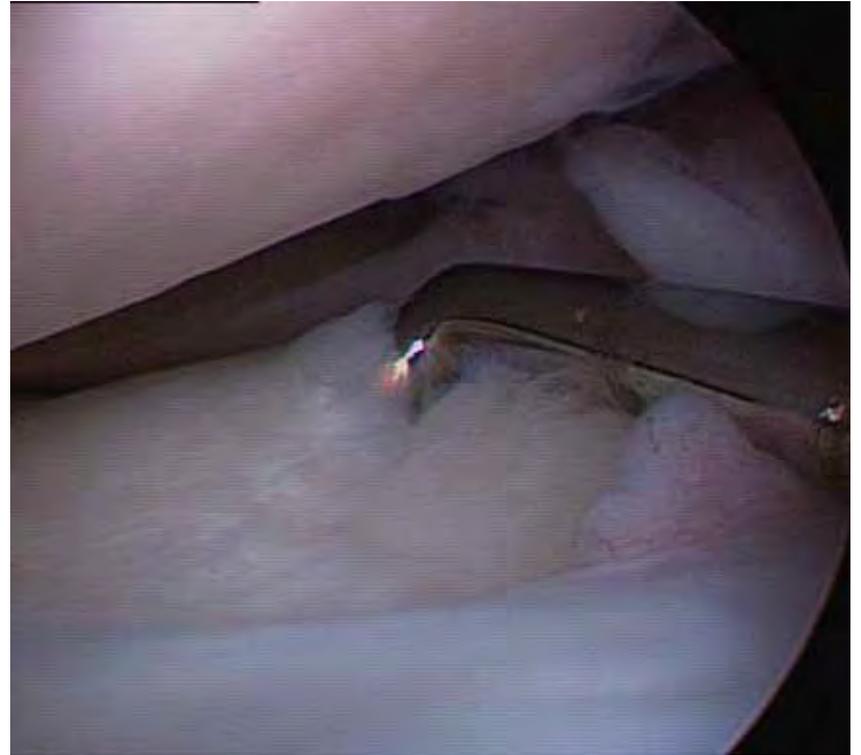
Frontal section of a generalized diarthrotic (synovial) joint



関節軟骨 -その構造-



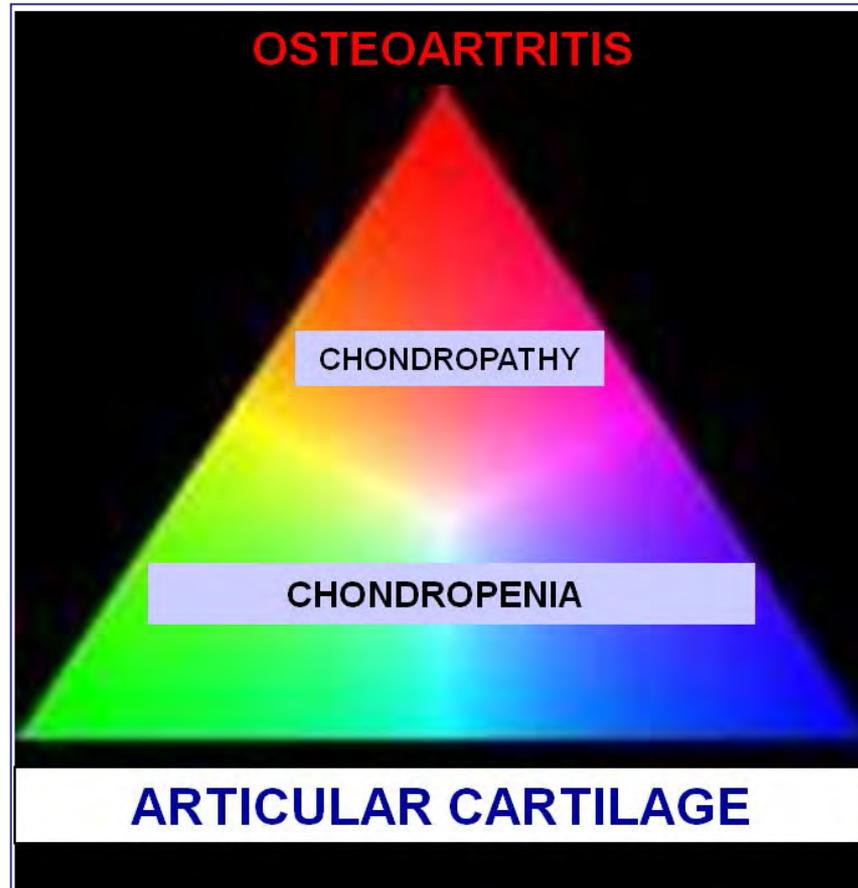
軟骨損傷



2000.11.28(@靱帯再建手術) 2002.2.19(@再鏡視時)

乏しい修復反応

軟骨病変は変形性関節症への前段階



The long-term prognosis for severe damage to weight-bearing cartilage in the knee

A 14-year clinical and radiographic follow-up in 28 young athletes

Karola Messner and Wolfgang Maletius

We examined 28 young athletes with isolated severe chondral damage in the weight-bearing area of the knee joint clinically and radiographically 14 years after arthroscopic diagnosis. Except for Pridie drilling in 3 cases and occasional cartilage shaving or removal of free bodies, no special treatment was given initially. 21 patients were able to return to pre-injury team sport activity levels. During the follow-up period, only 3 patients needed repeat surgery with

removal of free bodies, and another 2 underwent diagnostic arthroscopy because of persistent pain. At the latest follow-up evaluation, 22 patients had excellent or good knee function. At this time, the patients were mainly involved in individual sports on a physical fitness level. 12 cases had radiographic joint space reduction (< 50%) which was limited to the compartment concerned.

Department of Sports Medicine, University Hospital, S-581 85 Linköping, Sweden. Tel + 46 13-224140. Fax -224434
Submitted 95-06-24. Accepted 95-12-03

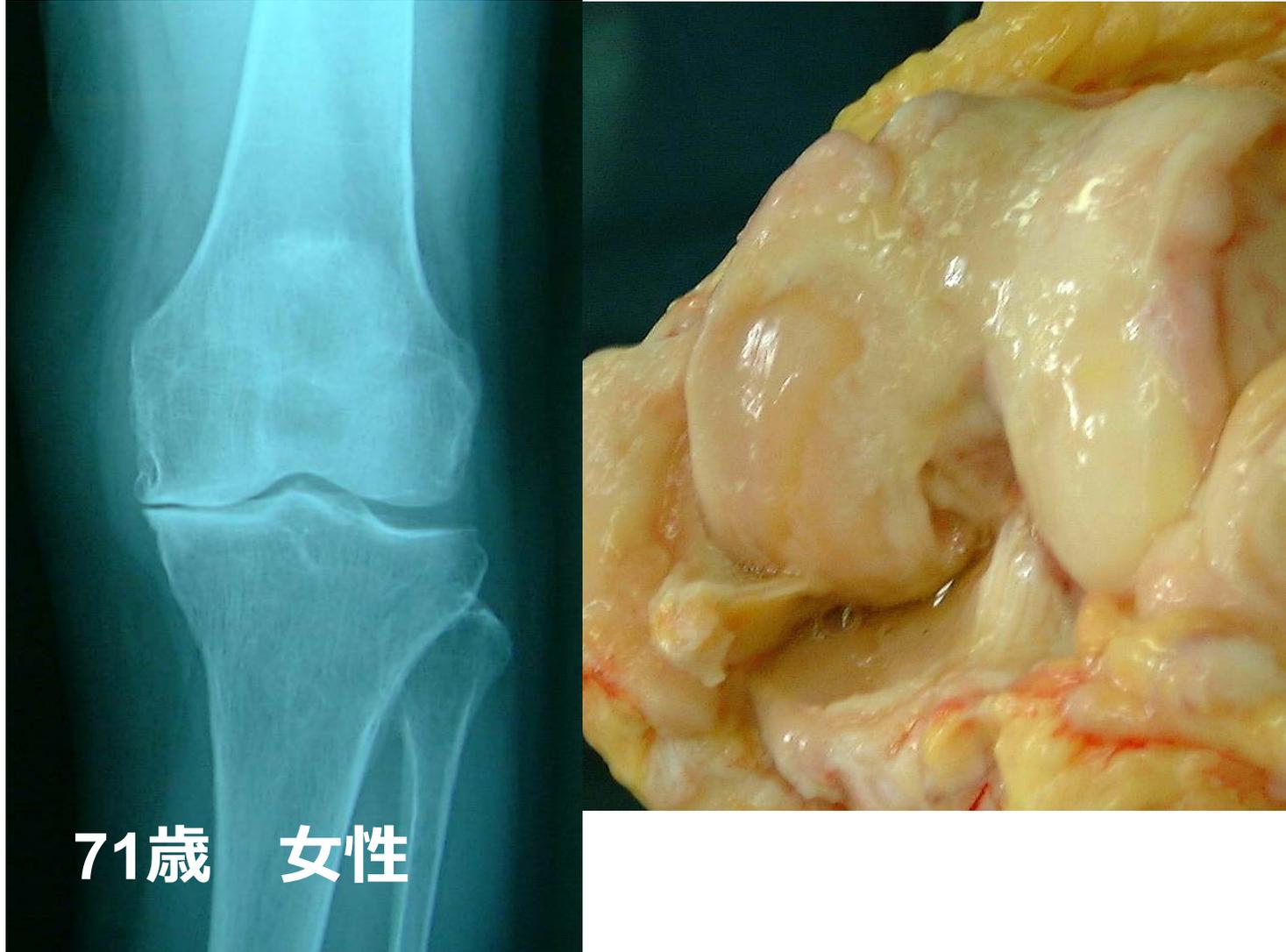
◆ 重度軟骨損傷症例の42 % は関節症変化進行

Messner K and Maletius W Acta Orthop Scand. 1996

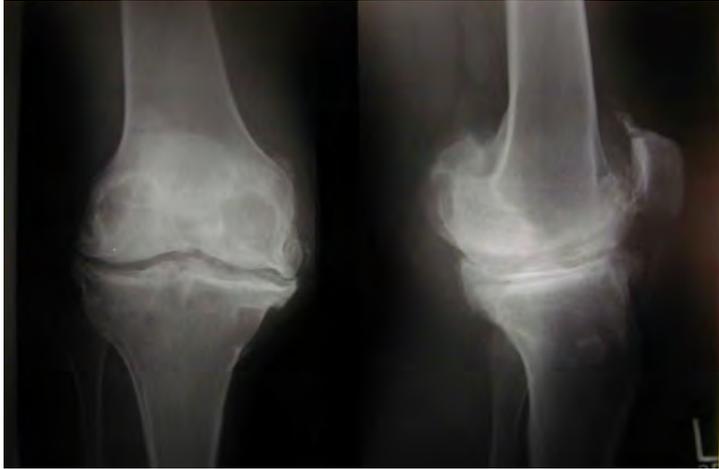
膝変形性関節症患者における 軟骨欠損の自然経過

- 117症例のMRIによる追跡
- 81% の症例で欠損部分の拡大、進行
- 年齢と軟骨下骨の状態が予後予測因子

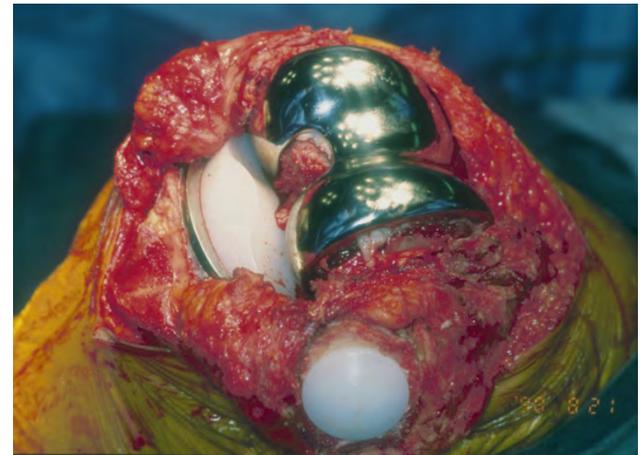
進行期變形性關節症



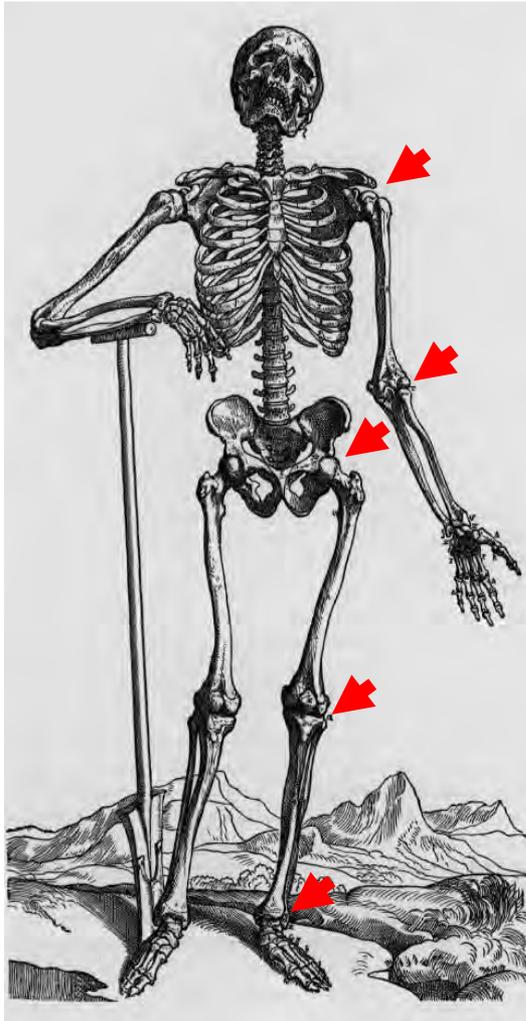
進行期変形性関節症 に対する外科的治療



人工関節による置換



人工関節置換



対象疾患

- 1) 変形性関節症
- 2) 関節リウマチ
- 3) 骨折 etc.

症例数

- 1) 股関節 4万例／年
 - 2) 膝関節 4万例／年
- 他、肩、肘、足関節など
合わせて1万例
合計 10万例程度／年
(世界では数百万人)

総医療材料コスト／年

$$100\text{万円} / \text{症例} \times 10\text{万例} / \text{年} \\ = 1000\text{億円} / \text{年}$$

予防的治療法確立の必要性



関節機能の温存

現在の軟骨修復のオプション

Dr. B. Mandelbaum . USA

間葉系幹細胞の刺激

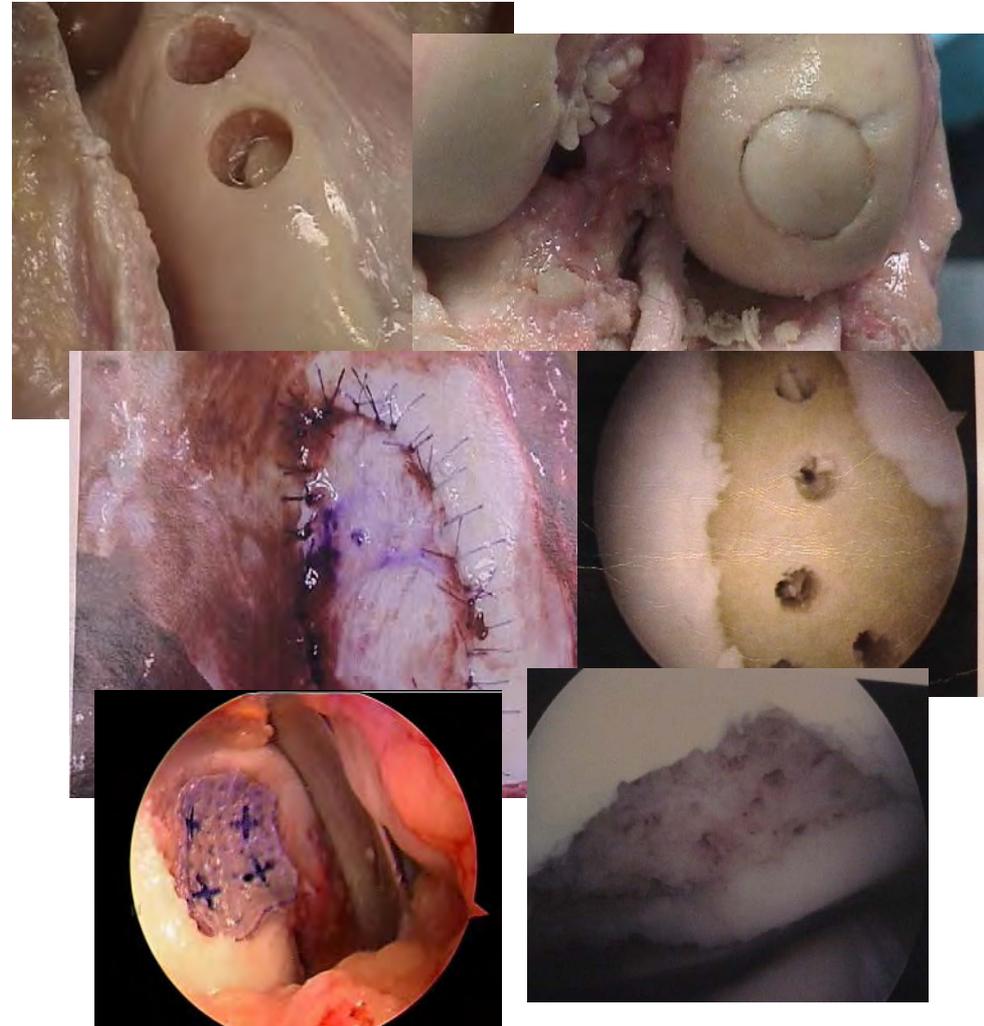
- microfracture
- Drilling
- Chitosan (Phase II Safety) Biosyntech
- Growth factors BMP-7 and 2, PDGF(preclinical)
- Geistlich Membrane (Clinical Europe)
- Stem cell + PRP+ matrix (Italy Clinical)

代替物による置換

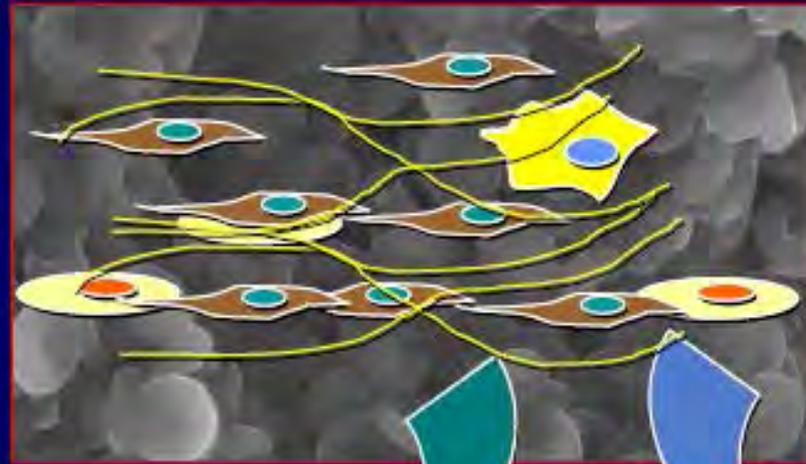
- Autograft
- allograft OCG
- OBI plugs (Clinical Europe)

細胞・生物製剤の移植

- Periosteum
- Biogide
- CAIS (USA Europe Phase II complete)
- MACI Clinical Spain, Australia, Europe)
- HA –Hyalorraft C(Clinical Europe)
- HA fibin Biocart II (Israel)
- PLA/PGA fleece (Switzerland, Germany)
- Spheroids Co. don) (Clinical Germany)
- Chondroselect (Europe Clinical)
- Allogeneic Cells (Chondrofix Zimmer)



マイクロフラクチャー（骨髄刺激法）



Stem cells
Local
Marrow Crest

Platelet Factors

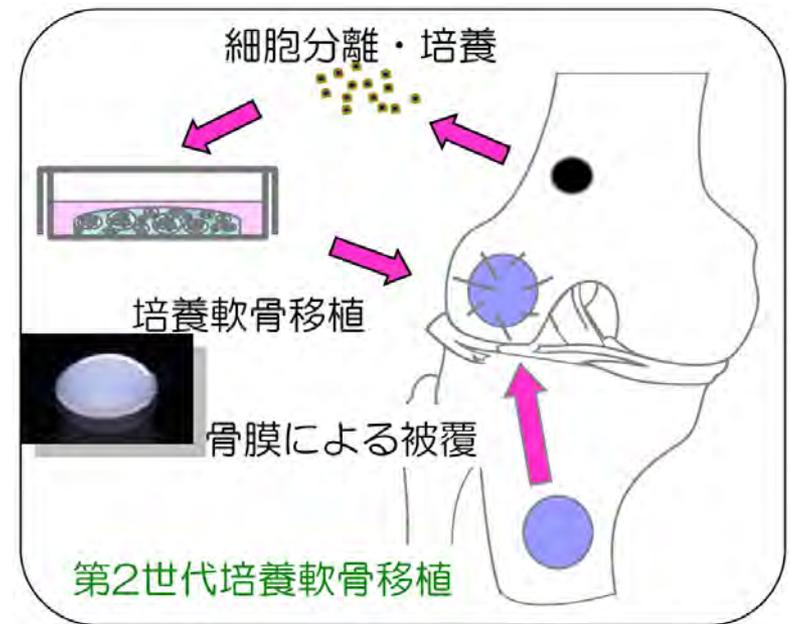
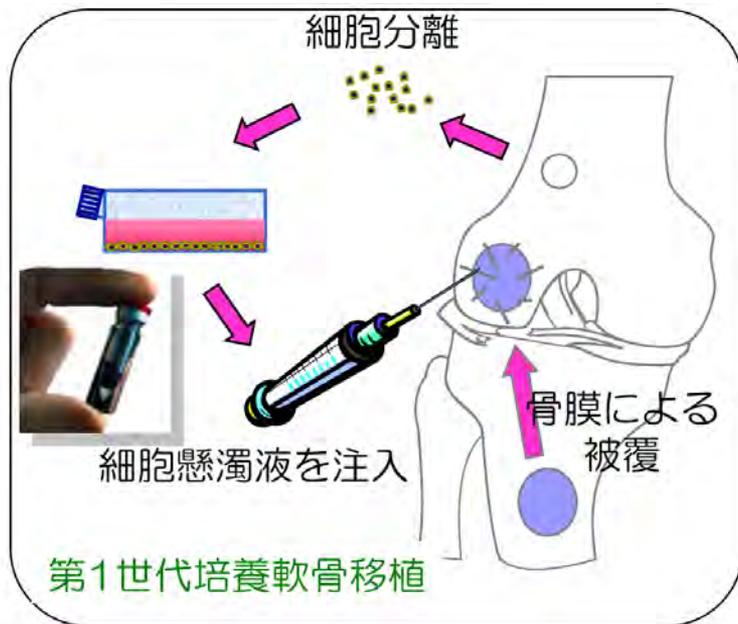
- PDGF**
- TGF I and β 2**
- IGF**
- VEGF**
- FGF**
- EGF**
- HGF**

Fibrin Fragments

自家軟骨細胞移植 (ACI)

1987- 1st generation ACI
(Lars Peterson in Sweden)

1999- 2nd generation ACI
Biodegradable polymer (scaffold) 使用



第一世代 ACI vs MF

臨床成績

- 有意差なし @ 24M, 60M

Knutsen et al, JBJS-A. 2004, 2007



- 有意差なし @ 18M

Saris et al, AJSM. 2008

- ACI が有意に優れる @ 36M

Saris et al, AJSM. 2009

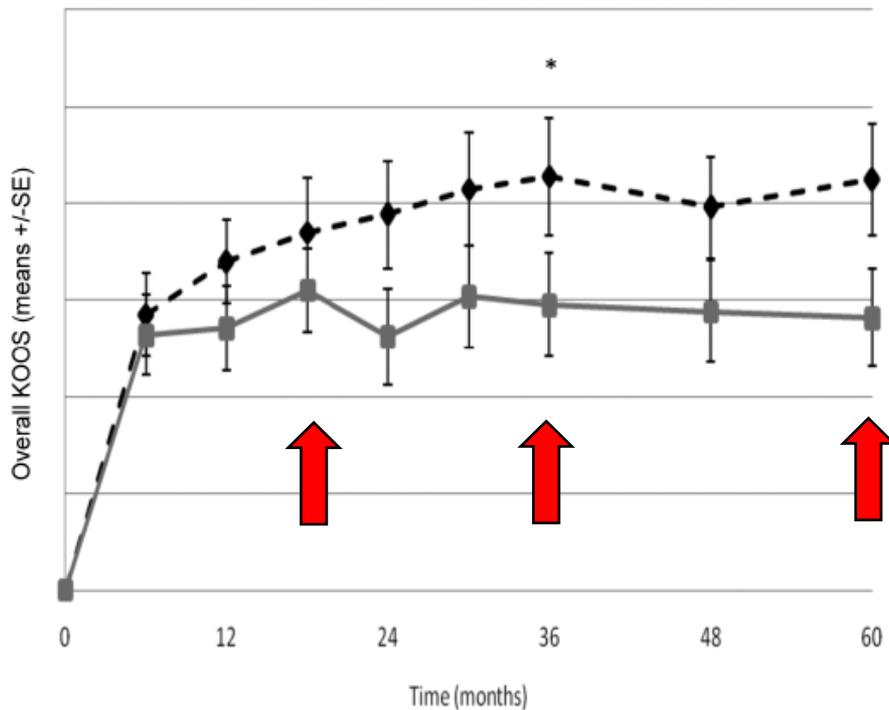
- 有意差なし @ 60M

Vanlauwe et al. AJSM. 2011



臨床成績の経時的分析

第一世代 ACI vs MFX



	p-value	
	36 months	60 months
Overall KOOS*	0.048	0.116
Pain	0.044	0.509
Symptoms & Stiffness	0.123	0.095
ADL	0.064	0.178
Sports	0.123	0.660
QoL	0.036	0.129

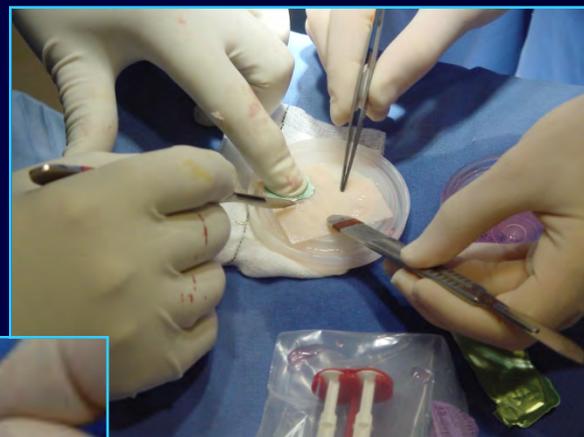
*average of all KOOS domains except Sports

Saris et al. AJSM 2008

Vanlauwe et al. AJSM 2011

Saris et al. AJSM 2009

M.A.C.I. (Genzyme)



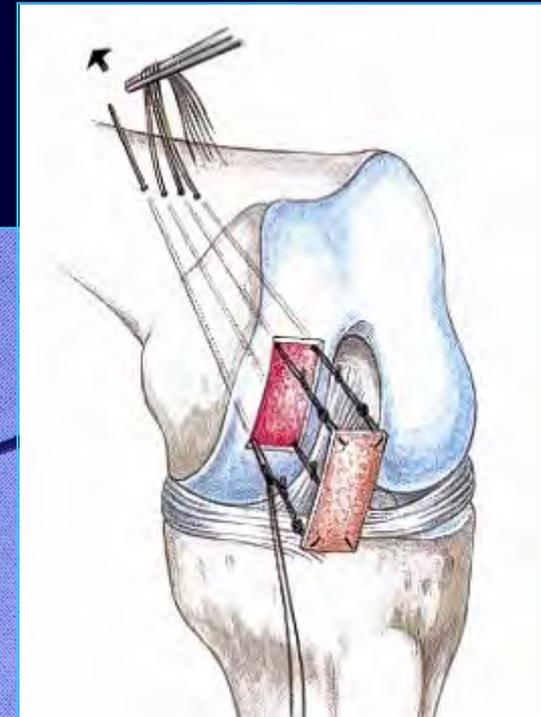
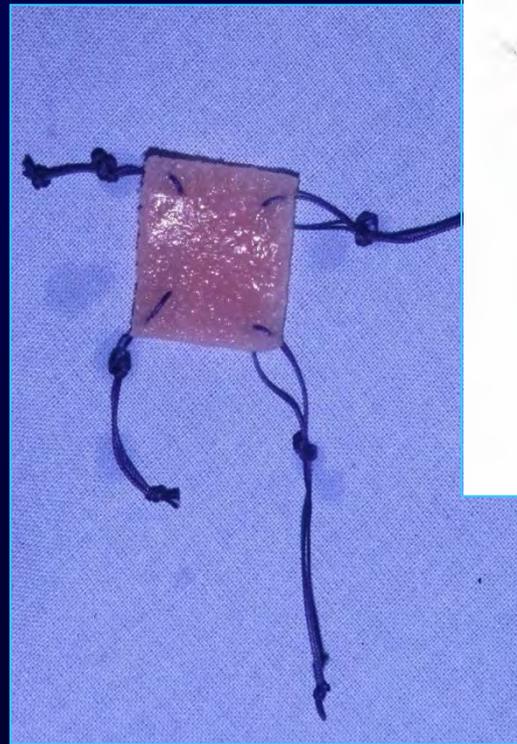
ⅧⅢ 型 ブタ
コラーゲン膜



Bioseed-C (Bio-Tissue Tech)

- 2001年より102例の臨床例
- 2年成績
 - Lysholm 48 → 78
 - KOOS QOL 29 → 51
 - Cincinnati 3.7 → 6.4

PLA/PGA フリース



Erggellet, *Arthroscopy* 2003
Ossendorf, *Arthritis Res Ter*, 2006

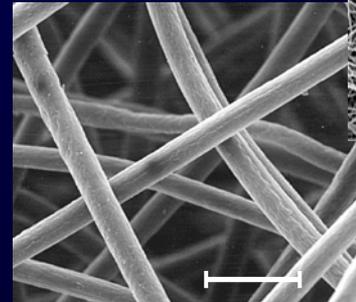
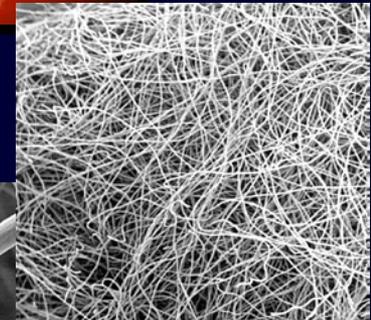
Hyalograft C (Fidia)

Hyaff-11 ヒアルロン酸ポリマー

– ヒアルロン酸スキャフォールド

- 編みこみなしの 3D 構造
- 200 μm 幅の線維

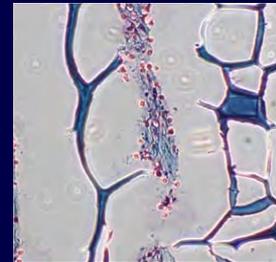
– 2週間の3次元培養



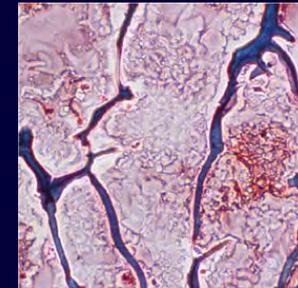
1999年より欧州で4000例の臨床例

NeoCart (*Histogenics*)

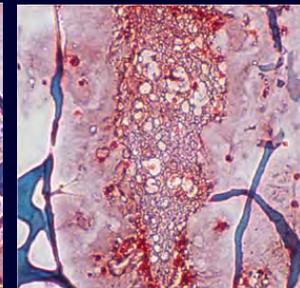
- FDA Status
- 第III相試験を2011年に開始



Day 0



0 MPa



0.5 MPa
(NeoCart)



Courtesy from B. Cole

NeoCart, an Autologous Cartilage Tissue Implant, Compared with Microfracture for Treatment of Distal Femoral Cartilage Lesions

An FDA Phase-II Prospective, Randomized Clinical Trial After Two Years

Dennis C. Crawford, MD, PhD, Thomas M. DeBerardino, MD, and Riley J. Williams III, MD

Investigation performed at Oregon Health and Science Center, Portland, Oregon; Keller Army Community Hospital, West Point, New York; Duke Sports Medicine Center, Durham North Carolina; University of California, San Francisco California; TRIA Orthopaedic Center, Bloomington, Minnesota; and the Hospital for Special Surgery, New York, NY

ACI グループがMF グループに比して有意に優れた
回復 (2年フォロー研究)

ACI の問題点

- 正常軟骨をsacrificeする 手術が2回必要
- 得られる細胞数が限られる(増殖能が乏しい)
- 平面培養では、継代に伴うphenotypeの変化(脱分化)
- Donor siteの年齢による変性
 - 中高齢では十分な細胞の確保は困難

再生医療(幹細胞治療)への期待

THE NEW ERA OF REGENERATIVE MEDICINE

Dozens of biotech companies and university labs are developing ways to replace or regenerate failed body parts. Here are a few of the projects:



BONE

Bone-growth factors or stem cells are inserted into a porous material cut to a specific shape, creating new jaws or limbs. A product that creates shinbones is in clinical trials.

COMPANIES: Creative Biomolecules, Orquest, Sulzer Orthopedics Biologics, Genetics Institute, Osiris Therapeutics, Regeneron.



SKIN

Organogenesis' Apligraf, a human-skin equivalent, is the first engineered body part to win FDA approval, initially for leg ulcers. Other skins are in the works for foot ulcers and burns.

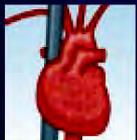
COMPANIES: Organogenesis, Ad-advanced Tissue Sciences, Integra LifeSciences, LifeCell, Ortec International.



PANCREAS

Insulin-manufacturing cells are harvested from pigs, encapsulated in membranes, and injected into the abdomen. The method has been tested in animals and could be in human trials in two years.

COMPANIES: BioHybrid Technologies, Neocrin, Circe Biomedical



HEART VALVES, ARTERIES, AND VEINS

A 10-year initiative to build a heart has just started. Genetically engineered proteins have been successfully used to regrow blood vessels.

COMPANIES: Organogenesis, Advanced Tissue Sciences, Genentech, LifeCell, Reprogenesis.



SALIVA GLANDS

Proteins called aquaporins that allow cells to secrete water are used to recreate saliva glands damaged by disease or radiation. Glands are also being engineered to secrete healing drugs. The technique has proven successful in mice.

COMPANIES: None yet.



URINARY TRACT

Cartilage cells are taken from the patient, packed into a tiny matrix, and injected into the weakened ureter, where they bulk up the tissue walls to prevent urinary backup and incontinence. The method is in late-phase clinical trials.

COMPANIES: Reprogenesis, Integra LifeSciences.



BLADDER

Doctors at Children's Hospital in Boston have grown bladders from skin cells and implanted them in sheep.

They are about to try the same process on a patient

COMPANIES: Reprogenesis.



CARTILAGE

A product is already on the market that regrows knee cartilage. A chest has been grown for a boy and a human

ear on a mouse.

COMPANIES: Genzyme Tissue, Biomatrix, Integra LifeSciences, Advanced Tissue Sciences, ReGen Biologics, Osiris Therapeutics



TEETH

Enamel matrix proteins are used to fill cavities. It works in dogs; human trials are a few years away.

COMPANIES: Biora, Atrix Laboratories, Creative BioMolecules.



BREAST

In preclinical studies, several companies have been able to create a cosmetic nipple by inserting a ball of cartilage. Researchers are now trying to grow a whole cosmetic breast.

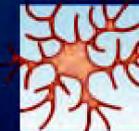
COMPANIES: Reprogenesis, Integra LifeSciences.



LIVER

A spongy membrane is built up and then seeded with liver cells. Organs the size of a dime have been grown, but a full-size liver could take 10 years due to its complexity.

COMPANIES: Advanced Tissue Sciences, Human Organ Sciences, Organogenesis.

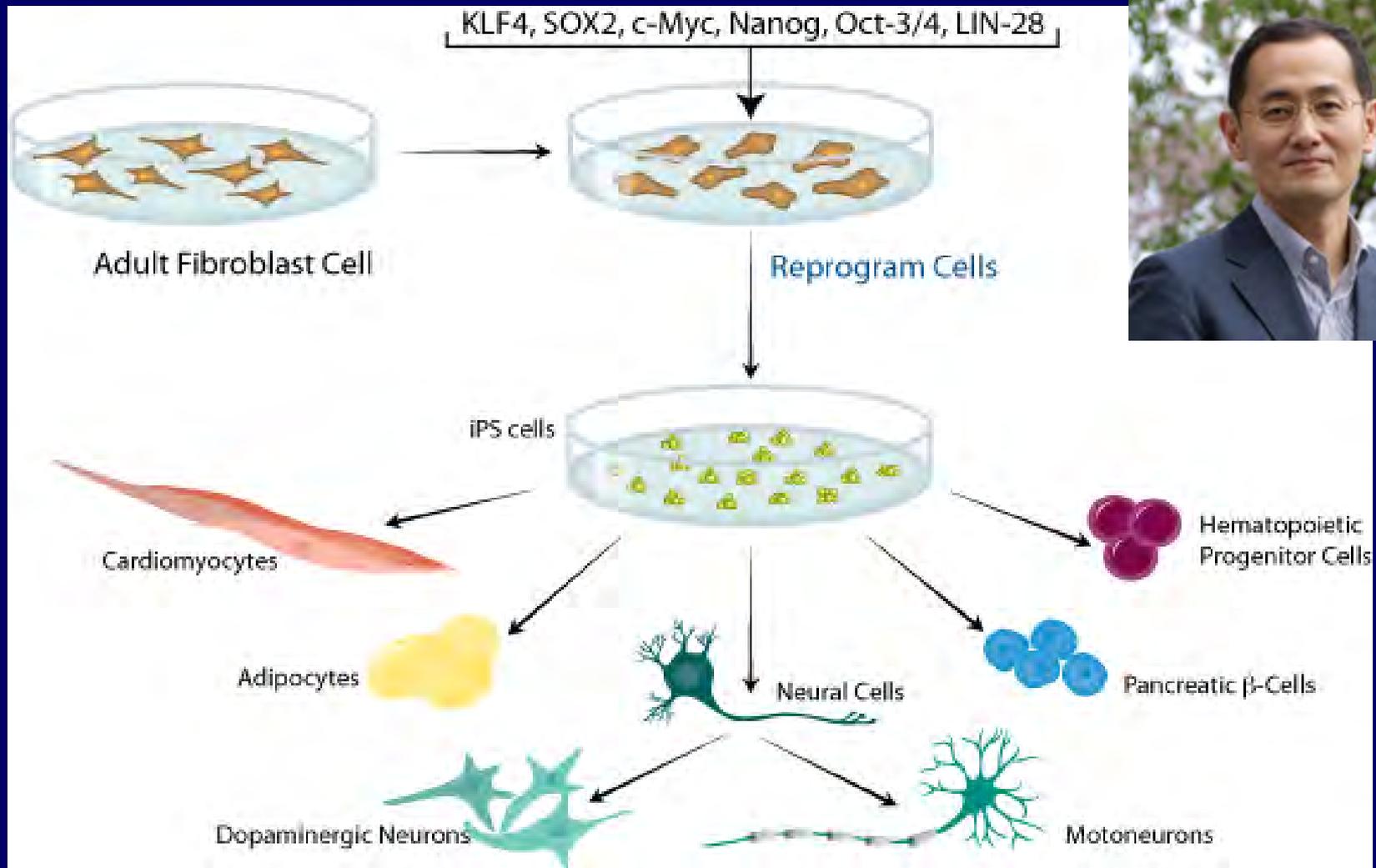


SPINAL CORD NERVES

Scientists are investigating nerve-growth factors, injecting them at the site of damage to encourage regeneration or seeding them along biodegradable filaments and implanting them. Rats have been made to walk again.

COMPANIES: Acorda, Regeneron, CytoTherapeutics, Guilford Pharmaceuticals.

Induced Pluripotent Stem Cells (iPS cells)



Yamanaka S et al. Cell 2006
2012 Nobel Prize in Medicine

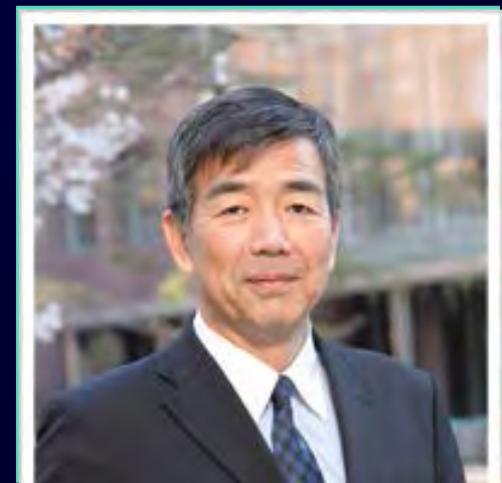
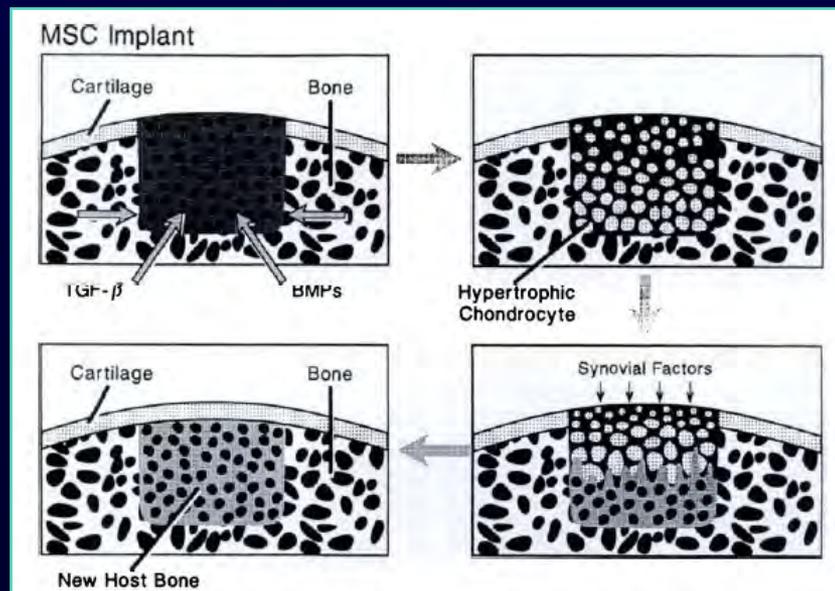
Bone Marrow Derived-MSCs in Cartilage Repair

Copyright 1994 by *The Journal of Bone and Joint Surgery, Incorporated*

Mesenchymal Cell-Based Repair of Large, Full-Thickness Defects of Articular Cartilage*

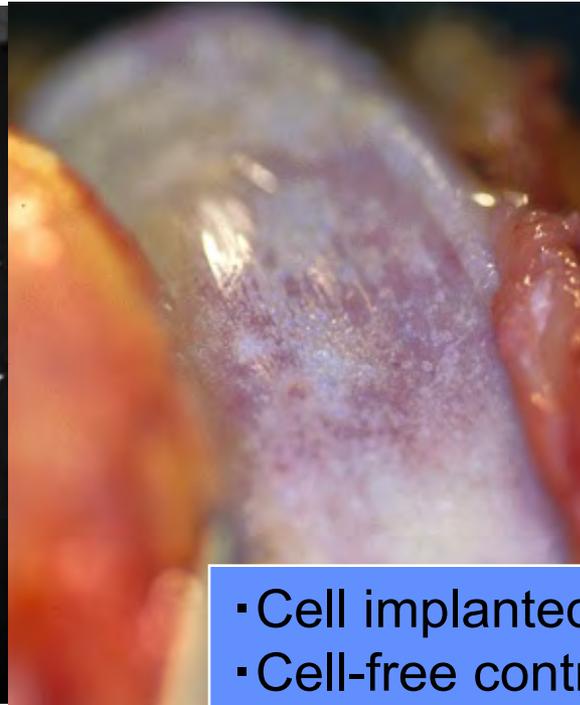
BY SHIGEYUKI WAKITANI, M.D.†, TATSUHIKO GOTO, M.D.‡, STEPHEN J. PINEDA, M.D.§, RANDELL G. YOUNG, D.V.M.¶,
JOSEPH M. MANSOUR, PH.D.#, ARNOLD I. CAPLAN, PH.D.¶, AND VICTOR M. GOLDBERG, M.D.§, CLEVELAND, OHIO

*Investigation performed at the Department of Orthopaedics, Case Western Reserve University School of Medicine,
University Hospitals of Cleveland, and the Skeletal Research Center, Department of Biology,
and the Department of Mechanical and Aerospace Engineering, Case Western Reserve University, Cleveland*





High tibial osteotomy



- 24 patients, 15 female 9 male
- Average age at surgery, 63
- medial unicompartamental OA

- Cell implanted group 12 knees
- Cell-free control group 12 knees



eburnation



abrasion



gel

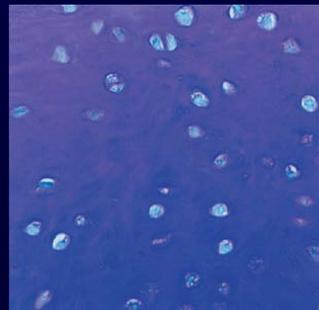
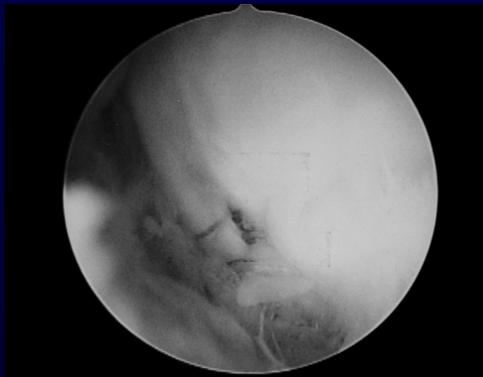


periosteum

Clinical study using Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells (BMMSC)

HTO+BMMSCs(+) vs HTO+BMMSCs(-)

- Clinical evaluations: No significant @ 16M
- Arthroscopic & Histological grading: MSCs therapy was better @ 10M



MSC(+) @40weeks



MSC(-) @43weeks

• There was no significant difference in the clinical scores of middle follow-up period (63 months).

No.	date of surgery	Patient	Joint	Desease	YO	last follow	endpoint	months
1	Jan-98	ORH1	K	CD	26	Jun-09		137
2	Apr-98	OMMC1	K	OA	71	Apr-09		
3	May-98	OMMC2-1	K(rt)	OA	69	Jun-09		
4	Jun-98	OMMC3	K	OA	68	Jun-09		
5	Jun-98	OMMC4	K	OA	54	Jun-09		
6	Jul-98	OMMC5	K	OA	74	Jan-01	TKR	
7	Aug-98	OMMC6	K	OA	64	Jun-09		
8	Sep-98	OMMC7	K	OA	62	Jun-08	TKR	
9	Sep-98	OMMC8	K	OA	67	Feb-02	dead	
10	Oct-98	OMMC9	K	OA	65	May-00	lost	
11	Nov-98	OMMC10	K	OA	66	Aug-07	lost	
12	Nov-98	OMMC11	K	OA	68	Sep-02	TKR	
13	Feb-99	OMMC12	K	OA	70	Mar-09		
14	May-99	OMMC13	K	OA	65	Mar-09		
15	Aug-99	OMMC14-1	K(lt)	OA	65	Jun-09		
16	Oct-99	OMMC15	K	OA	55	Jun-09		116
17	Nov-99	ORH2	K	CD	44	Jun-09		115
18	Dec-99	OMMC2-2	K(lt)	OA	70	Jun-09		114
19	May-00	OMMC14-2	K(rt)	OA	66	Jun-09		109
20	Jun-00	OMMC16	K	OA	49	Jun-09		108
21	Jul-00	OMMC17	K	OA	54	Apr-09		105
22	Sep-00	OMMC18	K	OA	52	Oct-02	TKR	25
23	Oct-00	OMMC19	K	OA	60	Mar-05	dead	53
24	Oct-00	OMMC20	K	OA	67	Feb-07	dead	76
25	Oct-00	OMMC21	K	OA	66	Jul-07	TKR	81
26	Dec-00	OMMC22	K	OA	64	Jul-09		103
27	Feb-03	NMU1	A	CD	42	Feb-09		72
28	Dec-03	SU1	E	CD	13	May-09		65
29	May-04	SU2-1	K(lt)	CD	31	Jun-09		61
30	Jun-04	SU3	H	OA	38	Jun-09		60
31	Jul-04	SU4	K	OA	50	May-09		58
32	Oct-04	KU	K	CD	31	Jul-09		57
33	Dec-04	SU2-2	K(rt)	CD	31	Jun-09		54
34	Feb-05	SU5	E	CD	14	Apr-09		50
35	Feb-05	SU6	K(bil)	CD	42	Jun-09		52
36	Apr-05	SU7	K	CD	45	May-09		49
37	Aug-05	SU8	E	CD	14	May-09		45
38	May-06	NMU2	K	CD	23	Dec-07		19
39	Jun-06	NMU3	K	CD	25	May-08		23
40	Aug-06	SU9	E	CD	13	May-09		33
41	Aug-06	NMU4	K	CD	63	Sep-08		25
42	Dec-06	HCM	K	CD	39	Jun-09		30
43	May-07	NMU5	K	CD	27	Dec-08		19
44	Nov-08	NMU6	K	CD	40	Apr-09		5
mean					50			74.8

Neither tumor nor infection were observed between 5 and 137 months of follow-up. From this result, Wakitani concluded that autologous MSC transplantation is a safe procedure.

ORH; Osaka Rosai Hospital
OMMC; National Hospital Organization
Osaka Minami Medical Center

NMU; Nara Medical University
SU; Shinshu University
KU; Kobe University
HCM; Hyogo College of Medicine

OA; osteoarthritis
CD; cartilage defect
TKA; total knee arthroplasty

Wakitani S. et al.
J Tissue Engen Regen Med 2010

骨髄間葉系幹細胞を用いた臨床研究

ACI vs 骨髄MSC移植

- 臨床成績 (SF-36, IKDC, Lysholm, Tegner)
- 組織所見
→ 有意差なし@ 24M

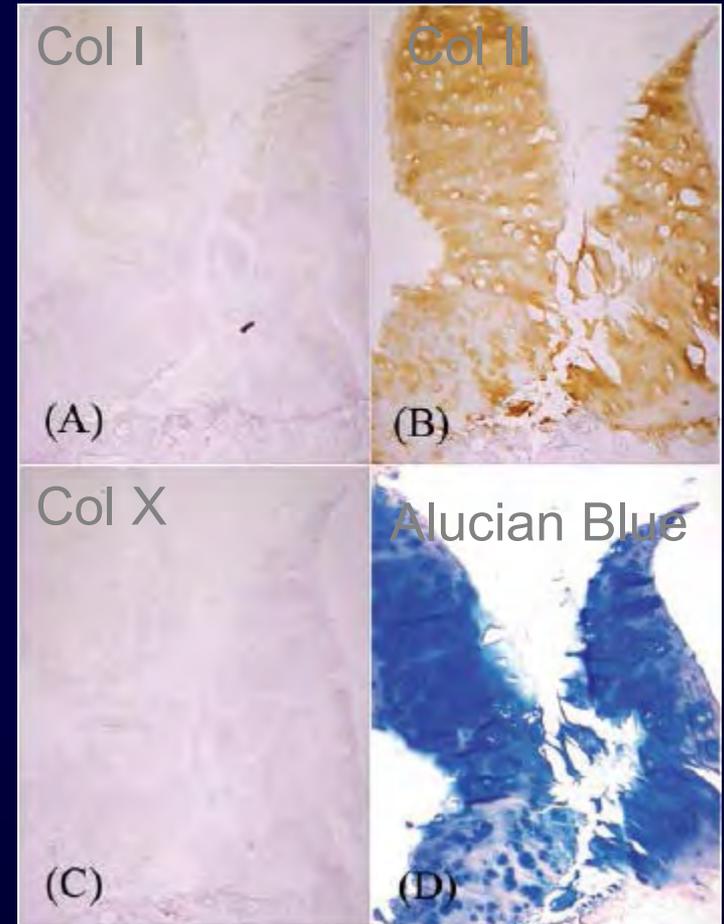
臨床成績に有意差なし

骨髄MSC移植による
修復軟骨組織像

Effect of Cell Type, Time, and Gender on IKDC,
Lysholm, and Tegner Outcomes^a

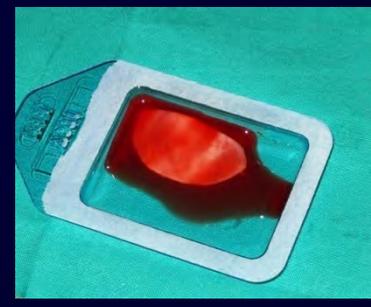
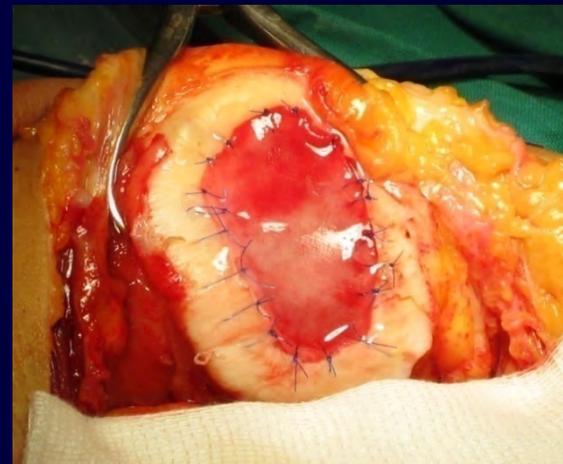
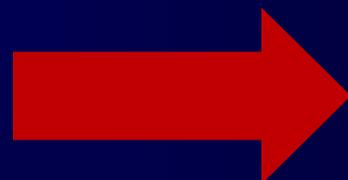
Outcome/Parameter	Estimate	95%	
		Confidence Interval	P Value
IKDC			
Cell type	-0.46	-5.61 to 4.69	.861
Time, years	1.08	0.90 to 1.25	<.001
Sex	-6.03	-11.18 to -0.88	.022
Lysholm			
Cell type	-1.16	-5.83 to 3.52	.627
Time, years	0.79	0.63 to 0.95	<.001
Sex	-6.44	-11.17 to -1.71	.008
Tegner			
Cell type	0.25	-0.13 to 0.64	.200
Time, years	0.06	0.05 to 0.07	<.001
Sex	-0.55	-0.98 to -0.13	.011

^aIKDC, International Knee Documentation Committee.



骨髄MSC移植はACIと同等に有効であるが、手術が1回少ない、費用がかからない、自己軟骨組織を犠牲にしない等の有利な点がある

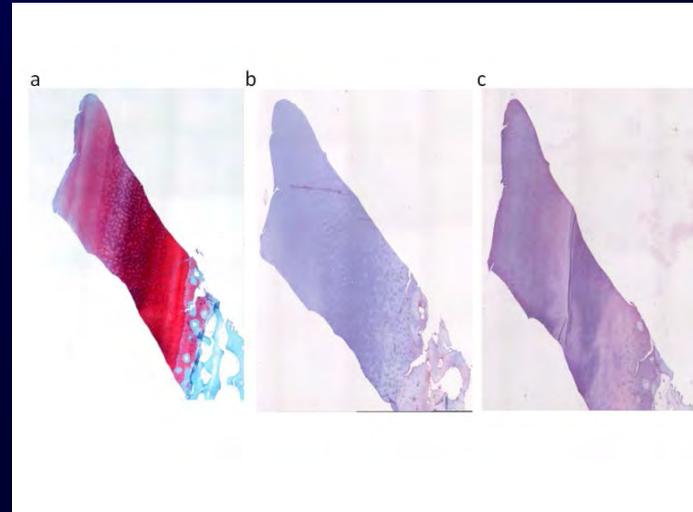
骨髓細胞と濃縮血小板含有血漿ゲルによる 軟骨修復



Gobbi A et al. Cartilage 2011



モトクロスドライバー 1年成績



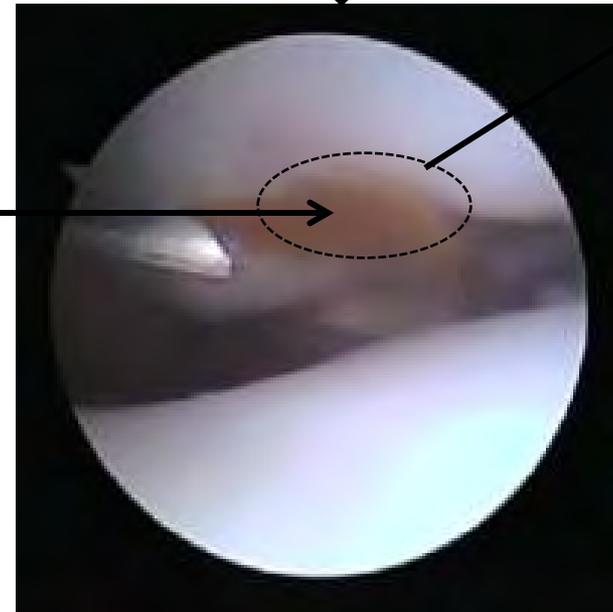
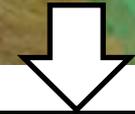
Second look @ 12 months

Histology

Magnetic field assisted local delivery of bone marrow derived –stem cells to chondral lesions



External magnetic device



Chondral defect

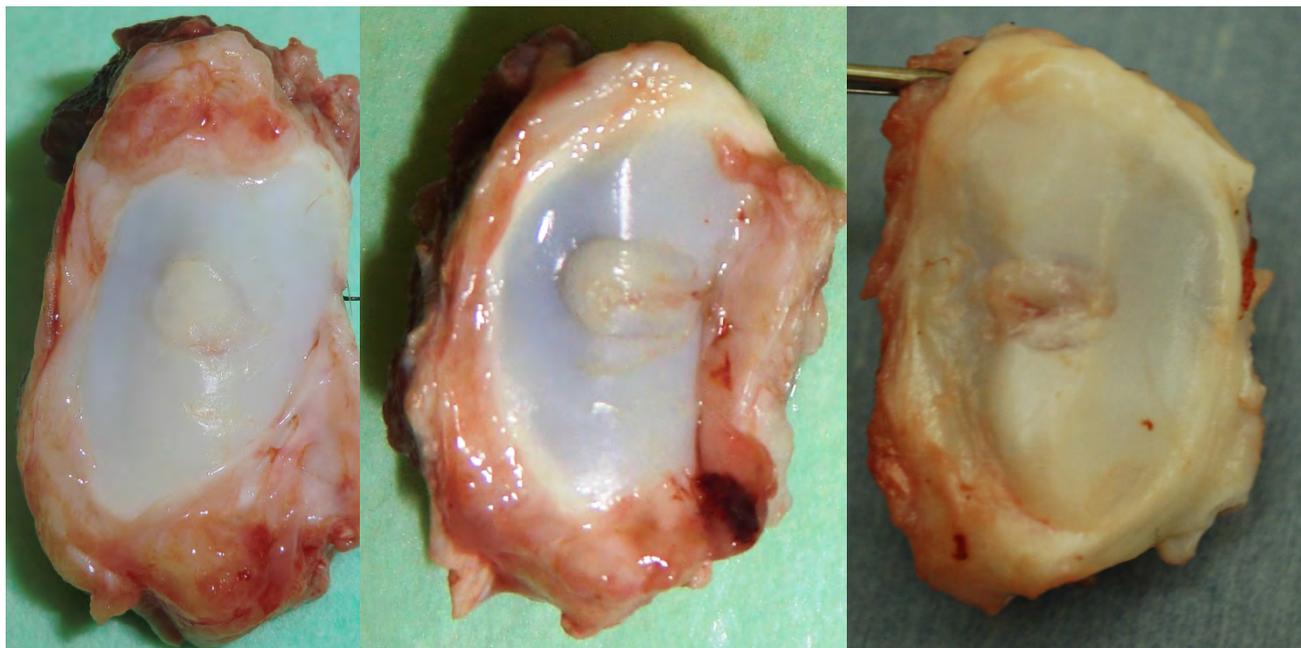
Brown:
MSC with
Magnetic beads



Mitsuo Ochi,
Hiroshima University

Arthroscopic view

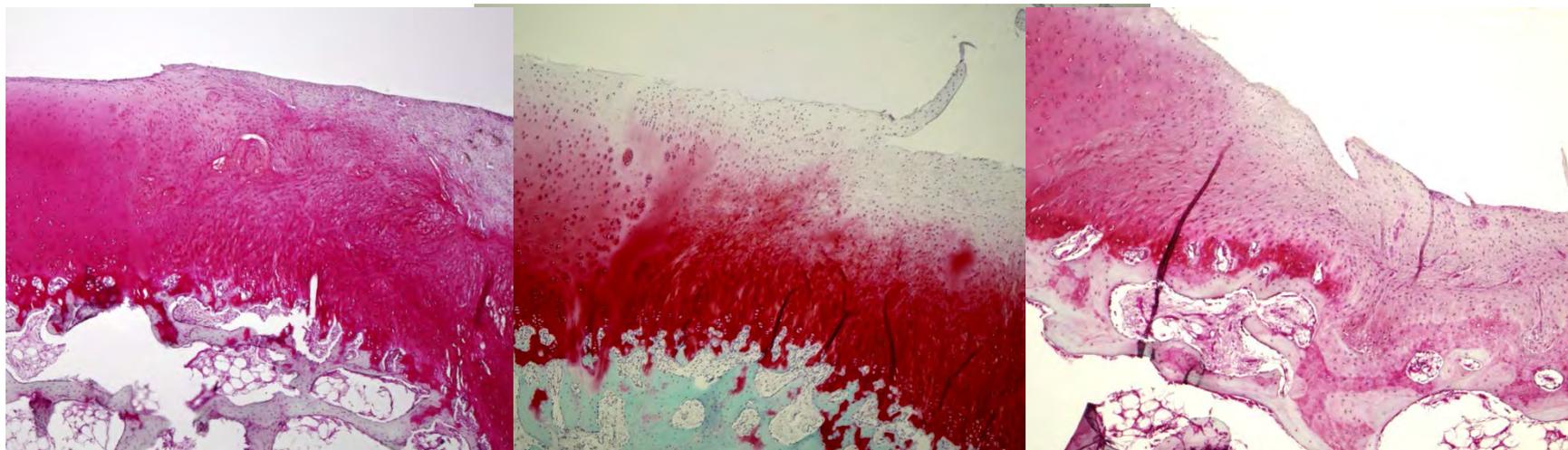
Cartilage regeneration: 12 weeks (mini-pig)



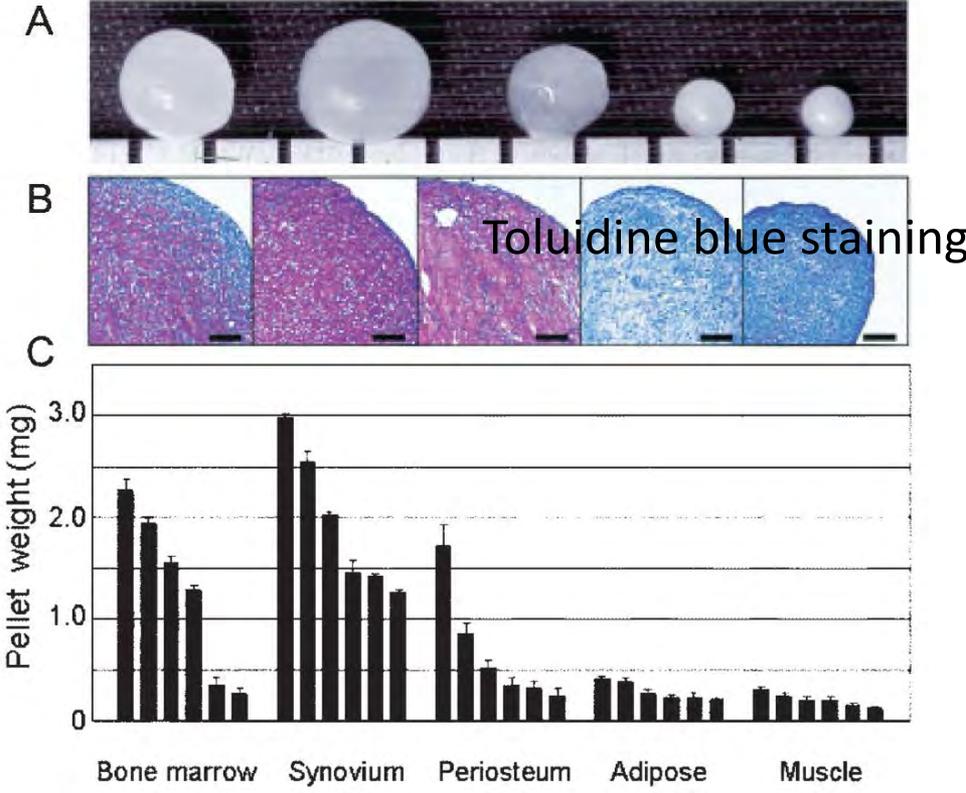
mMSCs + magnet

MSC

PBS



Synovial MSCs



Synovium-derived cells have the superior capacity for chondrogenesis.

Sakaguchi Y, Sekiya I, et al. Arthritis Rheum 2005.

Arthroscopic transplantation of synovial MSCs for cartilage defect

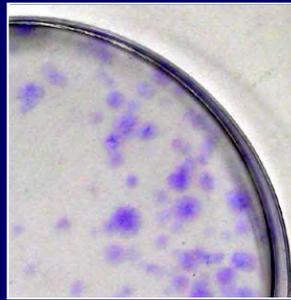
Tokyo Medical and Dental University
Ichiro Sekiya
Takeshi Muneta



Synovium collection



Digestion



Expansion with autologous serum for 14 days



Cell transplantation

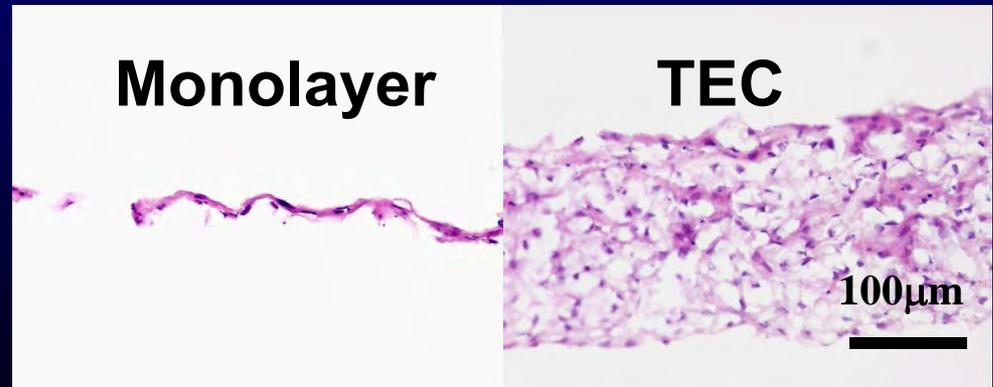
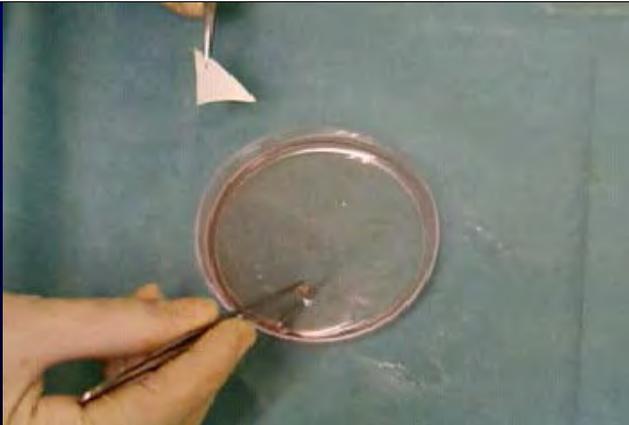
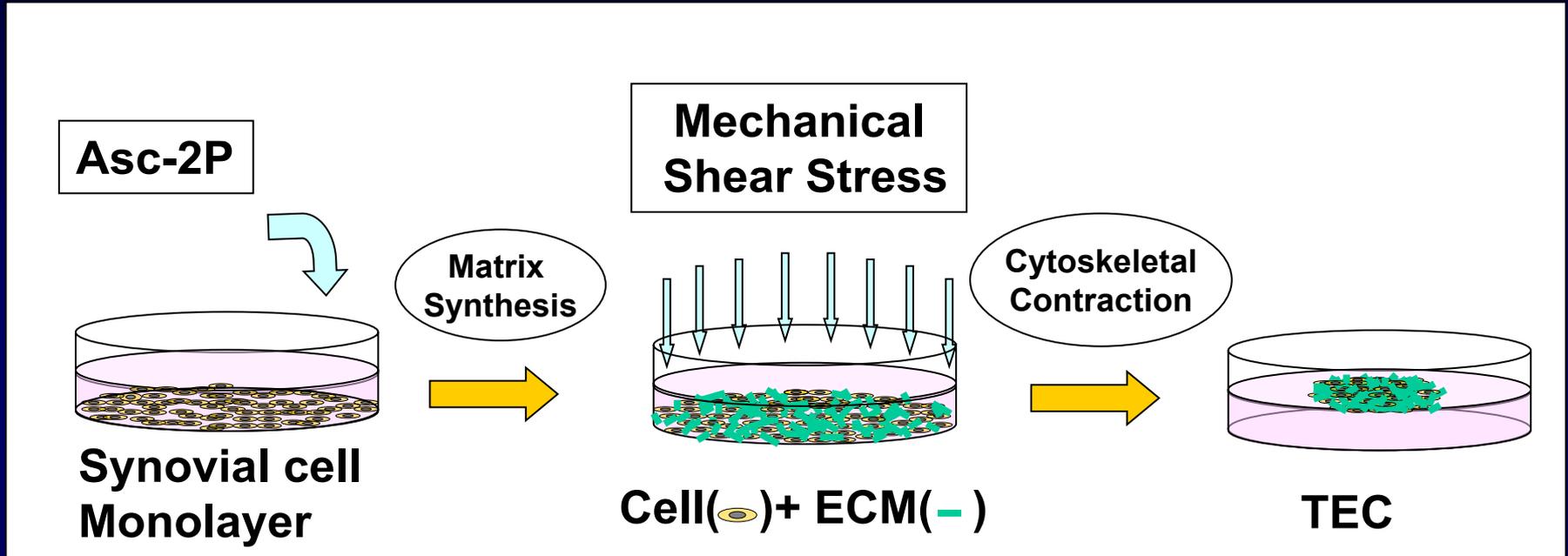


Before



1 year

Development of 3D Scaffold-Free Tissue Engineered Construct (TEC)



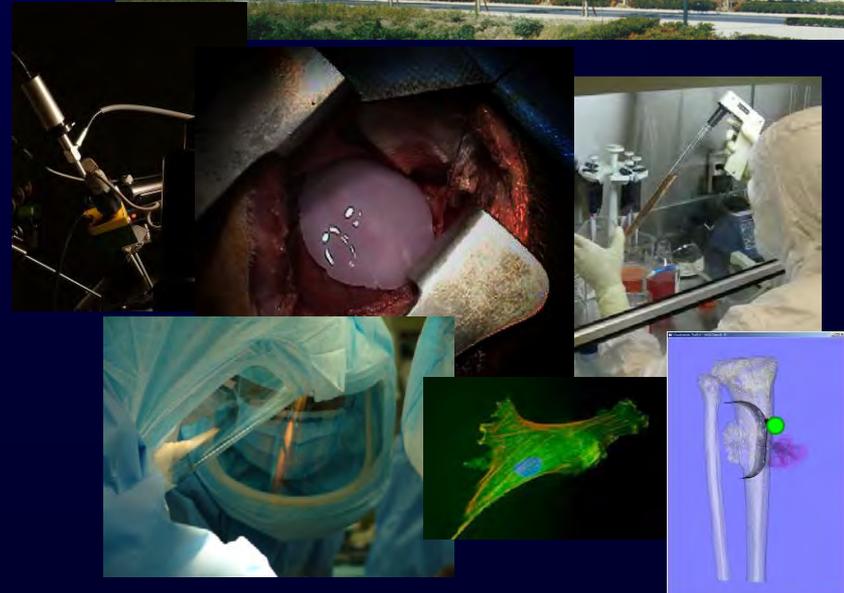


Medical center for Translational Research
Osaka University Hospital

In 2003, MTR was established in Osaka University Hospital as a translational research center for the future medical technology.

MTR's activity

- Translational Research
 - Regenerative Medicine, Cell therapy, Robotics Surgery, Surgical Assistance System, Surgery Training System, New Diagnostic Imaging
- CPC Operation
- Future Medical Technology
 - Basic Research on stem cells and biomaterials
 - Introduction of IT to Surgical Suites
- Physician-oriented Clinical Trial
- Education / Human Resource Development
- Patent Counseling, Intellectual Property Strategy



TECによる難治性軟骨損傷の治療 臨床試験

2006年6月16日 大阪大学医学倫理委員会承認

2006年6月27日 大阪大学未来医療センター
審査評価委員会承認

2007年—10年 臨床試験プロトコル修正

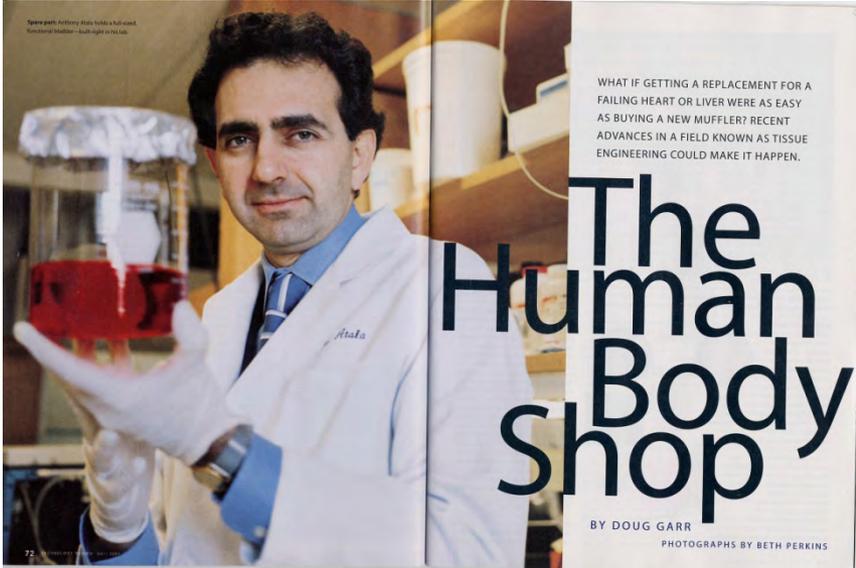
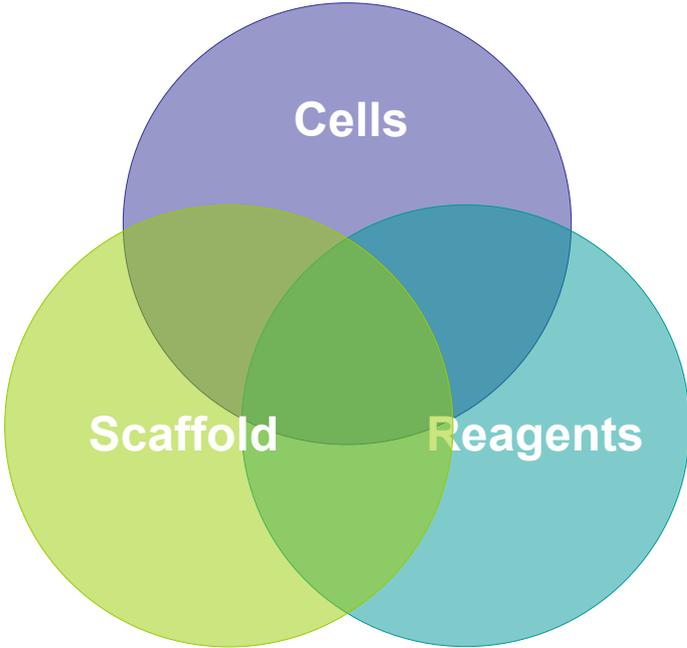
2011年 7月 厚生科学審議会科学技術部会
ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会に申請

2012年 2月 厚生労働大臣により承認

2013年 3月 第1症例治療開始

2013年 5月 第2症例治療開始

Key Elements for Successful Stem Cell Therapy



間葉系幹細胞(Mesenchymal Stem Cell; MSC) の存在する組織

骨髓

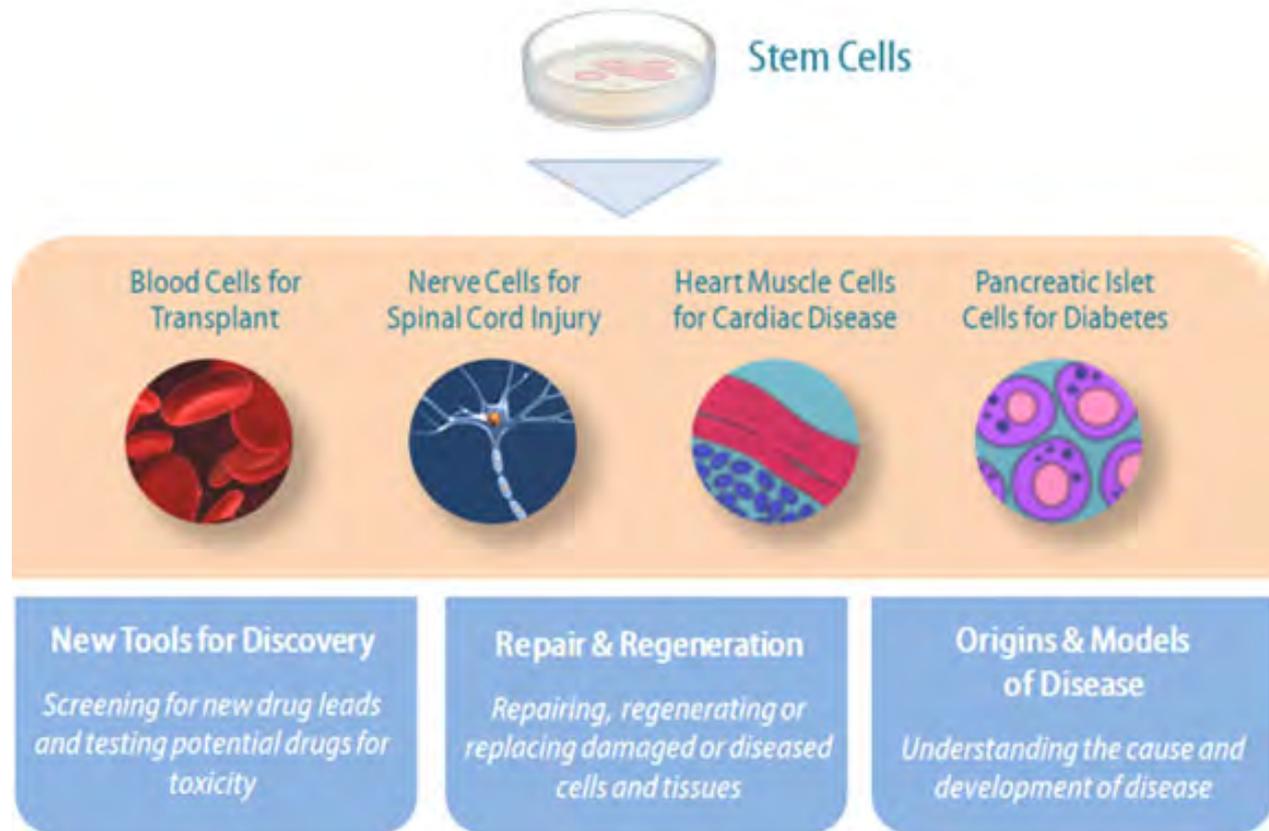
筋肉

滑膜

腱

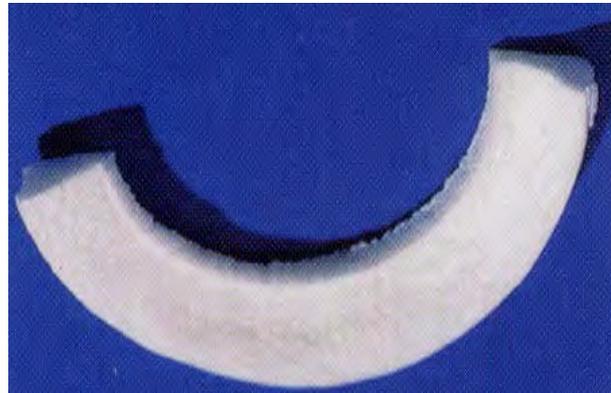
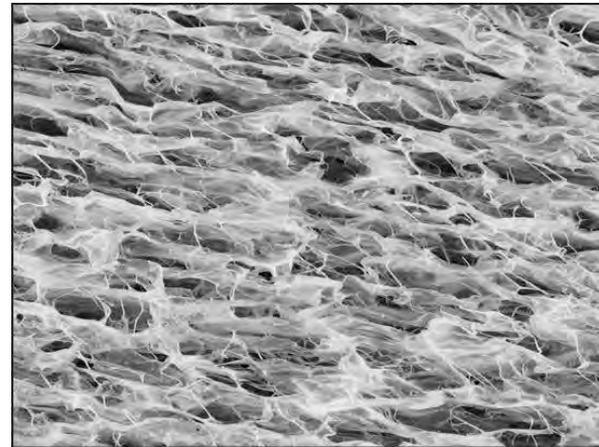
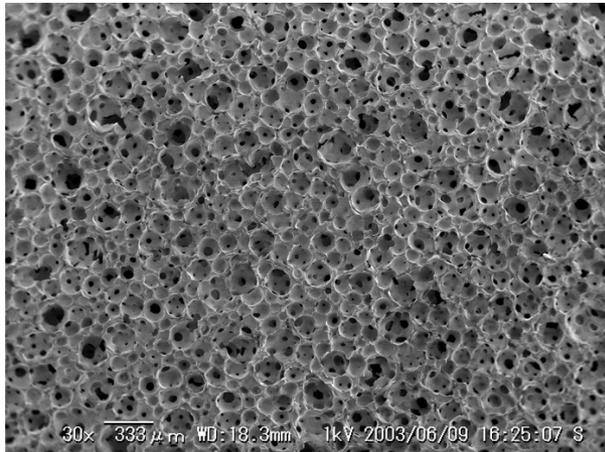
脂肪

臍帯血



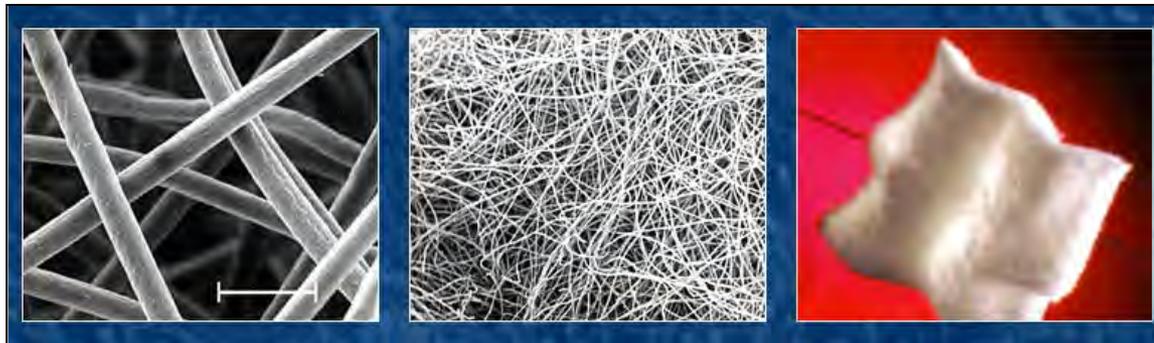
スキャフォールド

細胞の増殖と分化を制御する環境として重要



軟骨修復をめざしたスキャフォールド

- タンパク質ベース
 - コラーゲン、ゼラチン、フィブリン
- 炭水化物ベース
 - ヒアルロン酸, アガロース, ポリ乳酸, ポリグルコール酸, キトサン, アルジネート
- 人工合成ポリマー
 - テフロン、ダクロン、カーボン繊維、ポリブチル酸、ハイドロキシアパタイト
- ハイブリッド材料



世界で承認済・試験中のスキャフォールド

Country	Company	Product	Scaffold
Austria	IGOR	ACT MACT	Fibrin / Collagen gel Matrix
Austria / Italy	Arthrex	Arthromatrix	Collagen Scaffold
Canada	Biosyntech	BST-CarCel	Injectible chitosan-based thermosensitive gel
Germany	Co.don	Chondro transplant Chondro sphere	Endogenic growth factors + cells that form 3D spheres of tissue
Germany / Italy	Verigen	MACI	Porcine Collagen I / III matrix
Germany / Italy	Biotissue Technologies	Bioseed-C	PGLA fleece
Holland	ISOTIS	CellActive VivesCart	Hydrophilic Polyethyleneglycol & Hydrophobic Polybutylene Terephthalate

世界で承認済・試験中のスキャフォールド

Country	Company	Product	Scaffold
Italy	Sulzer / Zimmer		Equine Collagen I / III matrix
Italy	FAB	Hyalograft®C	Hyaluronan-based
Switzerland / Italy	Geistlich	ChondroGide	Periosteal substitute for ACI
USA	Histogenics	NeoCart	Biodegradable matrix
USA	Articular Engineering, LLC	ARC Cartilage	Stimulate isolated chondrocytes to form in vitro cartilage tissues
USA	BD Biosciences	OPLA (Open cell polylactic acid) scaffold	3D Calcium phosphate scaffold 3D collagen composite scaffold

国内外における軟骨再生の 評価指標案策定への動き

- Draft Reflection Paper on *In-Vitro* Cultured Chondrocyte Containing Products for Cartilage Repair of the Knee (European Medicines Agency, EMEA/CAT/CPWP/288934/2009)
- Guidance for Industry Preparation of IDEs and INDs for Products Intended to Repair or Replace Knee Cartilage
U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research
Center for Devices and Radiological Health, 2007 Draft
2011 (Final Version)
- 平成21年度 次世代医療機器評価指標作成事業
再生医療指標評価WG (厚生労働省)
- 平成23-24年度 再生医療分野・組織(軟骨)再生における有効性評価
技術開発WG (産業技術総合研究所)

薬食機発1215第1号

平成22年12月15日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省医薬食品局審査管理課

医療機器審査管理室長

次世代医療機器評価指標の公表について

関節軟骨再生に関する評価指標

関節軟骨再生に関する評価指標

1. はじめに
2. 本評価指標の対象
3. 本評価指標の位置づけ
4. 用語の定義
5. 評価にあたって留意すべき事項

原材料として採取されるドナーの細胞・組織が患者の適用部位の細胞・組織と同様の基本機能をもつ場合(相同使用 Homologous Use)と、2) そうでない場合(非相同使用 Non-homologous Use)に分けて評価

- (1)細胞数、生存率
 - (2)細胞の培養期間
 - (3)確認試験
 - (4)細胞の純度測定
 - (5)力学的適合性試験
 - (6)効能を裏付ける品質試験
 - (7)製品の安定性試験
 - (8)非細胞材料および最終製品の生体適合性
 - (9)細胞の造腫瘍・過形成
6. 効力または性能を裏付ける試験について Proof of Concept
 7. 体内動態について
 8. 臨床試験



社会にひろがる新技術

～JSTの研究開発成果から～

vol.7

いよいよ「膝軟骨」の再生医療が実用化

患者自身の軟骨細胞を活用する医療機器の製造・販売が承認

骨の長がやがて減るのは、血液が栄養成分や酸素を運び、腐った成分を除去してくれるからだ。しかし血液が通っていない軟骨には、このように自己修復能力がない。そのため、膝関節などの軟骨が減少・劣化すると、人工関節を植えることも別な身体に悪影響がなかった。海外での臨床が長年あつてきたこの課題に対し、再生医療による患者の自体細胞を活用するのが「自家培養軟骨ジャック」だ。創設から10年以上を経て、いよいよ製造販売をスタートさせる株式会社ジャパン・ディッシュ・エンジニアリング（以下J-TEC）も始まった。

軟骨細胞の治療スペシャリストから 開発・販売をパトロンタッチ

J-TECの上席研究員 榎野さんは入社以来、再生医療の実用化に取り組んでいる。「自家培養軟骨ジャック（以下ジャック）」は、広島大学整形外科の榎野先生教授が開発した再生医療技術を継承したものです。榎野先生も教授のもとで1年間、直接ご指導いただきました。今でも単社の研究顧問としてアドバイスをいただいています。

榎野さんが開発した自家培養軟骨移植（特に技術特許してジャックに）とは、患者の膝軟骨から採取した細胞を材料で培養し、軟骨細胞を作り、再び本人に移植するというものだ。採取した軟骨細胞は、アデロコラーゲンというゲル状の物質の中で4週間ほど培養される。生体内に近い環境の中で、軟骨細胞は層状（関節の外側にある軟骨）を再生しながら増殖していく。そして一定の条件に達すると、手術時に関節腔内の形に合わせて取り出し、本人の軟骨損傷部に移植する。

「ジャックは軟骨細胞の形に合わせて移植されますが、軟骨組織の質としてはいけば単純成分です。軟骨は、リハビリなどによる刺激を受けて更に活性化し、厚みを増し、本人の軟骨本来の位置に近づいていくのです」

再生医療の基本となる生体細胞の不変

自家培養軟骨ジャック



J-TEC

衣力によって、ジャックは患者の膝と成る。榎野さんがこの再生医療技術を開発した時から、軟骨由来品の根本的な治療法として大きな期待が寄せられたことはいうまでもない。より多くの患者に活用を望むが、実用化にあたっては、厚生労働省の承認を無難に受けねばならない。そのためには、大学における臨床研究から、製品化を可能とする企業への技術移転が必要となる。

「当時、再生医療を手がける会社としてJ-TECの立ち上げを応援していた私たち

は、シーズを調査する中で榎野先生の研究を知り、その他人体や動物体の調査に注目していました。そこで榎野先生の名前を聞き、疾患化に関する研究をお任せいただけるよう申し出たところ、幸いにも単社の承認を認めていただき、開発できるようになったのです」

このようにしてJ-TECは研究を受け継ぎ、JSTの支援を得て、ジャックの実用化を実現することになった。

関節軟骨再生に関する評価指標

1. はじめに
2. 本評価指標の対象
3. 本評価指標の位置づけ
4. 用語の定義
5. 評価にあたって留意すべき事項

原材料として採取されるドナーの細胞・組織が患者の適用部位の細胞・組織と同様の基本機能をもつ場合(相同使用 Homologous Use)と、2) そうでない場合(非相同使用 Non-homologous Use)に分けて評価

- (1)細胞数、生存率
 - (2)細胞の培養期間
 - (3)確認試験
 - (4)細胞の純度測定
 - (5)力学的適合性試験
 - (6)効能を裏付ける品質試験
 - (7)製品の安定性試験
 - (8)非細胞材料および最終製品の生体適合性
 - (9)細胞の造腫瘍・過形成
6. 効力または性能を裏付ける試験について Proof of Concept
 7. 体内動態について
 8. 臨床試験

評価にあたって検討すべき事項

品質管理

- 細胞数および生存率
- 確認試験
- 細胞の純度試験
- 効能試験
- 非細胞材料および最終製品の生体適合性
- 製品の安定性試験

軟骨細胞使用と幹細胞使用の場合評価方法が異なるために、それぞれに応じた評価法を定める。

非臨床評価

- 肉眼・組織評価
- 生化学・分子生物学的評価
- 力学的特性評価
- 細胞の造腫瘍性
- 効力または性能を裏付ける試験
- 体内動態

平成24年度 再生医療分野・組織(軟骨)再生における有効性評価技術開発WG (産業技術総合研究所)

臨床評価

- ①疼痛
- ②関節機能等改善の臨床症状
- ③機能評価
- ④画像診断評価 (MRI解析)
- ⑤組織評価

平成23-24年度 NEDO次世代機能代替技術の研究開発プロジェクト

再生軟骨のMRI評価法

平成24年度 再生医療分野・組織(軟骨)再生における有効性評価技術開発WG
(産業技術総合研究所)

包括的MRI評価法

- MOCART(Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue)など客観的な評価基準を用いて、多施設間で統一した評価を行う
- 再生軟骨の評価には、高い空間分解能と信号雑音比を有する撮像が必要であり、3.0 tesla MRIを用いた評価が推奨される。
- MRI撮像法は、一般に2次元高速スピンエコー法を用いたプロトン密度強調像、脂肪抑制プロトン密度強調像を用いて、複数断面での撮像およびその評価が推奨。
- 三次元等方性ボクセル撮像法は、高空間分解能での評価が可能で、また任意断面での再構成が可能なことから、評価に用いることが望ましい。

再生軟骨の質的MRI評価法

基礎的、臨床的に広く検証が行われているもの

- delayed gadolinium-enhanced MRI of cartilage (dGEMRIC) プロテオグリカン濃度評価
- T2 mapping 水分含有量やコラーゲン配列の評価

研究段階の質的MRI評価法

- T1ρ mapping
- magnetization transfer contrast imaging
- sodium MRI
- diffusion MRI

質的MRI評価法の評価能は、細胞源、足場素材の有無や組成の違いなどによって変化する可能性があるため、結果の解釈は慎重にされるべきある

Guidance for Industry

Preparation of IDEs and INDs for Products Intended to Repair or Replace Knee Cartilage

U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Biologics Evaluation and Research
Center for Devices and Radiological Health
December 2011

2011/12月開示最終版の主な変更点

III. PRODUCT DESCRIPTION

- 手術器械(re-usable or for single use onlyを含む)の安全性の証明等の提出を求める表現が追加された。

V. NONCLINICAL DATA CONSIDERATIONS

- 臨床で使用される最終製品と同様のものを使用することが望ましく、それが可能でない場合にはその明確な理由を報告すべきであるという表現が追加された。
- Animal Data and Testing Considerationsには、Dose response の結果の解釈に解剖学のおよび生体力学的考慮をすることが追加され、さらに同項においてLesion size and location、Appropriate endpoints、Use of arthroscopic and/or magnetic resonance imaging (MRI) evaluationsを項目として追加され詳述された。
- さらにOther important considerations for the animal study include: 2. Animal Report(s) to be Submittedにおいて、報告すべき項目が詳細に記載された。
- Mechanical Data and Testing Considerationsにおいて、failure propertiesという言葉が新たに使用され、製品の力学特性の中で破壊特性が強調された。

VII. CLINICAL STUDY PROTOCOLS

- Designの項目で、exploratory and confirmatory clinical studiesであったものが、early phase and phase 3 or pivotal clinical studiesと言い換えられた。

また所々に、“encourage you to contact us (FDA)” “recommend that you consult with FDA”等の表現が加えられた。

臨床研究について

1. 臨床研究に関連した本邦における指針

探索的臨床研究

検証的臨床研究

目的

安全性確立を目指した
初期臨床導入

臨床上の有効性を実証

本邦における
呼称

自主臨床研究

医師主導あるいは企業主導治験

指針・通知

ヒト幹細胞を用いる
臨床研究に関する指針
(平成18年7月3日厚生労働省)

ヒト(自己)由来細胞や組織を加工した
医薬品又は医療機器の品質及び
安全性の確保について
(薬食発第0208003号平成20年2月8日)
ヒト(同種)由来細胞や組織を加工した
医薬品又は医療機器の品質及び
安全性の確保について
(薬食発第0912006号平成20年9月12日)

ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針(平成18年7月3日厚生労働省)

ヒト幹細胞臨床研究が社会の理解を得て、適正に実施・推進されるよう、個人の尊厳と人権を尊重し、かつ、科学的知見に基づいた有効性及び安全性を確保するため

幹細胞の調製方法や調製機関についての規定に重点

第1章 総則

第4 対象疾患等

ヒト幹細胞臨床研究の対象は、次に掲げる要件に適合するものに限る。

- (1) 重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患又は一定程度身体の機能若しくは形態を損なうことによりQOL(生活の質)を著しく損なう疾患であること。
- (2) ヒト幹細胞臨床研究による治療の効果が、現在可能な他の治療と比較して優れていると予測されるものであること。
- (3) 被験者にとってヒト幹細胞臨床研究の治療により得られる利益が、不利益を上回ると十分予測されるものであること。

臨床研究の方法に関して特に言及はない。

ヒト(自己)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について(薬食発第0208003号平成20年2月8日)

－(同種)－ (薬食発第0912006号平成20年9月12日)

第7章臨床試験

国内の治験計画について以下の項目を踏まえて評価すること。

- 1 対象疾患
- 2 対象とする被験者及び被験者から除外すべき患者の考え方
- 3 細胞・組織加工医薬品等の適用を含め、被験者に対して行われる治療内容
- 4 既存の治療法との比較を踏まえた臨床試験実施の妥当性
- 5 現在得られている情報から想定されるリスク及びベネフィットを含め、被験者への説明事項の案

なお、臨床試験は、適切な試験デザイン及びエンドポイントを設定して実施する必要がある、目的とする細胞・組織の由来、対象疾患及び適用方法等を踏まえて適切に計画すること。

* 同指針に関わるQ&A (平成20年3月12日)において、

臨床試験は、当該細胞・組織加工医薬品等の目的とする細胞の由来、適用方法、対象疾患、対象疾患に対する既存の治療法等を踏まえて適切にデザインする必要があるが、**必ずしも比較臨床試験でなければならないというものではない**。例えば、自己細胞・組織を採取部位と同じ部位に、異所的でなく、適用する場合で、評価指標が明らかであるような場合には、必ずしも比較臨床試験を実施する必要はない場合もある。

2. 臨床研究に関連した海外における指針

米国FDA

Guidance for Industry

Preparation of IDEs and INDs for products intended to repair or replace knee cartilage

IDE, investigational device exemption; IND, investigational new drug
2007年7月にドラフトとして開示、2011年最終版策定。法的な拘束力は持たない。

欧州EMA

Guideline on human cell-based medical products

「ヒト細胞由来製剤に関するガイドライン」

(EMA/CHMP/410869/2006, 11 Jan 2007)

Reflection paper on *IN-VITRO* CULTURED CHONDROCYTE CONTAINING PRODUCTS FOR CARTILAGE REPAIR OF THE KNEE

「省察書 膝軟骨修復用製剤を含有するインビトロ培養軟骨細胞について」

(EMA/CAT/CPWP/288934/2009, 17 Sep 2009)

Guidance for Industry. Preparation of IDEs and INDs for products intended to repair or replace knee cartilage

1) Early Phase (1, 2)

1. 探索的臨床研究

安全性データの取得

手術手技に関するデータの取得

生理活性データの取得

患者選択の妥当性の評価

用量の評価

などが目的

結果の解釈を最適化するために対照群をおくこと

2. Phase 3

有効性および安全性の検証

などが目的

Randomized Controlled Designで行うこと。可能性であればRCDは盲検での実施を推奨。

2) 対象患者の選択

痛みの程度

変形性関節症の有無

身体機能

関節損傷の部位

損傷の深さ

損傷の面積

合併する関節病変(例:半月板損傷、靭帯断裂など)

損傷に対する治療歴

などを勘案し決めるべきである。

対照群: historical controlではなく、concurrent controlをおくべきである。

軟骨や骨の損傷や深さや大きさ、広がりをも同等にした試験群で無作為比較対照試験(RCT)を推奨する。

3) 臨床研究におけるエンドポイント

1次エンドポイント： 痛みや身体機能とすべき

—Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score(KOOS)

—IKDC Subjective Knee Evaluation Forum 2000

—Cincinnati Knee Rating Form

—Western Ontario and McMaster Universities Index(WOMAC)

2次エンドポイント： 処置前後の軟骨損傷の大きさ、部位、グレードの関節鏡評価

—ICRS score

4) 手術手技と術後のリハビリテーション

—麻酔、皮切、術中疼痛処置

—荷重負担の接続時間、方法、頻度

—用いた鎮痛剤の種類、用量、頻度

—リハビリテーションの種類、頻度

5) 経過観察期間

非臨床試験と適応疾患の経過に基づいて決定されるべき。

2年間の安全性フォローアップが推奨される(探索的臨床研究の開始から起算)。

非吸収性素材を含有する場合は、5年間の安全性フォローアップが推奨される。

「省察書 膝軟骨修復用製剤を含有するインビトロ培養軟骨細胞について」
(EMA/CAT/CPWP/288934/2009) (2009年9月17日)

1) 臨床研究デザイン(探索的臨床研究/検証的臨床研究)

1. 探索的臨床研究

安全性のデータ取得

用量の評価

手術手技に対する評価

検証的研究の設計に対する情報提供

並行群を用いる無作為化対照研究が推奨される。

2. 検証的臨床研究

有効性の検証

前向き無作為化、非盲検、盲検化評価が推奨される。

2) 対象患者の選択

症状

機能性

局在性

膝欠損部の大きさや深さ

併存する関節病変

欠損部の治療歴

など、関連する基準に応じて選定すべきである。

対照群:

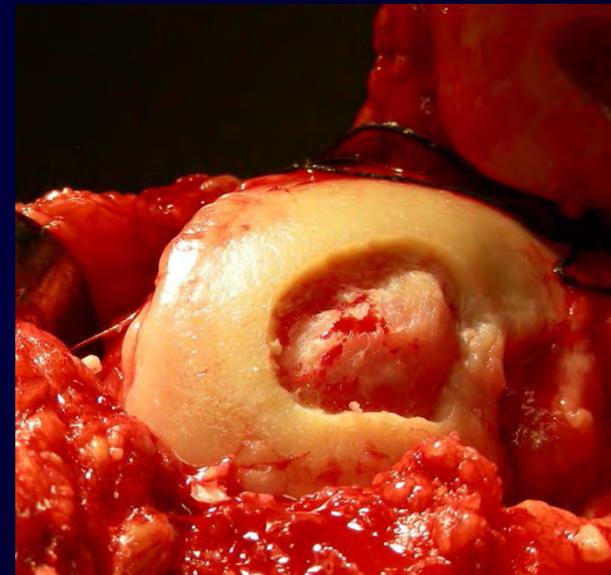
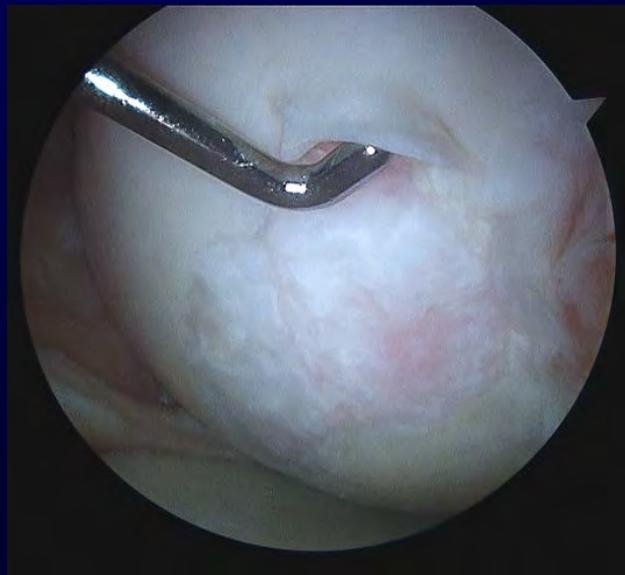
病変が4 cm²未満の患者の場合、現在採用されている合理的な外科的比較療法(マイクロフラクチャーなど)が、合理的選択肢である。

病変が4 cm²以上の患者の場合、標準的な療法の有効性がまだ明確でないため、最善の治療基準が、合理的選択肢である。

マイクロフラクチャー (MF)

合併症:

- 30—50%の症例に病巣内の骨棘形成 (骨過形成)



3) 臨床研究におけるエンドポイント

1次エンドポイント: 患者ベースの機能、痛み評価
Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score(KOOS)

2次エンドポイント: 構造的改善

盲検化標準MRI

IKDC

リスホルムスコア

ICRS

膝身体所見

関節鏡評価

X線評価

4) 経過観察期間

探索的臨床研究: 臨床的エンドポイント2年以上、構造的エンドポイント1年以上、非臨床試験と適応疾患の経過に基づいて決定されるべき。

検証的臨床研究: 臨床有効性を評価するために3年間のフォローアップが必要である。

3. 海外における再生医療臨床研究の実例

ChondroCelect (TiGenix社)に関する第III相多施設無作為化対照試験 (TIG/ACT/01/2000およびTIG/ACI/01/2000EXT)

1) 臨床研究デザイン

多施設無作為化対照試験(評価の盲検化)

なお、用量反応研究は行っていない。用量は、TiGenix社が実施した動物試験、既刊の文献、ヒトのACI処置における経験を基に、総合的に判断した。

2) 対象疾患

大腿顆に1 -5 cm²の範囲で単一の症候性軟骨病変を生じた、18歳から50歳までの患者。

膝蓋大腿軟骨病変患者、離断性骨軟骨症(OCD)患者、病変深度が0.5 cmを超える患者、最近12ヵ月以内に半月板移植、骨軟骨移植術、あるいはマイクロフラクチャーを受けた患者は除外された。

患者は、厳格なリハビリテーションプロトコール及びフォローアッププログラムへの積極参加への同意を義務付けられた。

3) 登録症例数

118例(ChondroCelect群57例、Microfracture群56例)

4) 評価項目 (エンドポイント)

1次エンドポイント: おもに臨床エンドポイント

Microfractureと比較した、KOOSによる

1. 痛み
2. その他、腫脹、動作範囲の制限、機械的制限などの症状
3. 日常生活での機能
4. スポーツやレクリエーションでの機能
5. 膝関連の生活の質
の非劣性を実証

2次エンドポイント: おもに構造修復エンドポイント

ICRS IIの下位尺度

MRI測定結果

ICRSの視覚的組織学的評価スコア。

サフラニンO染色及びコラーゲンII染色に関する組織形態学的スコア

総体的組織学評価スコア

5) 試験期間

臨床エンドポイント: 移植後12-18ヶ月

構造修復エンドポイント: 移植後12ヶ月

4. 臨床研究デザインにおいて検討すべき項目

臨床研究デザイン

盲検化および無作為化について

探索的臨床研究における評価項目

安全性や用量反応性について

検証的 (Phase III) 臨床研究における評価項目

有効性について

適格基準、症例数の設定

評価項目 (エンドポイント)

検証的臨床研究における1次/2次エンドポイント

試験期間

1次/2次エンドポイントに対しての評価期間

臨床研究デザインについては、現行の厚労省指針・通知では、探索的/検証的臨床研究のいずれにおいても対照比較研究を必須とするものではない。しかし、その評価においては、historical controlあるいは既存報告を参考にし、比較・評価する必要はあると思われる。今後、世界戦略を考慮すべき製品に関しては、検証的臨床研究で無作為化を検討すべきであろう。評価においても盲検化を行うべきであろう。

検証的臨床研究における評価項目(エンドポイント)は、1次エンドポイントとして患者の症状や機能を反映する臨床エンドポイントをもちいることが推奨される。欧州の実例では、対照方法と比較して非劣性を証明することをもって有効と認定された。

2次エンドポイントは画像情報などから得られる構造修復エンドポイントが推奨される。構造修復エンドポイントについては、前臨床試験と共通の方法で評価する項目が含まれることが望まれる。

試験期間は、製品の性質や臨床上の目標などを勘案し、適切な期間を選定すべきである。特に対象患者が限定されていることから余裕のある研究期間設定が重要である。

総括

- 世界および我が国における軟骨再生医療確立のための評価指標案策定への動きについて紹介した。
- 非臨床試験の項目に関しては平成21年度厚労省再生医療(軟骨)指標評価WGで示された内容はFDAやEMAから出されているガイドラインと基本的に合致している。
- 今後、策定を急ぐ評価項目は臨床試験の評価にかかわる部分であると考えられる。
- 科学的で合理的なガイドラインの策定は再生医療の推進に必要な不可欠なものである。