

forming unit-fibroblast, CFU-F)として計測する)には、基礎病態により大きな相違があり、CFU-Fと治療成績が相関していることを示しており、移植細胞が骨再生に寄与していると述べている⁹⁾。この事実は、培養系を介さない濃縮骨髄液を用いた治療では含有される細胞数が不確定であり、一定の治療成績が得られないことを意味する。月状骨壊死に対する細胞治療の報告はない。

2.6. これまでの準備状況について

2.6.1. 前臨床試験におけるヒト骨髄間質細胞の培養

医学部医の倫理委員会の承認を得た実験として、脊椎固定術等の腸骨移植を必要とする手術を受ける予定の患者に対し、研究内容を説明し、協力の同意書を得た後に、採骨の際に骨髄液を採取し、MSCを分離、培養する実験を行った。現在まで約40例の培養実験を施行しており、実験開始当初3例において、培養継続が不能となったが、第10症例以降の培養不能例はなく、全て4週以上培養継続が可能であった。全例において骨分化能を有した細胞であることが確認されている。通常は胎仔血清を用いて実験を行っているが、臨床応用に向けて、ヒト血清でも培養可能なことを示すため、前臨床試験として成人ヒトO型血清を用いた培養を行い、他家ヒト血清添加でも胎仔血清添加の場合と同様に、細胞は増殖し、かつ分化能は維持されていることを確認した。更に一旦凍結保存した細胞が、溶解後、再増殖可能であり、かつ分化能も維持していることも確認している。末梢血からの血清单離及び冷凍保存、更に溶解した血清を用いた培養が可能であることも確認している。

2.6.2. 大型動物モデルでの治療実験

大型動物でMSCを用いた治療法の有効性を検証するために、ビーグル犬を用いて壊死骨モデルを作成し、その治療実験を行った¹⁶⁾。イヌ腸骨より骨髄液を採取し、有核細胞分画を単離し、約3週間の培養により 1×10^7 個の細胞を確保した後、ヒト月状骨に相当するイヌ月状舟状骨の骨髄内海綿骨を可及的に搔爬し、液体窒素処理を繰り返して残存する海綿骨を壊死状態とした後、壊死部に吸収性人工骨材料であるベータリン酸カルシウム(β -TCP)と間葉系幹細胞を混合移植し、最後に開窓部の骨皮質に橈骨遠位端より血管柄付き骨弁を移植した。対照とした細胞移植を施行しなかった群及び線維芽細胞を移植した群では、月状骨は圧潰変形を生じ、壊死部の骨組織再生も極めて乏しいものであったのに対し、MSC移植群では、術後約4週の時点で、画像及び組織学的所見で、良好な骨組織の再生像が得られ、変形も認められなかった。移植細胞の採取・培養過程において、実験中止に至るような事象の発生はなく、移植後も最長6ヶ月間の観察期間中に局所の炎症、腫脹、その他特筆すべき全身症状の発生は認められなかった。最終時点での剖検所見においても、移植部には異常所見は検出されなかった。

2.7. これまでのヒト幹細胞臨床研究と比較した新規性について

申請者らは以上の実験により、ヒト骨髄より採取したMSCを含む細胞群が成人ヒト血清を用いて分化能を有したまま培養することが可能であること、MSC移植を併用することで骨再生が著しく促進され、荷重骨であっても圧潰することなく、再生が生じることを確認した。これまで月状骨壊死に対して、MSCを用いた細胞治療を施行した報告はない。また