

前項 2.5.に記載した大腿骨頭壊死に対する濃縮骨髓液移植術と比較して下記の利点があると考えられる。

- 1.体外細胞培養工程により移植細胞数を均一化することで、細胞移植の効果を正確に判定できること
- 2.直視下に細胞移植操作を行うことで、確実に細胞を病巣部に供給できること。
- 3.人工骨移植を併用することで、骨再生の足場を供給できること
- 4.血管柄付骨移植術を併用することで、骨形成細胞の増殖に必要な血流及び骨組織の改変に必要な破骨細胞系の細胞を供給できること。

したがって、本研究はヒト幹細胞を用いた臨床研究として新規性が認められるものと考え、大腿骨頭無腐性壊死と並んで骨壊死病態の代表的なものである月状骨無腐性壊死に対する MSC の移植を臨床試験として企画した。

### 3. 移植細胞・薬剤・医療材料情報

以下に本試験で用いる移植細胞及び使用薬剤に関する情報を示す。詳細は概要書を参照のこと。

#### 3.1. 間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cell, MSC)

##### 3.1.1. 概要

本研究で使用する MSC は、腸骨より採取した骨髓液より分離された有核細胞のうち、プラスチック基盤の培養皿でコロニーを形成して、付着増殖する細胞集団に含まれている細胞と定義する。特定の培養条件で、*in vitro* で骨、軟骨及び脂肪細胞の特質を発現する細胞に誘導可能な細胞である。骨髓機能が抑制されている場合を除けば、年齢、性差を特に問わず、平均 12 日の培養で骨髓液 1ml あたり約  $1 \times 10^7$  個まで増殖可能であり、牛胎仔血清および成人ヒト由来血清で培養可能である。培養後 4 週の時点までは骨、軟骨及び脂肪への分化能は維持されていることが確認されている。最低 6 ヶ月間は凍結保存可能であり、解凍後も 90%以上の増殖能及び分化能は維持されている。培養細胞の単離、凍結、解凍、出荷時に細菌検査、真菌検査、マイコプラズマ否定検査、エンドトキシン測定を実施し、これらが 5EU/kg/dose であることを保証し移植に用いる。(以上のデータは申請者らの研究に基づくもので、現在投稿準備中である。)

##### 3.1.2. 毒性

本研究で使用する MSC は、自家細胞であり、免疫学的な毒性は発生しない。培養工程を経ても、免疫原性には変化を認められていない。また培養液等の影響により、組織刺激性等の毒性を獲得したとの報告もない。長期培養工程(4 ヶ月以上)を経ることにより、形質転換する可能性が報告されているが<sup>17)</sup>、本試験での培養期間内に形質転換細胞が出現した報告はなく、これまで実際に移植細胞より腫瘍性病変が発生したとの報告はない。

##### 3.1.3. 生体内動態

移植 MSC が移植後、どの程度の期間生存するのか、同等の分化能力をもつ MSC を娘細胞として産生するのか等の詳細な生体内動態は解明されていない。標識細胞を用いた動物実験では、経静脈的に投与された場合、骨髓を始め種々の組織内に生着し、個々の組織細胞に変化していることが報告されている<sup>18,19)</sup>。局所に投与された場合、骨、軟骨等