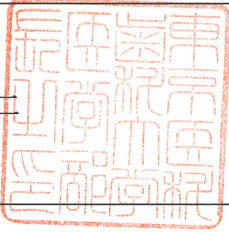


ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成 24 年 12 月 28 日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	〒113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45
	名称	東京医科歯科大学医学部
	研究機関の長 役職名・氏名	医学部長 湯浅保仁 

下記のヒト幹細胞臨床研究について、別添のとおり実施計画書に対する意見を求めます。

記

ヒト幹細胞臨床研究の課題名	研究責任者の所属・職・氏名
滑膜幹細胞の集合体による軟骨再生	大学院医歯学総合研究科 軟骨再生学 寄附講座教授 関矢一郎

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	滑膜幹細胞の集合体による軟骨再生
申請年月日	平成24年12月28日
実施施設及び 研究責任者	実施施設：東京医科歯科大学 医学部 研究責任者：関矢 一郎
対象疾患	膝関節軟骨欠損あるいは局所に限定した変形性膝関節症
ヒト幹細胞の種類	自己滑膜由来間葉幹細胞
実施期間及び 対象症例数	病院長の実施許可通知から3年間を被験者登録期間とし、対象症例数は5例。
治療研究の概要	安全性と有効性の評価を行う。関節鏡視下で滑膜を少量採取し、2週間培養し細胞集合体を作成する。関節鏡で観察しながら軟骨欠損部に移植する。
その他（外国での状況等）	骨髓刺激法、骨軟骨柱移植、自家骨膜移植および自家培養軟骨細胞移植などが行われているが、これらの手法で現時点では臨床成績に有意な差は認められていない。また当施設では滑膜幹細胞を細胞浮遊液の状態に移植する再生医療を2008年4月より開始しており、本研究は細胞を効率的に移植できるように改良を行ったものである。
新規性について	滑膜幹細胞を集合体の状態で移植するのは初めて。

現在行なっている臨床研究

軟骨欠損に対して滑膜幹細胞を関節鏡視下で移植する再生医療



自己血清の準備

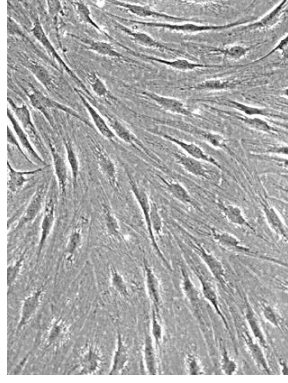


0.5gの滑膜を
酵素処理



本学細胞治療センター

外来手術で
関節鏡検査と
滑膜採取



14日間培養



約5000万個の細胞を
関節鏡視下に移植

利点 低侵襲

動物血清を使用しない

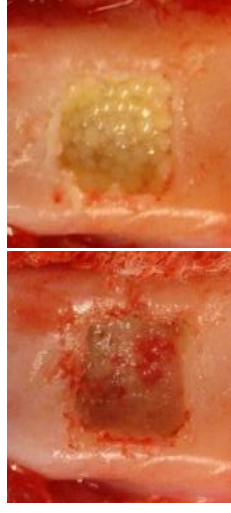
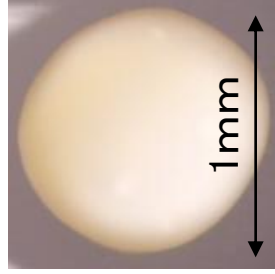
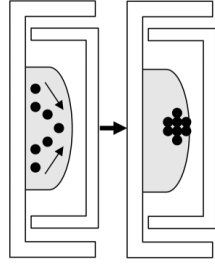
人工素材を使用しない

改良を要する点

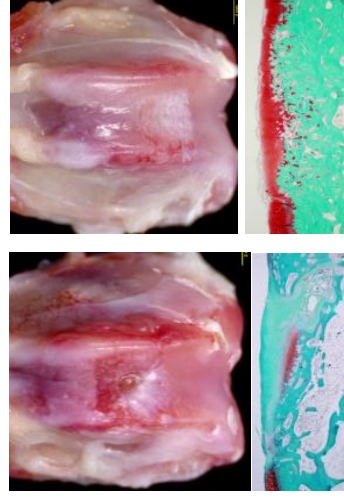
細胞を肉眼的に観察できない

細胞が沈むまでに時間がかかる

今回申請する臨床研究 滑膜幹細胞の集合体による軟骨再生



- 細胞塊が肉眼で観察可能
- 表面張力で接着



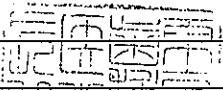
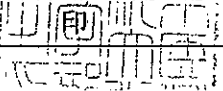

ハンギング・ドロップ培養
による細胞集合体作製

基礎研究で
有効性を確認



関節鏡視下で
移植が可能

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称		滑膜幹細胞の集合体による軟骨再生		
研究機関				
	名称	東京医科歯科大学医学部		
	所在地	〒113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45		
	電話番号	03-3813-6111		
	FAX 番号	03-5803-4020(運動器外科学 研究室)		
研究機関の長				
	役職	医学部長 		
	氏名	湯浅保仁 		
研究責任者				
	所属	大学院医歯学総合研究科 (軟骨再生学)		
	役職	寄附講座教授		
	氏名	関矢一郎 		
	連絡先	Tel/Fax	Tel : 03-5803-4020 /Fax : 03-5803-4020	
		E-mail	sekiya.orj@tmd.ac.jp	
	最終学歴	平成 12 年 東京医科歯科大学 大学院 医学研究科 卒業		
	専攻科目	整形外科		
その他の研究者		別紙 1 参照		
共同研究機関 (該当する場合のみ記載してください)				
	名称			
	所在地	〒		
	電話番号			
	FAX 番号			
共同研究機関の長 (該当する場合のみ記載してください)				
	役職			
	氏名			
臨床研究の目的・意義		<p>私たちは膝関節の軟骨欠損や、局所に限定した変形性膝関節症に対して、外来手術で滑膜を採取し、細胞治療センターで自己血清を用いて滑膜幹細胞を培養し、関節鏡視下で細胞浮遊液の状態で軟骨欠損部に10分間静置することにより、幹細胞を移植する再生医療を平成20年4月より開始している。最長3年の観察期間であるが、安全性と有効性を確認している。しかし、この方法は軟骨欠損部に移植</p>		

		<p>した細胞を肉眼的に観察できない、細胞が軟骨欠損部に沈むまでに時間がかかるという、2つの欠点があることがわかった。</p> <p>これらの欠点を改善すべく基礎研究を行った結果、ヒトの滑膜幹細胞約1×10^5個を約$35 \mu\text{l}$の培養液に浮遊させハンギング・ドロップ培養を行なうと、3日間で直径約1mmのコンタクトレンズ状の細胞集合体を形成して肉眼で観察できる大きさに成長し、容易には壊れず扱うことが可能であった。ウサギを用いた非臨床試験で、軟骨欠損部に滑膜幹細胞の集合体を接着させると、集合体は軟骨欠損部に一体化し、軟骨再生が認められた。以前の細胞浮遊液を移植する方法に比べ、関節鏡視下で細胞集合体が沈む様子を肉眼で観察できるため、より操作性が高い。また、軟骨欠損部に沈むまでの時間も短縮し、表面張力を用いて接着させるため細胞接着の効率も良いという結果が得られた。</p> <p>私たちはこれまでの基礎研究や非臨床試験の成果を踏まえ、平成20年4月より開始している、滑膜幹細胞の細胞浮遊液を軟骨欠損部に移植する臨床研究の方法を一部変更し、滑膜幹細胞の細胞集合体を軟骨欠損部に移植する方法で、膝関節の軟骨を再生する臨床研究行いたい。本法により、次世代の低侵襲軟骨再生治療が可能となることが期待できる。</p>
臨床研究の対象疾患		
	名称	膝関節軟骨欠損および局所に限定した変形性膝関節症患者
	選定理由	膝関節軟骨の欠損・及び変性は自然治癒力に乏しく、放置された場合に膝痛、可動域障害等の症状が進行する。現時点で有効な保存的治療や低侵襲外科手術はない。
被験者等の選定基準		<p>以下の基準を満たす患者</p> <ul style="list-style-type: none"> # 膝関節軟骨欠損 (ICRS Grade 2 または 3) あるいは局所に限定した変形性膝関節 (KL Grade 2) と診断される。 # 臨床症状に対し手術治療の適応がある。 # 症例登録時に、20 歳以上。 # 本人の文書による同意が得られている。 <p>除外基準。</p> <p>以下のいずれかの項目に抵触する患者。</p> <ul style="list-style-type: none"> # 活動性の感染がある。 # HIV、HBV、HCV、HTLV のいずれかが陽性。 # 活動性の悪性腫瘍を有する。 # 抗生物質に過敏。

	# 妊婦・授乳中。 # 糖尿病がある。 # 全身状態が悪い # その他、本臨床研究への参加を責任者又は分担者が不適当と判断される。
臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	自己滑膜由来の間葉幹細胞
由来	<input checked="" type="checkbox"/> 自己・非自己・株化細胞 <input checked="" type="checkbox"/> 生体由来・死体由来
採取、調製、移植又は 投与の方法	事前に自己血を採取し血清を分離・保存する。鏡視下で滑膜組織を採取し、酵素処理後、有核細胞を培養用ディッシュ上に播種し、自己血清加培地を用いて接着細胞を11日間培養する。培養11日目に細胞を回収し、ハンギング・ドロップ培養を3日間行う。最後の3日間の培養により滑膜幹細胞は、直径約1mmのコンタクトレンズ状の集合体（滑膜幹細胞 1.0×10^5 個）となる。回収した細胞集合体を輸液中に浮遊させ、鏡視下で膝関節の軟骨欠損部に移植する。細胞培養は本学細胞治療センターで、組織採取と細胞移植は手術室で行なう。
調製（加工）工程	<input checked="" type="checkbox"/> 有・無
非自己由来材料使用	有・ <input checked="" type="checkbox"/> 無 動物種（ ）
複数機関での実施	有・ <input checked="" type="checkbox"/> 無
他の医療機関への授与・販売	有・ <input checked="" type="checkbox"/> 無

<p>安全性についての評価</p>	<p>滑膜採取日に無菌試験と PCR によるウイルス・マイコプラズマ検査を行い原料である滑膜の安全性を確認する。培養 8 日目に無菌試験、11 日目にウイルス・マイコプラズマ検査、培養終了時にエンドトキシン試験、染色体検査を行なう。さらに最終製品で無菌試験、ウイルス・マイコプラズマ検査を行ない、製品の一部を凍結保存することにより、問題が生じた場合の原因を明らかにする体制を整える。</p> <p>観察・評価・検査に関するスケジュールは下記の通りである。</p> <table border="1" data-bbox="603 667 1246 1406"> <thead> <tr> <th colspan="2">観察・評価・検査日</th> <th>前観察</th> <th>0 日</th> <th>1 3 日後</th> <th>2 週後</th> <th>4 週後</th> <th>6 週後</th> <th>3 カ月後</th> <th>6 カ月後</th> </tr> <tr> <th colspan="2">許容範囲</th> <td>30 日以内</td> <td>半月板縫合</td> <td>滑膜採取</td> <td>細胞移植</td> <td>±1 週</td> <td>±1 週</td> <td>±1 月</td> <td>±1 月</td> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3">全身所見</td> <td>血圧</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> </tr> <tr> <td>脈拍数</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> </tr> <tr> <td>体温</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">臨床検査</td> <td>血液</td> <td>○</td> <td></td> <td>○</td> <td></td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> </tr> <tr> <td>尿</td> <td>○</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>○</td> </tr> <tr> <td>心電図</td> <td>○</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="4">局所症状</td> <td>胸部X線</td> <td>○</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>発赤</td> <td>○</td> <td></td> <td>○</td> <td></td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> </tr> <tr> <td>水腫</td> <td>○</td> <td></td> <td>○</td> <td></td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> </tr> <tr> <td>熱感</td> <td>○</td> <td></td> <td>○</td> <td></td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> </tr> <tr> <td rowspan="3">自覚症状</td> <td>可動域</td> <td>○</td> <td></td> <td>○</td> <td></td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> </tr> <tr> <td>VAS</td> <td>○</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> </tr> <tr> <td>KOOS</td> <td>○</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> <td>○</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">画像検査</td> <td>膝X線</td> <td>○</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>○</td> <td>○</td> </tr> <tr> <td>膝MRI</td> <td>○</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>○</td> <td>○</td> </tr> </tbody> </table>	観察・評価・検査日		前観察	0 日	1 3 日後	2 週後	4 週後	6 週後	3 カ月後	6 カ月後	許容範囲		30 日以内	半月板縫合	滑膜採取	細胞移植	±1 週	±1 週	±1 月	±1 月	全身所見	血圧	○	○	○	○	○	○	○	○	脈拍数	○	○	○	○	○	○	○	○	体温	○	○	○	○	○	○	○	○	臨床検査	血液	○		○		○	○	○	○	尿	○							○	心電図	○								局所症状	胸部X線	○								発赤	○		○		○	○	○	○	水腫	○		○		○	○	○	○	熱感	○		○		○	○	○	○	自覚症状	可動域	○		○		○	○	○	○	VAS	○				○	○	○	○	KOOS	○				○	○	○	○	画像検査	膝X線	○						○	○	膝MRI	○						○	○
観察・評価・検査日		前観察	0 日	1 3 日後	2 週後	4 週後	6 週後	3 カ月後	6 カ月後																																																																																																																																																								
許容範囲		30 日以内	半月板縫合	滑膜採取	細胞移植	±1 週	±1 週	±1 月	±1 月																																																																																																																																																								
全身所見	血圧	○	○	○	○	○	○	○	○																																																																																																																																																								
	脈拍数	○	○	○	○	○	○	○	○																																																																																																																																																								
	体温	○	○	○	○	○	○	○	○																																																																																																																																																								
臨床検査	血液	○		○		○	○	○	○																																																																																																																																																								
	尿	○							○																																																																																																																																																								
	心電図	○																																																																																																																																																															
局所症状	胸部X線	○																																																																																																																																																															
	発赤	○		○		○	○	○	○																																																																																																																																																								
	水腫	○		○		○	○	○	○																																																																																																																																																								
	熱感	○		○		○	○	○	○																																																																																																																																																								
自覚症状	可動域	○		○		○	○	○	○																																																																																																																																																								
	VAS	○				○	○	○	○																																																																																																																																																								
	KOOS	○				○	○	○	○																																																																																																																																																								
画像検査	膝X線	○						○	○																																																																																																																																																								
	膝MRI	○						○	○																																																																																																																																																								
<p>臨床研究の実施が可能であると判断した理由</p>	<p>#1 日本白色家兎の膝蓋大腿関節の大腿骨側に 5x5x1.5mm の軟骨欠損を作製し、自己滑膜間葉系幹細胞集合体（滑膜間葉系幹細胞 1.0x10⁵ 個からなる）をそれぞれ、5、10、20、40、80 個移植した。細胞を移植しない群を対照とした。移植翌日には細胞集合体は軟骨欠損部に接着し、軟骨欠損部以外には観察されなかった。比較的低密度な 10 個の集合体を移植した群で、移植 4 週、12 週後に最も良好な軟骨の再生が得られた。</p> <p>#2 より多くの集合体を移植した時に、成績が不良な原因を検討するため、TUNEL 染色による生存率の検討を行なった。#1 と同様、日本白色家兎を用いた集合体移植実験において、集合体 10 個を移植したときに比べ、集合体 80 個を移植した時の方が、移植 2 週後、多くの TUNEL</p>																																																																																																																																																																

陽性細胞を認めた。低栄養環境が原因のひとつと考え、*in vitro*での集合体の生存率の検討も行った。一定量の培養液に集合体の数を変えて培養すると、集合体の数に依存して培養液が赤から黄色に変化し酸性となり、また TUNEL 陽性細胞も多く認め、低栄養環境が原因のひとつの原因であることが確認できた。

#3 集合体の大きさが軟骨欠損部への接着効率に影響するか否かを確認するため、#1 と同様、日本白色家兎を用いた集合体移植実験において、 1.0×10^5 細胞からなる集合体と、 2.5×10^5 細胞からなる集合体を、25 個または 100 個移植して比較検討した。移植 4 週後、どちらの大きさの集合体も、より低密度な 25 個移植群で良好な軟骨再生が得られた。集合体の大きさの違いは接着効率に影響しなかった。肉眼で観察しやすいのは 2.5×10^5 細胞からなる集合体であったが、この大きさの集合体は、移植時に針やチューブに粘着しやすい欠点があったため、 1.0×10^5 細胞からなる集合体を採用した。

#4 1.0×10^5 細胞からなる集合体を 25 個移植した日本白色家兎を、6 ヶ月観察した。移植した細胞が欠損部外へ移動しないこと、腫瘍化しないこと、滑膜炎などの問題を生じないことを確認した。

#5 2008 年より 14 日間培養した滑膜間葉系幹細胞を、軟骨欠損部に移植する臨床研究を開始している。移植後 2 年以上経過した 10 例で、腫瘍化、ウイルス感染等の問題を生じていない。

#5 本研究実施計画書で申請する滑膜幹細胞の集合体は、#5 で記載した「滑膜間葉幹細胞を用いる軟骨再生」で用いる滑膜間葉幹細胞と、培養 11 日目までは全く同じ工程で製造する。培養 12 日目から 14 日目までのハンギング・ドロップ培養に用いる培地は、「滑膜間葉幹細胞を用いる軟骨再生」で用いているのと同じ培地であり、集合体の回収には細胞剥離剤など製品に残存することにより製品の安全性に問題が生じる原料は全く用いない。従って、製品の安全性は「滑膜間葉幹細胞を用いる軟骨再生」で用いている滑膜間葉幹細胞と同等のものであると判断している。

臨床研究の実施計画	<p># 細胞調製に関して</p> <p>滑膜を採取する 1-3 日前に約 300mL 採血し、JMS 社製閉鎖式血清分離バッグを使用し、自己血清を約 80-120ml 用意する。</p> <p>手術室で関節鏡検査の際に、滑膜組織約 0.5g を採取する。</p> <p>本学細胞治療センターでLiberase処理後、10%自己血清添加 α-MEM を使用して 11 日間培養する。TrypLE で細胞を回収し、引き続きハンギング・ドロップ法で 3 日間培養し、約 1mm の集合体にして回収する。回収した集合体はアセトキープ 3G に浮遊させ、手術室で、関節鏡視下に、注射器を使用して軟骨欠損部に注入する。</p> <p># 臨床研究に関して</p> <ul style="list-style-type: none"> ・デザインの型 単施設、非対照試験 ・目標登録数 5 例 ・登録期間 3 年 ・滑膜細胞培養開始から滑膜間葉系幹細胞集合体移植までをプロトコル治療と定義する。 ・後療法 従来の膝関節軟骨欠損の修復術と同等とする。 <p>術後 可動域訓練。大腿四頭筋収縮運動。</p> <p>下肢伸展挙上が可能であることを確認後、knee brace を使用して免荷歩行。疼痛のない範囲で荷重許可。</p> <p>2-4 週 十分な ROM の回復、大腿四頭筋の収縮が良好であること、疼痛が軽減していることを確認後、全荷重歩行。</p> <p>その後、両足ハーフスクワット訓練を開始し、30 分のバランスのとれた歩行が可能となれば、片足ハーフスクワット訓練を行なう。10 秒維持 x10 回が可能となればジョギング開始。その後徐々に走力のレベルを高める。</p> <p>術後 3 か月は 90 度を超える屈曲位からの立ち上がり動作を禁止する。</p>
-----------	---

		<p>5-6 ヶ月 スポーツ復帰。</p> <p>・主要評価項目 本研究における有害事象の有無、種類、重症度、発現頻度及び発現期間</p> <p>・副次的評価項目</p> <p>i. 経時的臨床症状項目 患肢の自覚的症狀評価について Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS)、Visual Analogue Scale (VAS)、IKDC subjective score を用いて、前観察、4 週、6 週、3 ヶ月、6 ヶ月時に評価する。</p> <p>ii. MRI 画像診断による評価 半月板修復の程度に関して 3T の MRI を用いて前観察、3 ヶ月、6 ヶ月時に評価する。</p> <p>iii. 膝関節単純 X 線検査 関節裂隙、軟骨下骨、局所骨密度等に関して、前観察、3 ヶ月、6 ヶ月時に評価する。</p> <p>・登録被験者の研究参加期間 前観察期間とプロトコル治療期間 6 週以内 プロトコル治療後の観察期間 6 ヶ月</p>
被験者等に関するインフォームド・コンセント		
	手続き	担当医師は、被験者が試験に参加する前に説明文書を用いて十分に説明し、試験への参加について自由意志による同意書を本人から文書として得る。
	説明事項	研究の目的・方法について、試料等の保管と他の研究への利用について、予想される結果（利益・不利益）について、研究協力の任意性と撤回の自由について、個人情報の保護について、研究成果の公表について、及び費用についての説明をそれぞれ行なう。
単独でインフォームド・コンセントを与えることが困難な者を被験者等とする臨床研究の場合		
	研究が必要不可欠である理由	単独でインフォームド・コンセントを与えることが困難な者を被験者とししない。

	代諾者の選定理由	
被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法	<p>有害事象発生の際には、適切な処置を施し、被験者の安全の確保に留意し、必要に応じて専門医師の診断を受けることにより原因究明に努める。被験者の臨床研究参加中及びその後を通じて臨床上問題となる重大な有害事象に対して、必要に応じて十分な医療措置を講じる。発生した有害事象に対しては、可能な限り追跡調査を行なう。</p> <p>研究者が重大な事態に遭遇する場合、直ちに研究責任者に報告をする。研究責任者は事態の全容を把握するとともに、すみやかに医学部長に報告する。また適切かつ速やかに措置を講ずるとともに、その措置について医学部長に報告する。医学部長は厚生労働大臣に可及的早期に、事態の概要と措置について報告する。</p>	
臨床研究終了後の追跡調査の方法	<p>研究責任者は、臨床研究終了後も、安全性及び臨床効果判定の観点から、術後 10 年間は追跡調査を行なう。被験者に毎年 1 回は外来受診していただき、必要に応じてレントゲン・MRI・血液検査を行なう。</p>	
臨床研究に伴う補償		
	補償の有無	<input checked="" type="checkbox"/> 有・無
	補償が有る場合、その内容	<p>本臨床研究は補償保険が設定できないため、適切な補償保険への加入は不可能である。本臨床研究の実施に起因して有害事象または不具合が発生し、被験者に健康被害が生じた場合は、適切な治療その他必要な措置を受けることができるように、研究責任者及び東京医科歯科大学医学部附属病院が誠意を持って対応する。</p> <p>なお、研究責任者及び実施医療機関は、当該臨床研究において一切の金銭的利益を受けず、臨床研究の実施も公費によってまかなわれている。そのため、生じた健康被害における医療費・医療手当ての支給が困難であり、提供される治療等には健康保険を適用し、その他の補償は行なわない。</p>
個人情報保護の方法		
	連結可能匿名化の方法	<p>被験者から組織を採取し、体外で幹細胞を分離・増殖させ、同一被験者に幹細胞を戻す手順となるが、組織採取及び細胞移植を担当する者と、幹細胞を分離・増殖させる担当者を異なるように配置する。採取した組織は連結可能匿名化を行い、細胞培養者には被験者の名前、性別、年齢を知らせず、番号で細胞を管理する。番号のついた細胞は、細胞移植する担当者に渡され、保管するファイルをもとに、患者名を確認し、被験者に移植する。</p>
	その他	①集積データ・解析データ

		これらのデータには、被験者のプライバシーに関連する個人情報は記載しない。 ②データの保管方法 データは施錠の上、保管する。
その他必要な事項 (細則を確認してください)	① 当該研究に係る研究資金の調達方法	再生医療実現化研究事業に係る、研究課題名「幹細胞による次世代の低侵襲軟骨再生医療の開発と臨床応用」の研究資金として、平成 23-25 年度厚生労働科学研究費補助金の交付を受けています。
	② 既に実施されているヒト幹細胞臨床研究と比較して 新規性が認められる事項	滑膜幹細胞を集合体の状態で移植する細胞治療は初めての試みである。

備考 1 各用紙の大きさは、日本工業規格 A4 とすること。

備考 2 本様式中に書ききれない場合は、適宜別紙を使用し、本様式に「別紙〇参照」と記載すること。

添付書類（添付した書類にチェックを入れること）

- 研究者の略歴及び研究業績
- 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況
- 臨床研究に用いるヒト幹細胞の品質等に関する研究成果
- 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況
- 臨床研究の概要をできる限り平易な用語を用いて記載した要旨
- インフォームド・コンセントにおける説明文書及び同意文書様式
- その他（資料内容：)
- その他（資料内容：)
- その他（資料内容：)

ヒト幹細胞臨床研究の概要をできる限り平易な用語を用いて記載した要旨

研究題名：滑膜幹細胞の集合体による軟骨再生

実施責任者：東京医科歯科大学医学部

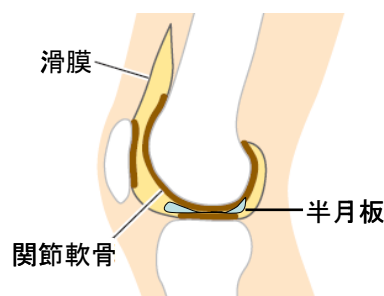
大学院医歯学総合研究科 軟骨再生学

寄附講座教授 関矢 一郎

関節軟骨は再生する能力が低く、欠損したり磨耗すると、自然には修復しません。軟骨に障害があると、痛みや引っかかり感が生じます。ご自身の軟骨組織や人工素材に混ぜた軟骨細胞を移植する手術は、正常軟骨を犠牲にし、関節を大きく切開することが問題となります。現在、最も普及している治療方法は、軟骨欠損部に穴を開け、骨髄から出血を促し、骨髄細胞を誘導し軟骨への分化を期待するものですが、この方法で再生されるものは力学的特性が異なる線維軟骨であり、正常な硝子軟骨にならない点が問題です。

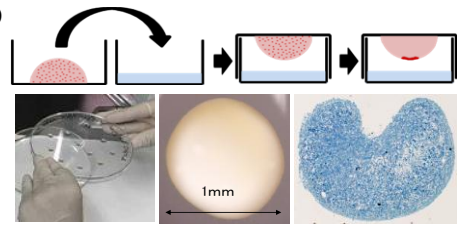
滑膜(図 1)のなかには軟骨になりやすい幹細胞が存在します。私たちは膝関節の軟骨欠損や局所に限定した変形性膝関節症に対して、外来手術で滑膜を採取し、自己血清を用いて滑膜の幹細胞を培養し、関節鏡視下で細胞浮遊液の状態軟骨欠損部に 10 分間静置することにより、幹細胞を移植する再生医療を平成 20 年 4 月より開始しました。1 年以上経過した 10 人中、MRI の検査で軟骨欠損の改善を認めた方が 8 名でした。問題となるような副作用は生じていません。

図 1 滑膜の模式図。滑膜は関節の内側を裏打ちする膜であり、膝の場合、関節軟骨と半月板以外を覆っています。



当院で行なっている滑膜幹細胞の浮遊液を軟骨欠損部に 10 分間静置する方法は、移植する際に細胞を肉眼的に観察できないことや、基礎研究の解析から 6~8 割の細胞しか接着しない点が、改善すべきことと考えています。ハンギング・ドロップ法により細胞の集合体(図 2)を作成すると、移植時に細胞集合体の肉眼的観察が可能となり、重力の影響を受け早く沈み、表面張力により軟骨欠損部への接着が容易となります。本研究の目的は、膝関節の軟骨欠損や局所に限定した変形性膝関節症に対して滑膜幹細胞の集合体を軟骨欠損部に関節鏡視下で移植する軟骨再生医療の安全性を検討することです。

図2 ハンギング・ドロップ法による細胞集合体の作成。(上)作成方法。培養用ディッシュのふたの内側に、細胞浮遊液をのせ、ひっくり返します。重力の影響を受け、細胞は培養液の底に沈み、細胞のかたまりとなります。(下左)培養用ディッシュをひっくり返した際の実際の様子。(下中)3日間培養後の細胞集合体を下から見た肉眼像。直径約 1mmで白く見えます。(下右)集合体を縦割し染色したもの。ハート型をしています。



膝の軟骨損傷と局所に限定した変形性膝関節症患者の方を対象とします。術前に約 200mlの採血をして、約 70mlの自己血清を用意します。局所麻酔と静脈麻酔で外来手術を行ない、関節鏡検査と約 0.5gの滑膜を採取します。細胞治療センターで滑膜を酵素処理後、10%自己血清を添加した細胞培養液で 11 日間培養します。通常約 5000 万個の滑膜幹細胞を回収します。ウィルス、細菌、エンドトキシン検査を行ない問題がない場合、ハンギング・ドロップ培養を開始します。0.04ml の培養液に 10 万細胞を浮遊させ、3 日間培養し、約 500 個の滑膜幹細胞の集合体を用意します。腰椎麻酔で関節鏡視下手術を行ない、滑膜幹細胞の集合体を軟骨欠損部に表面張力で接着させます。移植翌日より膝の可動域訓練、2 週間より部分荷重、6 週間より全荷重を開始します。術前、3.6 カ月後に膝関節の評価と MRI 検査を行ないます。

滑膜幹細胞の集合体による軟骨再生

