

審査報告書

平成 24 年 6 月 5 日
独立行政法人医薬品医療機器総合機構

承認申請のあった下記の医療機器にかかる医薬品医療機器総合機構での審査結果は、以下のとおりである。

記

- [類 別] 機械器具 07 内臓機能代用器
- [一般的名称] ヒト自家移植組織
- [販売名] ジャック
- [申請者] 株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング
- [申請年月日] 平成 21 年 8 月 24 日
- [審査担当部] 生物系審査第二部

審査結果

平成 24 年 6 月 5 日

[類 別] 機械器具 07 内臓機能代用器
[一般的名称] ヒト自家移植組織
[販売名] ジャック
[申請者] 株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング
[申請年月日] 平成 21 年 8 月 24 日

審査結果

「ジャック」（以下、「本品」）は、自家軟骨細胞をアテロコラーゲンゲル中で三次元培養し、自家培養軟骨細胞ーコラーゲンゲル複合体として製品化したものである。膝関節の軟骨全層欠損部位に植込まれ、製品中の培養軟骨細胞が産生する軟骨基質により形成される軟骨様組織によって欠損部位を補綴・修復することで、疼痛や関節機能を改善することを目的として開発された、本邦では初めての整形外科領域に用いる細胞・組織加工製品である。

本品の開発目的に関しては、提出された非臨床試験及び臨床試験の資料から、軟骨欠損部位の補綴と軟骨基質の産生による軟骨組織の修復に関する成績は示されていないものと判断した。

本品の有効性に関しては、臨床試験においては、対象患者が有効性評価を別々に行うべき対象疾患及び疾患部位が混在する集団として設定され、対象疾患の特性の違いに応じた本品の適切な有効性評価がなされていないため、提出された臨床試験成績から本品の有効性を評価することは困難であると判断した。しかし、個々の被験者における本品の有効性について、臨床的観点から個別に評価した結果、本品の寄与の程度は不明確な部分があるものの、移植後 12 カ月時点においては外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎の臨床症状が改善する傾向は認められたと判断した。

本品の安全性については、生物由来製品として感染症リスク等はあるものの、移植後 12 カ月までは忍容可能であると判断した。

以上から、外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎の臨床症状の改善を目的として、他に治療法のない患者に対して新たな治療機会を提供する観点から、標準的な外科的治療法がない軟骨欠損面積が 4cm²以上の対象に限って本品の臨床的意義はあるものと判断した。

ただし、本品を製造販売するにあたっては、本品の臨床的位置付けを踏まえた適正使用がなされるよう、適切な措置を講じることが必要であり、また、臨床試験において得られたデータが極めて限られていることから、製造販売後の一定期間は全例を対象に使用成績調査を行い、本品の有効性及び安全性に関する情報を収集する必要があると考える。

以上、医薬品医療機器総合機構における審査の結果、本品を次の承認条件を付した上で、以下の使用目的、効能又は効果で承認して差し支えないと判断し、医療機器・体外診断薬

部会において審議されることが妥当であると判断した。

【使用目的、効能又は効果】

膝関節における外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎（変形性膝関節症を除く）の臨床症状の緩和。ただし、他に治療法がなく¹、かつ軟骨欠損面積が4cm²以上の軟骨欠損部位に適用する場合に限る。

【承認条件】

1. 本品の有効性及び安全性を十分に理解し、膝関節の外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎の治療に対する十分な知識・経験を有する医師及び施設において、適切な症例を選択して用いられるように必要な措置を講じること。
2. 製造販売後の一定期間は、本品の使用症例の全例を対象に使用成績調査を実施し、本品の有効性及び安全性に関するデータを収集し、必要により適切な措置を講じること。

¹ 医療機器・体外診断薬部会終了後に訂正（訂正前：「他に治療法が無く」）

審査報告

平成 24 年 6 月 5 日

1. 審査品目

[類 別]	機械器具 07 内臓機能代用器
[一般的名称]	ヒト自家移植組織
[販売名]	ジャック
[申請者]	株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング
[申請年月日]	平成 21 年 8 月 24 日
[申請時の使用目的]	1. 適応となる患者及び疾患名 膝関節の全層軟骨欠損の患者を対象とする。 2. 使用が想定される状況 事故等の一過性の外力や、スポーツ等の反復的な外力により軟骨の欠損をきたした上記疾患を有する症例。 ただし、移植部位に関連するアライメントの異常、軟骨下骨の欠損又は壊死がある場合や、骨折、靭帯損傷及び半月板損傷等の合併症のある場合は、合併症に対する治療を行い、本品を適用する。 3. 期待される結果 軟骨細胞を含むアテロコラーゲンゲルにより欠損部を補綴する。また、本品中の軟骨細胞及び軟骨細胞が産生する軟骨基質により、軟骨組織が修復される。 4. 効能又は効果 膝関節軟骨欠損の補綴・修復及び関節機能の改善。
[特記事項]	なし
[審査担当部]	生物系審査第二部

2. 審査品目の概要

本品は、患者自身の軟骨組織から分離した軟骨細胞をアテロコラーゲンゲルに包埋して培養した自家培養軟骨である。本品は、軟骨基質の産生により膝関節軟骨全層欠損の欠損部位を補綴・修復すると共に、関節機能を改善することを目的として開発されたものである。本品の移植に際しては、脛骨近位前内側面等から骨膜を採取し、本品を覆うように縫着、固定し、創を閉鎖する。

3. 提出された資料の概略及び医薬品医療機器総合機構における審査の概略

本申請において、申請者が提出した資料及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下「機構」）からの照会事項に対する申請者の回答、並びにそれらに対する審査の概略を以下に記載する。

本申請については、主に以下の問題点が存在した。

申請時、本品の予定する使用目的において、「本品中の軟骨細胞及び軟骨細胞が産生する軟骨基質により、軟骨組織が修復され」、「膝関節軟骨欠損の補綴・修復及び関節機能の改善」と記載されていたが、品質、非臨床試験、臨床試験のいずれから、それを裏付けるデータは示されていないと機構は判断した（「ロ．物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料」、「ホ．性能に関する資料」、「ヘ．臨床試験成績に関する資料」項参照）。したがって、本品により軟骨組織が修復されると主張する根拠は無く、本品は軟骨組織に対する、いわゆる「再生医療」を目的としたものと位置付けることはできないと考える。

臨床試験においては、対象疾患の選定や有効性の評価方法等、試験デザインに問題点が見られ、申請時の本品の適応対象である「膝関節の全層軟骨欠損のある患者」全てに対して本品の有効性や臨床的位置付けを評価することは困難であると判断した（「ヘ．臨床試験成績に関する資料」参照）。

一方で、申請者が予定するこれら対象疾患の中には、既存療法による十分な治療効果が期待できず、想定される患者数も非常に少ないために臨床試験の実施が困難な対象も含まれていることから、これら希少かつ既存療法に限界のある患者に対する新しい治療選択肢としての本品の可能性を検討するため、機構は、本臨床試験により得られた治療成績を最大限に活用し、被験者各々における本品の有効性について臨床的観点から個別に評価を行った。

上述の本申請の主な問題点の詳細及び機構が検討した結果等を以下に報告する。

イ．起原又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

<提出された資料の概略>

(1) 起原又は発見の経緯及び開発の経緯

関節軟骨は、組織学的には軟骨細胞、コラーゲン、プロテオグリカン、水分等を含む細胞外マトリックスから構成される硝子軟骨であり、関節の静的及び動的負荷に耐えうる構造及び機能を有する。外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎のように、関節への過大な負荷により軟骨欠損を生じた場合、軟骨組織の修復能は低いために関節軟骨の自然修復は期待できず、疼痛、関節腫脹、関節可動域の制限等の臨床症状を呈し、長期的には、軟骨細胞の特性変化及び軟骨下骨の損傷等により二次性の変形性関節症に移行する。

膝関節の軟骨欠損の治療法としては、保存治療として温熱療法、冷療法及び両療法に併用して薬物療法が実施されるが、これらは対症療法であり、その効果には限界がある。外科的治療法としては、①関節デブリドマン、②骨穿孔法及び③自家骨軟骨柱移植術が行われる。

①関節デブリドマンは対面の軟骨の保護を目的として、関節鏡手術で欠損部周辺を滑らかにする方法であり、欠損自体を修復するものではない。②骨穿孔法は、軟骨下骨に穿孔をあけて血液や骨髄の漏出を促すことで血液中及び骨髄中の細胞による軟骨組織の修復を図るものであるが、形成される組織は脆弱な線維軟骨であることから長期的には摩耗すると考えられ、適用面積も1cm²程度までの比較的小さな欠損に限定される。③自家骨軟骨柱移植術は、患者自身の非荷重部から採取した正常な硝子軟骨を含む骨軟骨柱を移植するこ

とから、硝子軟骨で欠損を修復できる利点はあるものの、欠損面積と同程度の骨軟骨を採取する必要があるため適用面積が限られる。

近年、骨穿孔法での脆弱な線維軟骨による修復に伴う長期予後不良の問題（Gudas R, *et al. Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, 14:834-842, 2006）やドナー部位不足で自家骨軟骨柱移植術が困難である等の問題を解決できる新たな治療法として、患者自身の膝関節非荷重部から軟骨組織を少量採取し、分離・単層培養した軟骨細胞を含む細胞懸濁液を欠損部へ移植する方法が試みられている（高岡邦夫, *標準整形外科学第10版* 56-59, 2008 医学書院、Brittberg M, *et al. N. Engl. J. Med.*, 331:889-895, 1994）。しかし、単層培養によって軟骨細胞が脱分化すること、細胞懸濁液が術後早期の荷重負荷等によって移植部から漏出する可能性が問題点として指摘されている。越智らは、これらの問題解決を期待し、1997年からアテロコラーゲンゲルに自家軟骨細胞を包埋した三次元培養法による自家培養軟骨を開発した（Ochi M, *et al. J. Bone Joint Surg. Br.*, 84:571-578, 2002）。

本品は、申請者が越智らの方法の技術移管を受けて開発した自家培養軟骨である。今般、本邦において 2004 年から実施された外傷性軟骨欠損症（靭帯損傷合併症を含む）、離断性骨軟骨炎及び変形性膝関節症を対象とした臨床試験成績等に基づき、承認申請された。

(2) 外国及び国内における使用状況

2012 年 6 月現在、本品が承認されている国・地域はなく、また、現在までに本邦において製品化された自家培養軟骨はない。海外においては、本品に類似したアテロコラーゲン等のマトリックスを利用した自家培養軟骨は承認されていないが、単層培養による自家培養軟骨製品として次のものがある。米国 Genzyme Tissue Repair 社の「Carticel[®]」が 1997 年に米国で Biologics として承認され、これまでに 14,000 例以上の使用経験があるとされている。韓国においては、Cellontech 社の「Chondron[™]」が 2001 年に bio-pharmaceutical product として承認されている。また、欧州では 2009 年 6 月にベルギー TiGenix 社の「ChondroCelect[™]」が欧州医薬品庁から Positive Opinion の審査結果を受け、同年 10 月に Advanced Therapy Medicinal Products として承認されており（http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000878/WC500026033.pdf）、これまでに約 700 例の使用経験があるとされている。

< 確認申請時の指摘事項 >

細胞・組織加工医薬品等に該当する本品については、平成 13 年 9 月 7 日付けで「細胞・組織を利用した医療用具又は医薬品の品質及び安全性の確保について」（平成 11 年 7 月 30 日付け医薬発第 906 号厚生省医薬安全局長通知）に基づき、治験計画の届出を行う前に、厚生大臣に当該治験用具の安全性及び品質の確認を行う申請（以下「確認申請」）が提出された。平成 15 年 4 月 25 日開催の薬事・食品衛生審議会薬事バイオテクノロジー部会で審議継続とされ（<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2003/04/txt/s0425-2.txt>）、当該部会で指摘された事項への対応状況について平成 16 年 2 月 6 日開催の薬事・食品衛生審議会生物由来技術部会において審議され、平成 16 年 2 月 19 日付けで確認されたが、以下の事項について検討するよう指摘された（<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2004/02/txt/s0206-1.txt>）。

- ・ 無血清培地、自己血清培地を用いた培養方法の検討

- ・最終製品に残留するウシ血清アルブミン量の規格値への設定
- ・イヌ（ビーグル犬）等の適切な動物を用いた試験による本品の有用性の検証
- ・対象患者を適切に選択するための判断基準の明確化等、治験の科学的、倫理的な実施及び同意説明文書への記載

ロ. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料

<提出された資料の概略>

(1) 原材料

1) 軟骨組織の採取、運搬及び受入れ

原材料となる患者由来の軟骨組織は、採取後に関節機能に影響が生じないと考えられる非荷重部（大腿骨近位又は大腿骨顆間部）の関節軟骨の輝板、表層、中間層及び深層を、製造個数及び製品の有効径により 0.2g 又は 0.4g を目安として担当医師が採取する。骨細胞、骨芽細胞、骨髄細胞等が存在する石灰化層、軟骨下骨及び海綿骨は避け、関節内遊離体（遊離軟骨片）からは採取しない。採取した軟骨組織は、ダルベッコリン酸緩衝液（DPBS）に浸漬して組織運搬用チューブに入れ、専用の断熱輸送容器で製造所に輸送する。

製造所での受入れ時には、断熱輸送容器が封印されていること、発送から 84 時間以内であること、組織運搬用チューブの破損・液漏れがないこと及び軟骨組織が組織運搬液中に浸漬されていることを確認する（表 1）。軟骨組織は必要に応じて 2～20℃で保存し、採取から 2 時間以内に製造を開始する。軟骨組織は患者の自己由来であるため、ドナースクリーニングは実施されないが、製品の製造や治療の成否の確認、患者等が感染症を発症した場合の原因究明の観点から、採取した血液を 4℃以下で平成 16 年 12 月 17 日厚生労働省令第 169 号に定める特定生物由来医療機器等²の製造に使用した生物由来原料の保存期間を参考に、製品の有効期間に 10 年を加えた期間を保存する。

表 1 軟骨組織の受入れ検査

	検体	試験方法等
組織運搬状況の確認	組織運搬用チューブの入った断熱輸送容器	①断熱輸送容器が封印されていること、②医療機関へ断熱輸送容器を発送してから、採取組織の受入れまでの時間が 84 時間以内であること（①又は②を満たさない場合は軟骨組織を廃棄）
軟骨組織の外観の確認	軟骨組織の入った組織運搬用チューブ	①組織運搬用チューブの破損・液漏れを認めないこと、②軟骨組織が DPBS 中に浸漬されていること（①又は②を満たさない場合は製造の継続について医療機関に連絡・協議する）

2) 軟骨組織以外の生物由来原料

アテロコラーゲンはウシ（XXXXXXXXXX産）真皮より製造され、ウイルス不活化/除去を目的として「洗浄、水洗、酵素処理、イオン交換体処理」及び「アルカリ処理」が行われたXXXXXXXXXX

XXXXXXXXXXと同一のアテロコラーゲンを使用する。ウシ胎児血清は、オーストラリア又はニュージーランドが原産国の健康なウシに由来し、EMEA/CPMP/BWP/1793/02 又は FDA 9CFR113.53 に準拠したウイルス否定試験を実施し、更に γ 線照射を行ったものを使用する。トリプシンは健康なブタ膵臓に由来し、FDA 9CFR113.53 に準拠したウイルス否定

²医療機器・体外診断薬部会終了後に訂正（訂正前：「特定生物由来医療機器の」）

試験を実施し、γ線照射を行ったものを使用する。当該トリプシンには米国産ウシ乳由来のラクトースが添加剤として含まれている。注射用アムホテリシン B は医薬品（販売名：ファンギゾン注射用 50mg、承認番号：22000AMX00242000）であり、当該医薬品に含まれるデスオキシコール酸ナトリウムは健康なウシ（ 、 、 、 産）及びヒツジ（ 産）の胆汁に由来する。

製品の製造や治療の成否の確認、患者が感染症等を発症した場合の原因究明の観点から、ウシ胎児血清及び トリプシン 溶液はロットあたり約 mLを、平成16年12月17日厚生労働省令第169号に定める特定生物由来医療機器等³の製造に使用した生物由来原料の保存期間を参考に当該ロットを用いて製造された最後の製品の有効期限に10年を加算した期間、 °C以下で保存する。

(2) 本品の作製及び出荷

1) 製造方法

組織運搬用チューブから組織運搬液（DPBS）を除去し、 希釈液、次いで により 回洗浄する。軟骨組織を 溶液中で ±°C、 時間、次いで 溶液（ vol%、 vol%、 溶液 vol%、 vol%、 vol%、 units/mL）中で ±°C、 時間振盪し、 µm及び µmの 後、遠心により回収した軟骨細胞を細胞懸濁液調製培地（ vol%、 vol%、 溶液 vol%、 vol%、 vol%）で洗浄後、生細胞濃度が ～ 個/mLとなるよう同培地で懸濁する。細胞懸濁液とアテロコラーゲン（コラーゲン濃度 ～ %）を の比で混合し、播種細胞密度 ～ 個/cm³で、培養容器に内径 mm、 mm、 mm又は mmの を用い円盤状になるよう播種し成型する。 を取り除いて ±°C、 ～ 分間静置してアテロコラーゲンをゲル化させた後、容器あたり mLの軟骨培養用培地（ vol%、ウシ胎児血清 vol%、 溶液 vol%、アムホテリシン B 溶液 vol%、ゲンタマイシン硫酸塩注射液 vol%、 vol%）を加え ±°C、 % の条件下で、 ～ 日毎に培地交換して 日間培養する。

軟骨培養用培地を除去して で 回洗浄後、 が入った洗浄用容器中で ±°C、 ～ 時間振盪洗浄する。

製造工程において実施される工程検査及び出荷検査は表2、表3に示す。

³医療機器・体外診断薬部会終了後に訂正（訂正前：「特定生物由来医療機器の」）

表2 工程検査

	検体	試験方法等										
(軟骨細胞の分離操作開始時)		(不適合の場合は軟骨組織を廃棄)										
培養容器内の細胞の形態観察 () 及び ()	培養容器の ()	1) 目視観察 ① ()、② ()、③ ()、④ ()、⑤ ()、⑥ () (①、②、③、⑥に不適合の場合、該当容器を廃棄、④に不適合の場合は () 場合は該当容器を廃棄、⑤に不適合の場合、 () である場合は該当容器を廃棄) 2) () 倍以上 ① ()、② () (①に不適合の場合は該当容器を廃棄、②に不適合の場合は全廃棄)										
培養軟骨の形態保持確認試験 ()	培養軟骨の ()	() を用いて、 () (不適合の場合は該当する培養軟骨を廃棄)										
培養軟骨の外観試験 ()	培養軟骨の ()	① () であること ②直径が許容範囲内であること <table border="1"> <thead> <tr> <th>有効径 (mm)</th> <th>許容範囲 (mm)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>10</td> <td>10~13</td> </tr> <tr> <td>15</td> <td>15~18</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>20~23</td> </tr> <tr> <td>25</td> <td>25~28</td> </tr> </tbody> </table> ③ () (不適合の場合は該当する培養軟骨を廃棄)	有効径 (mm)	許容範囲 (mm)	10	10~13	15	15~18	20	20~23	25	25~28
有効径 (mm)	許容範囲 (mm)											
10	10~13											
15	15~18											
20	20~23											
25	25~28											

表3 規格及び試験方法 (出荷検査)

	検体	試験方法等
生菌数試験 ()	() の () より採取した () の混合液	日本薬局方 一般試験法 微生物限度試験法 生菌数試験 (メンブランフィルター法) に従って試験してコロニーの形成を認めないこと (不適合の場合は全製品を廃棄)
マイコプラズマ否定試験 ()	() の () より採取した () の混合液	PCR により検出を認めないこと (不適合の場合は全製品を廃棄)
()	最終製品の ()	① ()、② ()、③ () (①が不適合の場合は該当する培養軟骨を新たな輸送容器に包装し直す、②が不適合の場合は () 該当製品は廃棄、③が不適合の場合は該当製品を廃棄)
培養軟骨の生細胞密度確認試験 ()	品質管理用検体	() 個/cm ³ 以上 (不適合の場合は全製品を廃棄)
培養軟骨の生細胞率の確認 ()	品質管理用検体	生細胞率が () % 以上であること (不適合の場合は全製品を廃棄)
培養軟骨の () の確認 ()	品質管理用検体	() が播種細胞数の () 以上 (不適合の場合は全製品を廃棄)
培養軟骨の () 濃度確認試験 ()	培養軟骨の生細胞密度確認試験に使用した ()	() により測定された () 濃度が () µg/cm (不適合の場合は全製品を廃棄)
培養軟骨の () の確認試験 ()	培養軟骨の生細胞密度確認試験に使用した ()	() を用いた検出による () が () % (不適合の場合は全製品を廃棄)
培養軟骨の () の確認試験 ()	品質管理用検体	() による測定で () が () ~ () mm であること (不適合の場合は全製品を廃棄する)

培養軟骨のウシ血清アルブミン (BSA) 残留量確認試験 ()	品質管理用検体	を用いた測定による BSA 残留量が $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 以下であること (不適合の場合は全製品を廃棄する)
エンドトキシン試験 ()	品質管理用検体	日本薬局方 一般試験法 エンドトキシン試験法 ゲル化法に従った試験でエンドトキシン濃度が EU/cm^3 であること (不適合の場合は全製品を廃棄する)

*培養軟骨の の規格値は、臨床試験時の実測値から算出しておらず、変形性膝関節症患者由来の膝関節軟骨を用いた特性解析結果から算出(「(3) 物理的・化学的性質 1) 変形性膝関節症患者由来の膝関節軟骨を用いた特性解析」参照)。

2) 包装、表示及び出荷

培養軟骨を輸送容器内の培養軟骨輸送液 () vol%、 () 溶液 () vol%、 () 溶液 () vol%) 中に浸漬し、キャップを閉め、輸送容器に「販売名」、「製造番号」及び「使用期限」を記載したラベルを貼付する。 (表 3) に適合した最終製品を、外部温度 $^{\circ}\text{C}$ 又は $-^{\circ}\text{C}$ 下で $^{\circ}\text{C}$ を 時間以上保持できる性能の断熱輸送容器に梱包して温度 $\pm^{\circ}\text{C}$ で保管し、出荷検査 (表 3) の適合を確認した後、出荷する。なお、出荷検査に使用した残りの軟骨細胞は製品の製造や治療の成否の確認、患者等が感染症を発症した場合の原因究明の観点から、 $-^{\circ}\text{C}$ 以下で平成 16 年 12 月 17 日厚生労働省令第 169 号に定める特定生物由来医療機器等⁴の製造に使用した生物由来原料の保存期間を参考に本品の有効期間に 10 年を加算した期間保存される。

医療機関の受入れ時には、断熱輸送容器の封印、輸送容器ラベルの製造番号中の組織コードの照合、寸法及び納入個数及び目視 (培養軟骨輸送容器のひび割れ、欠け、液漏れ、培養軟骨輸送液の濁り及び異物がないこと) を確認後、使用直前まで $8\sim 25^{\circ}\text{C}$ の貯蔵条件で保管される。

3) 製造工程中の取り違え防止対策

患者軟骨組織及び細胞の取違え防止を目的として、 () 等の組織コードによる識別管理、複数症例に由来する細胞の同一区域内での作業禁止、作業記録による追跡調査対応及び作業従事者に対する教育訓練が行われる。

本品は自己由来細胞を使用した製品であるため、感染症等に関するドナースクリーニング及び採取された軟骨組織に対する受入れ試験は実施されない。また、取り違え防止、製造時における培養細胞の汚染及び培養細胞から製造施設等の周囲への汚染 (クロスコンタミネーション) のリスク低減の観点から、1 作業区域内で取り扱う患者細胞・組織は 1 症例に由来する検体のみとしている。

汚染防止対策の適切性について、患者の感染症検査結果に関する情報が医療機関から得られる場合は事前に入手し、クロスコンタミネーションについては、施設設備や器具、作業従事者を介した汚染防止策を適切に行うと説明している。

(3) 物理的・化学的性質

特性解析として、以下の 2 つの成績が提出された。

⁴医療機器・体外診断薬部会終了後に訂正 (訂正前:「特定生物由来医療機器の」)

1) 変形性膝関節症患者由来の膝関節軟骨を用いた特性解析

変形性膝関節症患者 3 例に由来する膝関節軟骨組織、中間製品（製造 日目）、最終製品（製造 日目）及び長期培養製品（製造 日目）を酵素処理して得られた懸濁細胞を固定し、免疫染色（軟骨細胞）、免疫染色（軟骨細胞）、免疫染色（細胞、細胞）、免疫染色（細胞、細胞）、染色（細胞）、染色（骨芽細胞）が実施された（表 4）。培養期間に伴い、陽性細胞は維持又は増加、陽性細胞及び陽性細胞は顕著な増加を認めた一方、陽性細胞は顕著に減少した。また、染色陽性細胞は培養期間中に認められず、染色陽性細胞は、検討した 3 検体中 検体の最終製品及び長期培養製品に認められた。

表 4 3 症例由来の検体の各種染色における陽性細胞含有率

症例 ID	症例 1				症例 2				症例 3			
	軟骨組織	中間製品	最終製品	長期培養製品	軟骨組織	中間製品	最終製品	長期培養製品	軟骨組織	中間製品	最終製品	長期培養製品
免疫染色	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
免疫染色	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
免疫染色	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
免疫染色	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
染色	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
染色	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

また、各段階の製品の組織標本について、免疫染色、免疫染色、染色（）、染色（）及び染色を実施したところ、最終製品及び長期培養製品の染色では、表層に著しく増殖した又はの細胞が、中層及び深層にの細胞が認められた。染色では、製品の表層に存在する細胞はほとんど染色されず、中層及び深層に存在する細胞で染色が認められた。、及び染色では全ての製品で染色が認められ、の存在が示唆された。

以上から、本品の中層及び深層には、及びを共に発現している軟骨細胞が存在し、表層には、及びを発現しており、脱分化とは異なる状態の細胞が存在すると考察されている。

加えて、各段階の製品について、工程検査（表 2）のうち、「培養容器内の細胞の形態観察」、「培養軟骨の」、及び「培養軟骨の外観検査」が実施され、中間製品及び最終製品では全て適合という成績であったが、3 検体中 検体において長期培養製品での「培養軟骨の外観検査」においてによる不適合が生じ、培養軟骨への細胞の混入が原因である可能性について推察されている。

2) 臨床試験時の検体を用いた特性解析

臨床試験に用いられた 32 症例由来の製品（32 検体）の細胞外マトリックスに関する特性解析の結果は表 5 のとおりであった。この結果について、申請者は以下のように考察している。

表 5 臨床試験時の検体を用いた細胞外マトリックスの解析結果（陽性症例数）

		変形性膝関節症 (6例)	離断性骨軟骨炎 (6例)	外傷性軟骨欠損症 (20例)	計 (32例)
組織染色	染色	■	■	■	■
	免疫染色	■	■	■	■
RT-PCR 解析	■	■	■	■	■
	■	■	■	■	■
	■	■	■	■	■

■染色及び■染色を行ったところ、それぞれ 32 検体中■検体及び■検体が陽性であった。また、同じ検体を用いた RT-PCR 法による解析では、■、■、■及び■についてそれぞれ 32 検体■検体、32 検体中■検体、32 検体中■検体及び 32 検体中■検体で mRNA の発現が認められた。

■は、■細胞又は■細胞で発現が見られるが、本試験の結果では■検体で mRNA の発現が認められた。このことは、アテロコラーゲンゲルに軟骨細胞を包埋して培養する本品において、■細胞が存在することを示すものと考えられる。また、■は、■軟骨細胞に発現することが知られており、本試験においては 32 検体中■検体で mRNA の発現が見られた。培養軟骨における■の発現の意義は明らかではないが、モデル動物を用いた移植試験において、培養軟骨移植後に軟骨下骨における■が認められていることから、移植後の■に關与する可能性も考えられる。

(4) 規格及び試験方法等の品質管理

製造工程における品質管理として、受入れ検査（表 1）、工程検査（表 2）、出荷検査（表 3）の他、確認検査（表 6）を設定している。

表 6. 確認検査

	検体	試験方法等
マイコプラズマ否定試験	■の■より採取した■及び■より採取した■の混合液	指標細胞を用いた DNA 染色法
無菌試験	■の■より採取した■及び■より採取した■の混合液	日本薬局方 一般試験法 無菌試験法 メンブランフィルター法

また、「細胞外マトリックスの遺伝子発現」及び「培養軟骨の硬さ測定」等については、検討を行ったものの規格及び試験方法として設定することは、「(2) 品質管理及び製造条件の設定について 1) 規格試験項目及び規格値の妥当性について」、「(3) 確認申請時の部会の指摘への対応について」にて後述する理由から問題点があると説明されている。

<機構における審査の概略>

(1) 特性解析について

1) 検体の妥当性について

機構は、原材料となる軟骨組織及び培養軟骨製品の品質特性が、由来となる疾患毎に異なる可能性があると考え、人工膝関節置換術を必要とする変形性膝関節症患者の軟骨組織由来の製品を用いた特性解析(表4)では、通常は軟骨に存在しない[]染色陽性細胞(骨芽細胞)が製品中に認められている。以上を踏まえ、変形性膝関節症患者由来の関節軟骨組織及び製品の特性解析試験の成績を、病態の異なる外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎由来の関節軟骨組織及び製品についても外挿可能と判断した理由・根拠について申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

臨床試験に供した製品の品質は、由来となる疾患の間で差異が認められていないことから、各疾患における軟骨採取部は健全な軟骨の状態が保たれており、断言はできないものの採取軟骨の品質あるいは特性に大きな相違はないと考える。特性解析で用いた変形性膝関節症由来の軟骨組織については、人工関節置換術の適用に至るまで病態が進行した患者に由来するものであったことが、[]染色陽性細胞(骨芽細胞)が製品中に認められたことの原因であると考え。一方、健全者からの軟骨採取は極めて困難であるため、利用可能かつ健全な軟骨に最も近いものとして、変形性膝関節症由来の軟骨組織を用いることとした。以上を踏まえ、外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎由来の関節軟骨の性状と同一とは言いきれないものの、変形性膝関節症由来の軟骨組織については、製品が規格に適合した場合、健全な軟骨組織に近いと考えられることから、外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎由来の関節軟骨組織及び製品についても外挿利用可能と考える。

機構は、以下のように考える。

申請者の述べるように健全軟骨の採取の困難性は理解できるものの、品質特性について最大限の比較考察を実施せずに、外挿可能性の結論を判断することは問題であると考え。

そこで機構は、特性解析において用いられた変形性膝関節症を由来とする[]検体から製造された最終製品、臨床試験に用いられた最終製品(正常軟骨を由来とする[]検体、及び変形性膝関節症を由来とする[]検体、以下「臨床試験検体」、及び製造工程のバリデーションを取ることを目的に用いられた変形性膝関節症を由来とする[]検体から製造された最終製品との間で、本品の品質特性を理解する上で重要と考える以下の項目のデータの比較考察を行った。

- ①生細胞密度(個/cm³)
- ②生細胞率(%)
- ③培養軟骨の[]
- ④[]濃度(µg/cm³)
- ⑤[]の確認(陽性検体数)
- ⑥[]の確認(陽性検体数)

申請者の提示している各検体間の試験方法や条件等の違いがあり、製品特性が由来とな

る疾患に依存しないことを確認するためには、①～⑥の項目について同一の試験方法や試験条件によりデータを取得し比較検討することや、①～⑥の特性に関する項目に加え、規格として設定されている[]を用いた[]、目的細胞として申請者が重要と主張する[]及び[]共陽性細胞の含量、軟骨基質の含量、目的外細胞の種類と含量等に関して情報を得て比較考察することが考えられることから、機構が行った比較考察には限界はあると考えるものの、得られたデータの範囲では、由来となる疾患に依存する顕著な品質の差異は認められなかった。

以上より、製品特性に関しては極めて限られた情報しか得られていないものの、機構が行った本品の特性において重要と考えられる項目についての考察、及び新たな検体の入手の困難性を考慮し、機構は、変形性膝関節症患者に由来する軟骨を用いた検体の情報を、製品特性の参考として利用することはやむを得ないと考える。ただし、特性解析に関しては、後述の「2) 製品を構成する細胞の特性について」に記載する内容と併せ、患者から同意を取得の上、製造販売承認後の製品の出荷用検体等を用いて、非荷重部の関節軟骨由来の製品に関し、さらなる特性解析に関する検討・比較考察を継続して行い、必要に応じて適切に品質管理に反映することが必要と考える。

2) 製品を構成する細胞の特性について

機構は、本品の目的細胞及び目的外細胞について次の説明を求めた。

本品の特性は[]及び[]産生細胞が存在することと定義されている一方、本品には[]陽性であっても[]の産生を認めない細胞も存在する(表4)。そこで、①本品の機能発現・維持に求められる軟骨細胞のみ有する品質特性についての説明、また、②[]細胞の混入が長期培養品における[]に伴う規格逸脱の要因ではないかと申請者が考察していることを踏まえ、本品に含まれる目的外細胞の種類及び当該細胞の混入を管理・規定する必要性についての説明を、それぞれ求めた。

申請者は、以下のように回答した。

本品の機能発現・維持のために必要な細胞の特性は[]陽性であり、少なくとも軟骨細胞が有する特性を維持していることであると見え、出荷試験において[]の発現及び[]の産生量を確認する。特性解析に用いられた製品中の細胞が、元々関節軟骨を構成していた細胞であるにもかかわらず、[]及び[]共陰性細胞が含まれる成績が得られた原因として、目的外細胞の混入の可能性等も考えられるものの、検出の際に必要な[]により[]及び[]の染色性が変化し、軟骨細胞であるにもかかわらず陰性となった可能性が考えられる。また、本品の表層に存在する細胞は[]陽性細胞が認められない一方、中層から下層にかけて存在する細胞は[]及び[]共陽性であり、当該細胞の存在及び産生基質の存在が、有効性に寄与していると考えられる。

目的外細胞については、本品に含まれる細胞を全て特定する手法が確立されていないことから、特性解析では「[]細胞」、「[]細胞」及び「骨芽細胞」を混入する可能性のある代表的な細胞として評価した。[]細胞、[]細胞及び骨芽細胞以外にも血球等も混入する可能性も考えられるが、混入の可能性は低く、混入したとしても製造工程で特異

的増殖を示すことはないと考え。また、 細胞については最終製品において の確認試験を行うことで間接的に混入の検査を行うことになる。以上に加え、臨床試験で混入細胞に起因すると考えられる有害事象は認められていないことや評価に必要な細胞の量を踏まえた実施可能性等を考慮すると、目的外細胞の混入を管理・規定する必要はないと考える。

機構は、以下のように考える。

現時点では、本品の目的細胞、軟骨基質、目的外細胞に関する情報は極めて限られており、申請者の考察は推測の域と言わざるを得ない。

目的細胞については、機能発現に重要と考えられている 及び 共陽性細胞の製品中の含量、並びに、製造工程における含量の推移・変化を確認し、製品特性に関する情報を得ること、加えて、当該情報に基づき製造工程及び品質管理法の適切性を確認しておくことが必要と考える。

軟骨基質については、臨床試験時の出荷試験用検体を用いて の含量を定量しているが、その他に軟骨基質を構成し本品の有効性に関わると想定される 及び の含量に関する詳細な情報の検討はない。また、軟骨基質は、種々のプロテオグリカン及びヒアルロン酸等の多様な分子から構成されていることから、本品の機能発現に関連する可能性のある軟骨基質については、検討の余地があると考え。

目的外細胞について申請者は、 細胞の混入は、特性解析時の長期培養品の に伴う規格逸脱の要因ではないかと考察し、「培養軟骨の外観試験」(表2)において製品の を測定することで間接的に混入を検査すると説明している。しかし、混入が規格逸脱の原因となり得るのであれば、混入の許容範囲を設定することの必要性が高いと考えられるが、その検討はされていない。事実、本品は培養工程を経過することで製品中の目的細胞及び目的外細胞の が変化することは、「各種染色における陽性細胞含有率」(表4)からも明らかである。目的細胞及び目的外細胞の種類や含量については、積極的に情報を収集し、その結果に基づいて製造方法の見直しや品質管理項目の設定等の必要性について継続的に検討する必要があると考える。

(2) 品質管理及び製造条件の設定について

1) 規格試験項目及び規格値の妥当性について

機構は、培養軟骨の 濃度確認試験の規格値、及びBSA残留量の規格値について、それぞれの設定根拠について申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

 濃度確認試験については、本品の特性として重要なのは軟骨基質産生能を有する細胞が存在することであり、軟骨基質の産生さえ確認できれば定量は必要ないと考えため、バリデーションを行った市販の検出キットの検出下限に基づく設定は適切と考える。

また、BSA残留量の規格値設定については、BSA残留量と培養軟骨の には が認められるものの、測定値のばらつきが大きく製品の に規格値を設定することは

困難なことから、規格値は製品のうち■■■■ mm の製品■■例における実測値（■■■■ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ）の平均値+3SD（■■■■ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ）に基づき、規格値を■■■■ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 以下と設定した。BSA 残存量の低減に関しては、製造工程中に洗浄工程が設定されており、現時点ではこれ以上の低減措置は技術的に困難である。残留する BSA の安全性については、次のように考える。臨床試験における BSA 残留量の規格値は■■■■ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 以下とされており、全被験者 32 例において BSA に起因すると考えられる有害事象は観察されず、本品移植後■■カ月及び■■カ月の牛肉アレルギー検査において陽性反応を呈した症例も認められなかった。また、本品の使用によって体内に移行する BSA 量は、米国で使用されている同種培養真皮製品 Apligraf[®]と比較して十分に低い値と考え、本品に残留する BSA に起因するアレルギー関連の有害事象の発現頻度は低いと考える。以上より、BSA 残留量の規格値■■■■ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 以下は適切と考える。

機構は、以下のように考える。

■■■■濃度確認試験の規格値の設定根拠に関する以上の回答を了承した。

また、BSA 残留量の規格値の設定根拠に関する回答は理解できる。なお、臨床試験における暫定規格値は■■■■ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 以下であったものの、実測値の最大値は■■■■ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ であり、申請者が設定している■■■■ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 以下と差が認められるが、「二. 電気的安全性、生物学的安全性、その他の安全性に関する資料 (2) 最終製品に残留する生物由来原料、抗生物質等に関する安全性 1) BSA 残留量に関する安全性」に後述する申請者の考え及び対策から■■■■ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 以下に設定することは受入れ可能と考える。

ただし、■■■■濃度確認試験の規格値、及び BSA 残留量の規格値に関しては、積極的に品質に関するデータ及び臨床使用実績を蓄積し、品質管理試験の方法や規格値について継続的な検討を行い、さらなる品質向上を目指すことが望ましいと考える。

2) 本品の製造工程で用いられる生物由来原料について

機構は、本品の製造工程において用いられる原材料について、生物由来原料基準が適用される原材料を列挙し、それらの生物由来原料基準への適合性を明確にするよう求めた。

申請者は、以下のように回答した。

申請資料に記載した本品の製造に用いられる生物由来の原料は生物由来原料基準に適合することを確認している。申請時の資料に記載していないものとして、本品の製造工程において患者由来の軟骨組織の処理に用いるコラゲナーゼに、生物由来の原材料が含まれる。当該コラゲナーゼの製造工程を確認したところ、生物由来原料基準に適合しない原料が用いられていることが確認されたため、製造元の異なるコラゲナーゼに変更することとする。変更後のコラゲナーゼは、その製造工程において■■■■産ウシ乳由来カゼインが使用されており、培地成分としてオートクレーブ処理 (121°C、20 分高圧滅菌処理) され、生物由来原料基準に適合する。ただし、変更後のコラゲナーゼを用いた本品製造時の処理条件 (コラゲナーゼ溶液の組成、酵素の活性、処理時間等) の設定については、ヒト軟骨を入手して検討を行うことは時間を要するため、■■■■軟骨を用いた検討を行った。■■■■軟骨とヒト軟骨の組成等の異同についての情報は乏しいものの、軟骨組織の厚みから、ヒト

軟骨よりも████軟骨において酵素消化されやすいと考え、████軟骨を用いた検討結果等から予測される範囲を、本品のコラゲナーゼ処理条件として設定したい。変更後の処理条件は、コラゲナーゼ溶液（████ vol%、████ vol%、████ 溶液 █████ vol%、████ vol%、████ vol%、コラゲナーゼ █████ ~ █████ U/mL）中で █████ ± █████ °C、最大 █████ 時間である。なお、コラゲナーゼ溶液中の██████████は████ vol%から████ vol%に増加するが、コラゲナーゼ処理後に軟骨細胞を細胞懸濁液調製培地で洗浄する工程があるため、最終製品に残留する██████████には影響しないものと考ええる。

機構は、以下のように考える。

コラゲナーゼの変更に伴う製造工程におけるコラゲナーゼ処理条件の検討については、バリデーションを実施して適切に設定することが必須であるが、その検討が行われていないことから、████軟骨を用いたコラゲナーゼ処理条件の妥当性の確認を早急に実施し、処理条件が確認された後に本品の製造を開始することが必要と考える。

3) 品質管理及び製造条件の総括

機構は、以下のように考える。

本品の品質管理及び製造管理に関しては、工程検査及び出荷試験において、感染性物質に関する試験、軟骨細胞及び軟骨基質に関する試験、最終製品における BSA 残留量に関する試験等が適切に設定されており、一定の品質は確保され则认为。

しかし、品質管理及び製造管理は、特性解析において製品の特性・特徴を詳細に分析して製品に関する基礎的なデータを収集し、それに基づき、目的とするものが得られていることを確認するとともに、製品の品質を確保する上で重要な指標を品質管理項目として設定することが基本である。また、製品の特性解析を行うことにより、製造工程の恒常性の確認、より適切な製造条件の設定及び工程内の管理試験を含めた品質管理方法の設定が可能となるものと考ええる。

本品の場合、製造・品質に関するデータを取ることを目的として正常軟骨組織を入手することに困難があることは理解する。それゆえ、臨床試験時の検体を用いて本品の品質管理及び製造工程の妥当性の確認に重要な製品特性に関するデータを取得し、臨床試験の進行と共に品質管理方法を充実・整備を図るべきであったと考える。しかし、特性に関するデータは一部しか取得されておらず（「(1) 特性解析について 1) 検体の妥当性について」に前述）、開発者の責務として、本品の性質・特性の理解を深めようとする姿勢は、極めて脆弱であると考ええる。

本品については、今後より適切な製造条件及び品質管理方法を検討することにより、さらなる品質改善の余地があることから、正常軟骨由来の検体に関して適切な同意取得等の手続きを踏んだうえで、以下の情報の入手を含めた特性解析を継続して行い、必要に応じて製造販売承認後一部変更承認申請を行う等、適切に品質管理に反映する必要があると考える。

- ・ 目的細胞の種類とその含有量（率）に関する情報
- ・ 目的外細胞の種類とその含有量（率）に関する情報

・軟骨基質の種類とそれらの量に関する情報

また、本品の製造に用いる原材料の生物由来原料基準への適合性に関して、十分な確認及び対応がなされずに承認申請が行われ、さらに、原材料であるコラゲナーゼの変更に際して必須な製造条件の検討がなされていなかったことから、製品の品質及び安全性確保に対する申請者の考え・対応に疑問を持たざるを得ない。当該酵素処理における適切な製造条件の検討を早急に行うことが必要と考える。

(3) 確認申請時の部会の指摘への対応について

本品は確認申請に際し、細胞・組織利用医薬品等検討小委員会、薬事バイオテクノロジー一部会及び生物由来技術部会から、試験実施等を含めた検討及び対応を行うよう 64 項目の指摘がなされている。そのうち承認申請時までに対応が求められていた 5 項目の指摘事項及び申請者の対応について以下に示す。

指摘事項 1：最終製品の代表的な圧縮弾性率を測定し、後日示すこと。

申請者の対応等は、以下のとおりである。

ヒト軟骨組織から作製された本品ではなく、ウサギ軟骨組織から作製された同等品[■]検体を用いて、軟骨基質である[■]量及び動的弾性率が測定された。申請者は、培養[■]週目以降は両者の間に比例関係があるが、培養[■]週目におけるウサギ軟骨組織由来の同等品の[■]量は臨床試験出荷時の本品の約[■]倍以上に相当することから、ヒト軟骨組織由来の本品では動的弾性率の変化は測定できないと考察し、出荷検査として適切ではないと判断した旨を説明している。また、文献において、ヒアルロン酸、あるいはアガロースを用いた培養軟骨において、[■]量がヤング率あるいは動的圧縮等と相関があることが報告されていることを例に挙げて、軟骨の硬度を測定する指標として[■]量を測定することの妥当性を説明している。

機構は、以下のように考える。

薬事バイオテクノロジー部会の指摘は、圧縮弾性率を出荷検査（規格試験）に設定することではなく、ヒト軟骨組織由来の本品の圧縮弾性率を測定することにより、本品の特性を把握するべきとする主旨であった。しかし、申請者はウサギ軟骨組織由来の同等品を用いており、薬事バイオテクノロジー部会からの指摘に対し、明確な情報提示はされていない。本品は細胞・組織加工製品であり、出荷時及び移植直後における製品の硬度を期待するものではなく、移植後に移植軟骨の硬度が増していくことを期待するものであるとの申請者の説明に一定の理解は可能であり、製品の出荷時点における圧縮弾性率による規格設定は特に必須ではないと考え、申請者の判断を了承した。なお、当該品質特性情報については、継続的に収集することが望ましいと考える。

指摘事項 2：無血清培地、自己血清培地を用いた培養方法の検討を行い、できる限り早くウシ胎児血清から切り替えるよう努めること（承認申請時までには結果を整理しておく必要がある）。

申請者の対応等は、以下のとおりである。

ヒト軟骨細胞を検体とし、無血清培地、FBS 添加培地、無血清培地に■■■■、■■■■、■■■■、又は■■■■を添加した培地、及び■■■■に■■■■、■■■■、■■■■、又は■■■■を添加した培地を用いた検討を行ったが、現状では FBS 添加培地に代えて本品を恒常的に製造できるような培地を見いだすことはできなかつたとされている。なお FBS については残留量の低減を目的として製造工程に洗浄工程が加えられている。

機構は、以上の対応を了承した。

指摘事項 3: 最終製品の規格設定に関して、最終製品に残留するウシ血清アルブミン量の規格値を設定すること。

申請者の対応等は、以下のとおりである。

臨床試験時の検体の測定の結果及び洗浄工程後の残留量をもとに、FBS の残留量について■■■■ $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 以下という規格値が設定されている。

機構は、以上の対応を了承した。なお、当該規格値の設定根拠については「(2) 品質管理及び製造条件の設定について 1) 規格試験項目及び規格値の妥当性について」の項において記載した。

指摘事項 4: 硝子軟骨プロテオグリカンであるアグリカン由来のグリコサミノグリカンで規格を設定すべきであること。

申請者の対応等は、以下のとおりである。

グリコサミノグリカンは普遍的に存在するため、アグリカン由来のものだけを測定することは技術的に困難である。また、培地中のグリコサミノグリカンの濃度測定は困難であり、アテロコラーゲン等マトリックスの存在が培地中への遊離を妨げている可能性が考察されている。出荷試験としては、培養軟骨由来の細胞懸濁液を検体とした■■■■濃度測定及び免疫染色による■■■■が設定されている。

機構は、培地中の■■■■濃度測定が困難であり、培養軟骨由来の細胞懸濁液を検体とすることについて、了承した。なお、濃度測定に係る規格値設定については、「(2) 品質管理及び製造条件の設定について 1) 規格試験項目及び規格値の妥当性について」に前述した。

指摘事項 5: 動物由来原料に関しては、よりクオリティの高いものを使用するよう努めること。

申請者の対応等は、以下のとおりである。

アテロコラーゲンについては、■■■■のアテロコラーゲンが使用され、また、当該■■■■は抗原性の高いテロペプチドが除去されている。また、使用前に皮内テストを行うことでアレルギー発症リスクの低減を図るとされている。またブタ由来トリプシン及びウシ乳由来ラクトースを含む■■■■につ

いてはより品質の高い代替品はないと説明されている。

機構は、以上の対応を了承した。

ハ. 安定性に関する資料

<提出された資料の概略>

臨床試験時はウサギ及びヒト由来培養軟骨を用いた検討結果に基づき、本品の貯蔵条件は██████中で██~██℃、有効期間は██時間と設定した。その後、培養軟骨輸送液の検討を行う目的で安定性試験を実施し、██℃、██℃で██時間、██時間、██時間及び██時間保存した際の安定性を██████と██████に██████及び██████を添加したもの（以下「██████」）とで比較試験を実施したところ、両者とも全ての試験項目で、かつ、全ての時間で規格を満たしているものの、後者で経時的な変化がより少ないと判断した。そこで、██████を培養軟骨輸送液とし、以下の保存安定性試験を別途実施した。

培養軟骨輸送液中における本品の適正保存条件を確認するため、██████中、██℃、██℃、██℃及び██℃で██時間、██時間及び██時間保存した各██検体の製品について工程検査、出荷検査及び確認検査を実施したところ、██℃、██℃及び██℃では全ての検体が██時間後まで全評価項目に適合したのに対し、██℃では██時間後に「軟骨細胞の██████の確認」において不適合が██検体認められた。

以上より、軟骨輸送液中において、貯蔵条件は 8~25℃、有効期間は安全域を考慮して 80 時間と設定された。

<機構における審査の概略>

機構は、培養軟骨輸送液について、確認申請時及び臨床試験時に用いられた██████から、██████へ変更する理由及び当該変更を行うことの妥当性について説明を求めた。

申請者は、以下のよう回答した。

確認申請時における保存安定性試験に基づき、有効期限を██時間と設定して臨床試験を実施したが、製造販売承認後には臨床試験実施施設の所在地よりも遠方への輸送範囲の拡大、輸送の遅延及び手術日程の変更等の可能性を考慮し、有効期限██時間は十分ではないと判断したこと、及び臨床試験後に研究用ヒト軟骨組織（変形性膝関節症患者由来）より製造した製品を用いて実施した保存安定性試験で██時間の保存安定性を確認できなかった例があったことから、保存条件の改善を検討した。その結果、██████に輸送液を変更し、保存安定性試験成績に基づき有効期限を 80 時間に延長するに至った。

機構は、以上の回答を了承した。

ニ. 電気的安全性、生物学的安全性、その他の安全性に関する資料

<提出された資料の概略>

(1) 生物学的安全性試験結果

1) 動物を用いた試験

(i) ウサギを用いた同種培養軟骨の移植試験

28～32 週齢の雄性日本白色種ウサギ各群 20 匹、計 60 匹について膝関節軟骨全層欠損モデル（面積■×■mm、深さ■mm）を作製し、直後に同種培養軟骨を適用して骨膜で覆った（ACC-01 群）。対照として、コラーゲンゲルのみを適用して同様に骨膜で覆った群（コラーゲンゲル群）及び軟骨欠損部を骨膜のみで覆った群（欠損群）を設定した。いずれの群とも、一般状態、摂餌量及び体重について経時的な観察を実施するとともに、血液学的検査、血液化学的検査、器官重量測定、病理組織学的評価等の解析を、適用後 28 日、56 日、84 日、168 日及び 371 日に実施した。

死亡は 4 匹であり、内訳は、ACC-01 群 1 匹（適用後 16 日）、コラーゲンゲル群 2 匹（いずれも適用後 13 日）及び欠損群 1 匹（適用後 38 日）であり、死因はいずれも手術侵襲に関連するものであり、ACC-01 の適用との関連はないものと考察されている。

ACC-01 群において摂餌量及び体重推移に問題は認められていない。しかし、自発運動については、適用 84 日剖検例、適用 168 日剖検例においては、欠損群に比して ACC-01 群及びコラーゲンゲルで自発運動の回復が遅れる傾向が認められ、適用 84 日剖検例においては、欠損群及びコラーゲンゲル群に比して ACC-01 群で自発運動の回復が遅れる傾向が認められた。

血液学的検査では、適用後 28 日において、欠損群に比して ACC-01 群で血小板数の高値及びプロトロンビン時間の延長、コラーゲンゲル群に比してプロトロンビン時間の延長が認められた。また、適用後 168 日において、コラーゲンゲル群に比して、ACC-01 群でフィブリノーゲン量の低値、及び適用後 371 日において、コラーゲンゲル群に比して ACC-01 群で単球比の高値が認められた。

血液化学的検査では、適用後 84 日において、コラーゲンゲル群に比して ACC-01 群でアルカリフォスファターゼの低値、及び適用後 371 日において、欠損群に比してアルブミンの高値が認められた。

以上の自発運動の回復が遅れる傾向、並びに血液学的及び血液化学的検査で認められた所見は、特段問題となる変化ではないと考察されている。

剖検では、ACC-01 群で適用後 56 日において脳室の拡張が 1 匹に認められているが、適用後 84 日以降では当該所見は認められていない。器官重量は、ACC-01 群で適用後 168 日において、コラーゲンゲル群に比して脳重量の低値が認められたが、適用後 371 日においては、3 群間に差異は認められなかった。

以上の結果から、ウサギへの同種培養軟骨 ACC-01 の適用が全身に及ぼす影響はないと考察されている。

(ii) イヌを用いた自家培養軟骨の移植試験

20～23 カ月齢の雄性ビーグル犬各群 12 匹、計 36 匹について、左後肢膝関節から軟骨組織を採取し培養軟骨を製造するとともに、軟骨組織採取から 3 週間後に右後肢膝関節に軟

骨全層欠損モデル（面積■×■mm、深さ■mm）を■■■■作製し、直後に自家培養軟骨を適用して当該部位を右後肢脛骨から採取した骨膜で覆った（ACC-01 群）。対照として、コラーゲンのみを適用して同様に骨膜で覆った群（コラーゲン群）及び軟骨欠損部を骨膜のみで覆った群（欠損群）を設定した。いずれの群とも、一般状態、摂餌量及び体重について経時的な観察を実施すると共に、血液学的検査及び血液生化学的検査については適用後 13、26、39 及び 53 週に、剖検については適用後 26 及び 53 週に実施した。

死亡は、コラーゲン群に 1 匹認められたが、ACC-01 群及び欠損群では認められなかった。

全身に及ぼす影響については、体重及び摂餌量の推移は適用後 53 週にわたり 3 群間で大きな差異は認められなかった。しかし、適用 26 週剖検例では、適用後 13 週目において、欠損群に比して ACC-01 群で歩行困難からの回復が遅れる傾向が認められ、適用 53 週剖検例では、欠損群及びコラーゲン群に比して ACC-01 群で歩行困難からの回復が遅れる傾向が認められた。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、適用後 26 週において、欠損群に比して ACC-01 群で活性化トロンボプラスチン時間の増加、及び適用後 53 週において、コラーゲン群に比して ACC-01 群で白血球数及び好中球比の高値が認められた。

剖検では、適用後 53 週において ACC-01 群で 1 匹に脳室拡張、及び他の 1 匹に脾臓の小変性が認められたが、ACC-01 との関連性は低いと考察されている。

以上の結果から、イヌへの自家培養軟骨 ACC-01 の適用が全身に及ぼす影響はないと考察されている。

2) 細胞遺伝学的安定性及び造腫瘍性

(i) 核型分析試験

変形性膝関節症患者■■■■の膝関節軟骨から分離した軟骨細胞■■■■個/cm²を培養フラスコに播種し、■■°C、■■%■■の条件下で単層培養したものを培養前の細胞とした。また、上記患者 3 例由来の培養軟骨を検査用コラゲナーゼ溶液で消化し調製した細胞懸濁液を、■■～■■■■個/cm²で播種して同条件下で再度、単層培養した細胞を培養後の細胞とし、ギムザ染色及び G バンド分染法により 20 核板の染色体数、染色体構造及び染色体異常の有無について、培養前の細胞と比較評価した。

培養前の細胞では、全例で染色体異常が認められ、いずれも 20 細胞中 2 細胞において 7 番染色体トリソミーが検出された。培養後の細胞では、1 例で培養前と同頻度で 7 番染色体トリソミーが検出され、培養前後で差異は認められなかった。残りの 2 例はいずれも正常核型であった。培養前の細胞におけるトリソミーは、患者の原疾患に起因すると考察されている（Castellanos, *et al. Osteoarthritis Cartilage*, 12:982-985, 2004）。また、核型分析では、培養前から培養後にかけてのトリソミーの検出頻度の上昇は認められなかった。

以上、培養前後で染色体数、染色体構造及び染色体異常の有無について差異がなかったこと、及び培養前に検出された染色体異常は培養後に認められなかったことから、本品の製造方法で培養しても、軟骨細胞の細胞遺伝学的安定性に問題がないと判断されている。

(ii) 軟寒天コロニー形成試験

培養軟骨を構成する細胞の造腫瘍性の有無を確認する目的で軟寒天コロニー形成試験が実施された。核型分析試験に供した被験組織を用いて作製した培養軟骨から分離した軟骨細胞及びヌードマウスを用いた移植試験に用いるために培養した継代数■の軟骨細胞をそれぞれ■回継代培養し、継代数■及び■の細胞懸濁液を得た。軟骨細胞、MRC-5細胞、HeLa細胞懸濁液をそれぞれ■個/フラスコ、■個/フラスコ、■個/フラスコの細胞密度で■%軟寒天培地に播種し、■℃、■%■の条件下で■日間培養した後、コロニー数を測定した。足場依存性の増殖能は、軟骨細胞は■個/フラスコ及び■個/フラスコ、HeLa細胞及びMRC-5細胞は■個/フラスコを液体培地中で培養することで確認した。

HeLa細胞、軟骨細胞及びMRC-5細胞の液体培地におけるコロニー形成率はそれぞれ108~110%、2.4~5.6%及び27.4~32.6%であった。一方、軟寒天培地におけるコロニー形成率は、HeLa細胞が97.6~103%であったのに対し、軟骨細胞及びMRC-5細胞でいずれもコロニー形成は認められなかった。

以上の結果から、軟骨細胞には細胞増殖における足場依存性が認められ、形質転換していないことが確認され、培養軟骨を構成する細胞は造腫瘍性を有しないと判断されている。

(iii) ヌードマウスを用いた移植試験

培養軟骨を構成する細胞の造腫瘍性の有無を確認することを目的として実施された。変形性膝関節症患者■の軟骨細胞から製造した培養軟骨をコラゲナーゼ処理により分散し、■℃、■%■条件下で単層培養した細胞を■又は■継代した後、各群10匹のヌードマウス皮下に 1×10^7 個/匹で移植した。移植後7~14日の間のいずれか1日、及び移植後21日にジエチルエーテル麻酔下に剖検し、病理組織学的検査を行った。陽性対照としては懸濁したHeLa細胞を用いた。本試験においてはWHOガイドライン（WHO Expert Committee on Biological Standardization: forty-ninth report. (WHO technical report series; 897), 1998）に従って、結節の観察を行っている。

HeLa細胞移植群では移植後21日目に剖検した結果、全例に増大性の結節が形成されたのに対し、軟骨細胞移植群では全例で結節の大きさが次第に小さくなっていった。移植後7~14日の間のいずれか1日に剖検して病理組織学的検査を実施したところ、軟骨細胞移植群の退縮性の結節は軟骨細胞の結節であることが確認され、かつ他臓器への転移は認められなかった。以上より、培養軟骨を構成する細胞は、造腫瘍性を有しないと判断されている。

3) 培養期間を超えて培養した細胞の評価

変形性膝関節症患者■の軟骨細胞を用いて、製造工程中、培養日数のみ、通常の培養日数（■日）を超えて■日、■日（各■検体）まで延長して培養した培養軟骨について、工程検査、出荷検査及び確認検査により、規格への適合性を確認した。その結果、培養■日及び培養■日ではいずれの検体とも全ての検査項目で規格に適合であった。一方、培養■日では■が許容範囲内でない■培養軟骨を認める等、■検体中■検体が規格に不適合であった。以上より、培養軟骨の培養日数は■日間まで延長可

能と判断された。なお、培養軟骨の[]以外の培養軟骨の工程検査、出荷検査及び確認検査の項目については、培養[]日においても規格に適合していた。

(2) 最終製品に残留する生物由来原料、抗生物質等に関する安全性

最終製品に残留する可能性がある添加成分として、ウシ胎児血清、軟骨培養用培地等に添加されているゲンタマイシン硫酸塩、アムホテリシン B が挙げられる。これらの成分に関する安全性評価が実施されている。

1) BSA 残留量に関する安全性

臨床試験用に製造した 32 検体における BSA 残留量は、すべての検体で臨床試験時の暫定規格 ($[] \mu\text{g}/\text{cm}^3$ 以下) に適合し、その測定値は検出限界 ($[] \mu\text{g}/\text{cm}^3$) 以下～ $[] \mu\text{g}/\text{cm}^3$ であったことを踏まえ、最終的な BSA 残存量の規格値は $[] \mu\text{g}/\text{cm}^3$ 以下と設定した(設定根拠については「ロ. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料 (2) 品質管理及び製造条件の設定について 1) 規格試験項目及び規格値の妥当性について」に前述)。

本品に残留する BSA 量の安全性について考察するために、米国において承認・販売されている同種培養真皮製品 Apligraf に残留する BSA 量とその安全性についての比較考察を行った。すなわち、Apligraf® 1 枚 ($\phi 75\text{mm}$) あたりの BSA 残留量は $2,250\sim 2,700\mu\text{g}$ 相当と推察される (Center for Devices and Radiological Health, FDA, USA. Apligraf (Graftskin), summary of safety and effectiveness data, 1998) が、これは本品を移植した場合の最大移植面積 10cm^2 に含まれる BSA 残留量 (出荷時の規格 $[] \mu\text{g}/\text{cm}^3$ として $[] \mu\text{g}$) の $[]\sim []$ 倍に相当する。これまで Apligraf® に起因するアレルギー関連の有害事象の報告は 1 例のみであることから、本品において、アレルギー誘発に関する安全性が問題となる可能性は低いと考えられる。

ウシ胎児血清を添加した培養液を用いて本品を製造する限り、ウシ血清に起因したアレルギーが惹起される可能性を完全に否定することはできないことから、申請者は、添付文書の警告及び禁忌・禁止の項において、ウシ及びウシ由来物に対するアナフィラキシーやアレルギー発症の危険性について記載し、さらに複数回移植では、初回移植時の感作によって 2 回目以降の移植時にアレルギーが惹起される可能性がある旨を注意喚起する等、次のような対策を講じる旨の説明がなされている。

- ・ 本品の使用によりアレルギー反応が起きる可能性について注意喚起する。
- ・ 移植前に問診等で牛肉アレルギーの既往の有無を確認する。
- ・ 移植前に牛肉アレルギー検査を行い、陽性の患者には移植しない。
- ・ 患者説明文書において、製造した製品が BSA 残留量の規格に適合しない場合は、移植できないことを説明し同意を得る。

2) 抗生物質の残留量測定

変形性膝関節症患者 [] の軟骨細胞から製造した培養軟骨について、残留するゲンタマイシン硫酸塩とアムホテリシン B の残留量を液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析装置で定量した。なお、この時の培養軟骨は、確認申請時点の製造方法で製造したもので、[] による洗浄は行っていない。

抗生物質の残留量は、ゲンタマイシン硫酸塩及びアムホテリシン B いずれも定量下限値

(ゲンタマイシン硫酸塩: ■■■ mg/mL、アムホテリシン B: ■■■ µg/mL) 未満であった。検体 1 個 (■■■ µL) あたりの残留量はそれぞれ ■■■ mg 未満、■■■ µg 未満となる。移植面積 10cm² (2.4cm³) を移植すると想定した場合、ゲンタマイシン硫酸塩及びアムホテリシン B の残留量の理論値は、それぞれ ■■■ mg 及び ■■■ µg であり、これらはいずれも、それぞれの許容量 (点滴静注の一日あたりの最小投与量から算出するとゲンタマイシン硫酸塩及びアムホテリシン B の許容量は、それぞれ ■■■ mg 及び ■■■ mg) を下回っていた。さらに臨床試験時及び申請された製造方法においては ■■■■ による洗浄工程が追加していることから、これらの抗生物質の残留量はさらに低い値になるものと予想される。しかしながら、ゲンタマイシン硫酸塩、アムホテリシン B とも、アレルギー反応の惹起を完全には否定できないため、これらの抗生物質に対して過敏症の既往歴がない患者のみを本品の適用対象とするとしている。

3) 製造工程で残留する可能性のあるその他の原材料の安全性評価

本品の製造培地に含まれる ■■■■ は、医薬部外品原料規格に適合している。許容量については、マウスに 200mg/kg の ■■■■ を単回腹腔内投与した場合でも異常が確認されていないという文献情報 ■■■■ を基にし、さらに安全域を考慮して、その 100 分の 1 の 2mg/kg (= 100mg/50kg) を許容量とした。軟骨培養用培地には ■■■ µg/mL の ■■■■ が含有されており、本品の最大移植面積 10cm² (2.4cm³) においてその全てが培地と仮定した場合でも、■■■■ の含有量は ■■■ µg に留まり、許容量 (100mg/50kg) の ■■■■ に過ぎず、安全上問題ないものと判断されている。

■■■■ は軟骨組織の消毒用として、■■■■ は ■■■■ 溶液、コラゲナーゼはコラゲナーゼ溶液 (■■■■ units/mL) として軟骨組織から軟骨細胞を分離するために製造工程の初期過程に使用される。しかし、いずれについてもその後 ■■■ 日毎に培地が交換されて ■■■ 週間以上培養工程が継続し、最終工程で洗浄工程があることを考慮すると、残留の可能性は低く、これらを用いて製造した本品について造腫瘍性確認試験 (軟寒天コロニー形成試験及びヌードマウスを用いた移植試験) により、形質の変化が否定されていることと考え合わせて、安全性は高いと判断されている。

<機構における審査の概略>

(1) ウサギを用いた同種培養軟骨の移植試験及びイヌを用いた自家培養軟骨の移植試験で認められた、自発運動の回復あるいは歩行困難の解消の遅延傾向について

機構は、ウサギ及びイヌを用いた試験において、いずれも ACC-01 群及びコラーゲンゲル群の自発運動の回復あるいは歩行困難の解消が欠損群より遅れる傾向が認められたことから、当該傾向と本品適用との関連性について考察するよう申請者に求めた。

申請者は以下のように回答した。

ウサギ及びイヌの ACC-01 群及びコラーゲンゲル群では、移植部に一定の体積を有する物質を挿入するのに対し、欠損群ではこれに相当する物質を挿入しない。したがって、移植

群（ACC-01 群及びコラーゲングル群）では術後に関節運動を行う際、非移植群（欠損群）と比較して、関節面を介して荷重が欠損内部に伝わりやすく、一定期間、自覚症状の原因となっている可能性があり、このため自発運動が妨げられた、又は歩行困難の解消が遅延した可能性がある（表 7 及び表 8）。しかしながら、実際の臨床適用においては、1 カ月程度荷重をかけることを避けるため、これに相当する自覚症状が発生することはなく、仮に臨床でこれらの現象が生じたとしても、これらは術後の一過性の症状に過ぎず、治癒転帰や長期的な予後において本品の安全性を否定することや、治療効果を妨げるものではない。

表 7 ウサギ移植試験における自発運動の回復時期

	欠損群	コラーゲングル群	ACC-01 群
自発運動回復までに要した日数 (平均値±標準偏差)	6.3±2.1 (n=19)	7.5±2.6 (n=19)	7.7±1.8 (n=19)

(適用 28、56、84、168 及び 371 日群を合算、途中死亡例は除いて算出)

表 8 イヌ移植試験における歩行困難の解消時期

	欠損群	コラーゲングル群	ACC-01 群
歩行困難回復までに要した日数 (平均値±標準偏差)	14.8±1.8 (n=12)	19.1±3.7 (n=11)	17.3±4.5 (n=11)

(適用 26 及び 53 週群を合算)

機構は、申請者の、自発運動の回復、歩行困難の解消が本品により遅延する傾向であったことについての説明・結論の根拠は乏しく、想像の域と言わざるを得ないと考える。しかし、当該事象については、動物試験において移植後1カ月間に自発運動の回復あるいは歩行困難の解消の遅延傾向があるものの、臨床試験において移植後一カ月間での当該傾向は認められないことから（「へ. 臨床試験成績に関する資料 (6) 安全性評価」に後述）、移植後一カ月間での患部への荷重を避け、リハビリテーション等の荷重管理が適切にできる医療機関にて使用することをもって受入れ可能と考える。

(2) 培養軟骨輸送液の変更に伴う安全性への影響について

「ハ. 安定性に関する資料 <提出された資料の概略>」に前述のとおり、培養軟骨輸送液が本品開発の過程で変更されている。非臨床安全性試験は変更前の培養軟骨輸送液を用いた製品により評価されていることから、機構は、変更後の培養軟骨輸送液の安全性について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

変更後の培養軟骨輸送液は[]であり、その構成成分のほとんどは医薬品として使用されているものである。移植時に関節内に持ち込まれる培養軟骨輸送液の最大量は [] mL であり、当該溶液の構成成分のうち医薬品として使用されている成分に関しては、[]を除き、医薬品の1日投与量を下回る。医薬品に含まれていない成分（[]、[]、[]、[]）、及び [] 医薬品に含まれる [] 量としての1日投与量の約 [] 倍) について関節内に持ち込まれる量は、それぞれの成分の

LD₅₀と比較して、十分に小さい値である。以上から、安全性試験を新たに実施せずとも変更後の培養軟骨輸送液の安全性は担保できる。

機構は、以上の申請者の説明を了承した。

ホ. 性能に関する資料

<提出された資料の概略>

効力又は効果を裏付ける試験

(1) 有効性に関する動物試験

1) ウサギを用いた同種培養軟骨の移植試験

「ニ. 電気的安全性、生物学的安全性、その他の安全性に関する資料 (1) 生物学的安全性試験結果 1) 動物を用いた試験 (i) ウサギを用いた同種培養軟骨の移植試験」に記載のとおり、ウサギ膝関節軟骨全層欠損モデル並びに同種培養軟骨 ACC-01 及びコラーゲンゲルを用いて生物学的安全性試験を実施し、当該試験の中で本品の有効性についても併せて評価した。ACC-01 群、コラーゲンゲル群及び欠損群 (1 群 20 匹) について、移植後 28 日、56 日、84 日、168 日及び 371 日目 (各々 4 匹) に、麻酔下で剖検後、移植部位について病理組織学的所見に基づく Wakitani らの欠損軟骨スコア法 (以下「Wakitani 法」、Wakitani S, *et al. J. Bone Joint Surg. Am.*, 76:579-592, 1994) による軟骨欠損の評価、XXXXXXXXXX 染色による軟骨基質産生の評価及び病理組織学的評価を実施した。なお、病理組織学的評価では、軟骨形成、骨形成、線維化、肉芽形成、異物巨細胞、出血、炎症性細胞/単核球による細胞浸潤及び脂肪化生の経時変化について、「所見なし、極めてわずか、軽度、中程度、著しい」の 5 段階で判定した。

Wakitani 法による評価では、ACC-01 群のスコアは、移植後 28 日及び 371 日において欠損群に比して低値を示し ($p < 0.05$ 、Steel-Dwass 検定、以下同様)、また、移植後 28 日においてコラーゲンゲル群に比して低値を示し ($p < 0.01$)、有意差が認められた。したがって、培養軟骨の移植によって対照に比して欠損箇所修復が認められた。一方、移植後 56 日、84 日及び 168 日において、ACC-01 群は他の 2 群に比してスコアは低い傾向にあったが、有意差は認められなかった。

XXXXXXXXXX 染色による評価では、ACC-01 群は移植後全ての時点で、コラーゲンゲル群及び欠損群には認められない XXXXXXXXXX 染色に対する陽性領域が認められた。

病理組織学的評価において認められた主な所見は、以下のとおりである。

軟骨形成については、移植後 28 日において、ACC-01 群に軟骨形成像が認められ、移植後 84 日においては、中程度から著しい軟骨形成が認められた。移植後 168 日においては、ACC-01 群において、中程度の軟骨形成が 8 部位中 5 部位に認められたが、欠損群には軟骨形成が認められず、コラーゲンゲル群では、6 部位中 1 部位に軟骨形成が認められたのみであった。また、移植後 371 日において、ACC-01 群では中程度の軟骨形成が 8 部位中 2 部位で認められたが、欠損群及びコラーゲンゲル群では認められなかった。一方、適用部位の骨形成については、移植後 28 日及び 56 日では 3 群間に差は認められず、移植後 84 日においては、欠損群及びコラーゲンゲル群にそれぞれ 8 部位中 3 部位及び 6 部位中 3 部位に移

植部に中程度の骨形成が認められたが、ACC-01 群には認められなかった。移植後 168 日においては、ACC-01 群で 8 部位中 6 部位に移植部において中程度の骨形成が認められ、コラーゲンゲル群でも 6 部位中 2 部位に認められた。移植後 371 日においては、中程度の骨形成が ACC-01 群には 8 部位中 5 部位に認められ、欠損群及びコラーゲンゲル群にはそれぞれ 8 部位中 2 部位及び 8 部位中 7 部位に認められた。また、移植部位の線維化については、移植後 28 日、84 日、168 日に欠損群及びコラーゲンゲル群に、移植後 56 日、371 日後において欠損群に中程度の線維化が認められたが、ACC-01 群はいずれの時点においても認められなかった。炎症性細胞/単核球による細胞浸潤については、移植後 56 日以降、欠損群及びコラーゲンゲル群に比して ACC-01 群には中程度の細胞浸潤が多く認められたが、移植後 371 日には当該所見は認められなかった。⁵

以上の結果をもって、同種培養軟骨 ACC-01 はウサギ膝関節軟骨全層欠損モデルにおいて、膝関節の全層軟骨欠損の修復作用を有すると考察されている。

2) イヌを用いた自家培養軟骨の移植試験

「ニ、電気的安全性、生物学的安全性、その他の安全性に関する資料 (1) 生物学的試験結果 1) 動物を用いた試験 (ii) イヌを用いた自家培養軟骨の移植試験」に記載のとおり、イヌ膝関節軟骨全層欠損モデル並びに自家培養軟骨 ACC-01 及びコラーゲンをを用いて生物学的安全性試験を実施し、当該試験の中で本品の有効性についても併せて評価した。ACC-01 群、コラーゲンゲル群及び欠損群 (1 群 12 匹) について、移植後 26 週及び 53 週 (各々 6 匹) に、麻酔下で剖検後、移植部位について Wakitani 法による軟骨欠損の評価、 染色による軟骨基質産生の評価及び病理組織学的評価を実施した。なお、病理組織学的評価では、軟骨形成、骨形成、線維化、肉芽形成、出血、細胞浸潤及び脂肪化生の経時変化について、「所見なし、極めてわずか、軽度、中程度、著しい」の 5 段階で判定した。

Wakitani 法による評価では、ACC-01 群のスコアは移植後 26 週において、コラーゲンゲル群に比して低値を示し、欠損箇所の修復が有意に認められた ($p < 0.05$ 、Steel-Dwass 検定)。しかし、移植後 53 週においては、欠損群及びコラーゲンゲル群に比してスコアは低い傾向にあったものの、有意差は認められなかった。

 染色による評価では、ACC-01 群は移植後 26 週及び 53 週において、 に対する陽性領域が認められた。一方、欠損群では、移植後 53 週において に対する陽性領域が認められたが、その染色性は低く、さらに欠損底部と移植床境界が不明瞭であった。コラーゲンゲル群では、移植後 53 週において に対する陽性領域が欠損底部で認められたが、その染色性は低かった。

病理組織学的評価で認められた主な所見は、以下のとおりである。

移植後 26 週及び 53 週においていずれの群でも軽度の軟骨形成が認められた。しかし、軟骨形成が認められる頻度は、ACC-01 群より欠損群及びコラーゲンゲル移植群で低かった。適用部位での骨形成については、移植後 28 週では 3 群間で差異は認められなかったが、移植後 53 週において、著しい骨形成が ACC-01 群で 12 部位中 7 部位、欠損群で 10 部位中 3 部位、コラーゲンゲル群で 12 部位中 1 部位に認められ、その頻度は ACC-01 群より欠損群

⁵医療機器・体外診断薬部会終了後に訂正 (当該段落記載の「部位」の訂正前:「匹」)

及びコラーゲンゲル群で低かった。また、移植部位の線維化については、移植後 26 週において、軽度の線維化が ACC-01 群で 10 部位中 2 部位に認められ、著しい線維化が欠損群では 12 部位中 4 部位に、コラーゲンゲル群では、8 部位中 3 部位に認められた。移植後 53 週において、中程度以上の移植部位の線維化が ACC-01 群で 12 部位中 2 部位に認められたが、欠損群やコラーゲンゲル群にもそれぞれ 10 部位中 4 部位、12 部位中 4 部位に認められた。⁶

以上の結果をもって、自家培養軟骨 ACC-01 はイヌ膝関節軟骨全層欠損モデルにおいて、膝関節の全層軟骨欠損の修復作用を有すると考察されている。

(2) 臨床試験検体を用いた組織学的評価

本品の特性として、培養軟骨における軟骨特異的な基質の産生を確認することを目的として、32 例の臨床試験時の検体を用いて組織切片を作製し、免疫組織染色により [] の産生、及び [] 染色により [] の産生の評価を実施した。

臨床試験で移植を実施した 32 検体について、[] 免疫組織染色及び [] 染色で軟骨基質産生能を評価した結果、[] 検体で [] の産生が認められた。また、[] 染色では、32 検体すべてにおいて陽性像が認められ、[] の産生が確認されたと説明している。

(3) 有効性に関する総合評価

(1) 及び (2) より、本品は軟骨基質産生能を有し、硝子軟骨形成を伴って関節軟骨を修復すると考察されている。

<機構における審査の概略>

(1) 有効性に関する動物試験

機構は、ウサギ及びイヌ膝関節軟骨全層欠損モデルを用いた ACC-01 移植試験に基づいて、申請者が本品の移植により硝子軟骨形成を伴い全層軟骨欠損が修復されたと結論付けたことの適切性について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

ウサギ及びイヌ由来培養軟骨を用いた試験成績から、ヒトでの本品の有効性及び安全性を予測することは十分可能と考えるが、動物試験には以下のようなヒトとの差異に起因する限界があると考えます。

- ・ 広範囲なヒトの病態の一側面を示唆するに過ぎない。
- ・ ヒトと同様な術後管理（免荷やリハビリテーション）ができない。
- ・ 解剖学的に膝の構造や荷重負荷が異なる。
- ・ 寿命が異なるため、年齢に合わせた評価ができない。

以上を踏まえると、動物試験で得られた成績を、そのままヒトの評価に外挿することには限界があるが、移植後の経過を観察することにより、ヒトにおける有効性を予測するこ

⁶医療機器・体外診断薬部会終了後に訂正（当該段落記載の「部位」の訂正前：「匹」）

とは可能と考える。Wakitani 法による評価において、短期で認められた有意差が中長期では認められなくなる傾向が、ウサギ及びイヌ移植試験に共通して認められ、その要因として、軟骨下骨に達する深さ■mm の欠損を作製するため、欠損群においても一時的に軟骨形成が生じ、ACC-01 群との差異を認めにくくなったと考える。ウサギ移植試験では、移植後 56 日、84 日、168 日では ACC-01 群と他 2 群の間で有意差が認められていないものの、Wakitani 法の評価項目中の 2 項目（細胞形態及び基質の染色性）ではいずれの観察時点においても、ACC-01 群が他 2 群より低い値を示した。以上の結果から、移植部に軟骨形成が生じ、軟骨欠損が修復されていると考える。

機構は、以下のように考える。

動物試験から得られたデータは人に直接応用することに限界があるのは周知のことではあるが、本品の有効性及び安全性を検討する上で重要な情報となりうると考える。ただし、提出された動物試験成績からは、下記に示す問題点により、申請者の主張する「硝子軟骨形成を伴い全層軟骨欠損が修復された」と結論を導くことは困難である。

- ・ ACC-01 移植後に形成された軟骨様組織に関して、以下の情報が無いこと
 - ▶ 産生された軟骨基質の種類（■、■、■等）、含量、組織中の存在、分布
 - ▶ 含有する細胞の種類（■及び■共陽性細胞、■陽性細胞、■染色陽性細胞等）、構成細胞比、及び細胞数の時間的推移
 - ▶ 硬度等の力学的特性
- ・ 動物試験に採用された評価法によって、ACC-01 移植後に形成された軟骨様組織が硝子軟骨であることを判別するのは極めて困難であること
- ・ ■染色による評価において、観察時期によって ACC-01 群における基質の染色性に大きな相違が見られ、結果の一貫性がないこと

以上の機構の判断については、専門協議において委員より支持された。機構は、提出された効力又は効果を裏付ける試験の成績では、「本品中の軟骨細胞及び軟骨細胞が産生する軟骨基質により、軟骨組織が修復される」という本品の治療コンセプトは確認されていないと判断した。当該事項については、添付文書等で情報提供、注意喚起し、本品の使用にあたっては、説明文書を用いての十分な情報提供及び同意を得た上で本品を使用することが必要と考える。

へ. 臨床試験成績に関する資料

<提出された資料の概略>

有効性及び安全性の評価資料として、国内臨床試験 1 試験（J-TEC002 試験、以下「本臨床試験」）の成績が提出された。また、参考資料として、国内臨床試験に登録された被験者の長期安全性に関する調査結果等、及び国内で実施された臨床研究 1 件が提出された（参考資料については、「4. 承認申請書に添付すべき資料に係る適合性調査結果等」に後述）。

国内臨床試験 J-TEC002（添付資料へー1＜実施期間：2004年8月～2006年9月＞）

20歳以上の軟骨欠損を有する患者を対象⁷（目標症例数：30例以上）に、本品の有効性、安全性及び有用性の検討を目的とした多施設共同非盲検非対照試験が国内5施設において実施された。

登録された33例のうち、移植前に皮膚感染症（丹毒）が判明した1例を除外し、移植を行った32例（外傷性軟骨欠損症20例、離断性骨軟骨炎6例（膝4例、肘2例）、変形性膝関節症6例）が安全性評価対象とされた。移植を行った32例の背景因子は表9のとおりであった。そのうち2例（移植3カ月後に本品の剥離が認められ再手術となった例、及び試験完了したものの移植12カ月後の関節鏡測定値がなかった例、各1例）を除く30例が有効性評価対象及び有用性評価対象とされた。

表9 移植を行った症例の背景因子

背景因子	分類	例数 (%)
疾患名	外傷性軟骨欠損症	20 (62.5)
	離断性骨軟骨炎	6 (18.8)
	変形性関節症	6 (18.8)
外傷性軟骨欠損症のうち靭帯損傷の有無	無	14 (70.0)
	有	6 (30.0)
靭帯損傷有の症例における靭帯再建までの期間	3年未満	3 (50.0)
	3年以上	2 (33.3)
	不明	1 (16.7)
靭帯損傷有の症例における靭帯再建から本品移植まで	1年未満	4 (66.7)
	1年以上	2 (33.3)
治験前半月板処置 ⁸	無	23 (76.7)
	切除	6 (20.0)
	縫合	1 (3.3)
罹病期間	1年未満	18 (56.3)
	1年以上	13 (40.6)
	不明	1 (3.1)
部位（詳細、最大欠損）	大腿骨内側顆	18 (56.3)
	大腿骨外側顆	5 (15.6)
	大腿骨滑車部	1 (3.1)
	膝蓋骨	6 (18.7)
	上腕骨滑車又は小頭	2 (6.3)
欠損個数	1ヶ所	29 (90.6)
	2ヶ所	2 (6.3)
	3ヶ所	1 (3.1)
移植面積（移植手術時）	1 cm ² 以上 2 cm ² 未満	6 (18.8)
	2 cm ² 以上	26 (81.3)

本品の使用方法は、以下のとおりであった。

関節鏡視下、移植面積に応じて、被験者本人の膝から採取された正常軟骨組織 0.1～0.3g を元に、本品が製造された。本品移植時には、軟骨欠損部を展開し、軟骨欠損部周囲の変

⁷ 本臨床試験の対象は、膝（肘）機能評価基準（表10）での判定が74点以下であり、既存治療で改善不能ないしは改善が期待できない、移植面積1～10cm²の外傷性軟骨欠損症、離断性骨軟骨炎及び変形性膝関節症を有する患者とされた。

⁸ 肘関節に移植した2例を除く計30例の被験者背景を示す。

性軟骨を除去、軟骨下骨を露出させた上で、移植対象部位の形状に合わせトリミングした本品を欠損部に充填し、脛骨等から採取した骨膜により移植部を被覆、縫合する。関節屈伸により、縫着した骨膜の剥離や本品の漏出が無いことを確認した上で、創を閉鎖し手技終了となる。

有効性の主要評価項目として、術前と観察終了時（移植 12 カ月後）での、関節屈伸時疼痛、安静時疼痛、膝（肘）の屈伸の 3 項目からなる「膝（肘）機能評価基準（表 10）」のポイント合計値の比較による「膝（肘）機能評価改善度判定基準（表 11）」（「著明改善」、「改善」、「不変」、「悪化」の 4 段階で評価）、及び「関節鏡評価判定基準（表 12）」（ICRS の軟骨修復度評価（表 13）により Grade I～IV の 4 段階で評価）のマトリックス指標である、「有効性評価判定基準（表 14）」（「極めて有効」、「有効」、「どちらとも言えない」、「無効」の 4 段階で評価）により評価するとされた。

表 10 膝（肘）機能評価基準

膝機能評価基準		肘機能評価基準	
機能	ポイント	機能	ポイント
関節屈伸時疼痛：		関節屈伸時疼痛：	
なし	50	なし	50
わずかにあり	35	わずかにあり	35
あり	20	あり	20
かなりあり	0	かなりあり	0
安静時疼痛：		安静時疼痛：	
なし	25	なし	25
わずかにあり	15	わずかにあり	15
あり	0	あり	0
膝の屈伸：		肘の屈伸：	
問題なし	25	120° 以上	25
若干問題あり	16	90～120°	15
90°未満	8	90°未満	0
できない	0		

（合計最高 100 ポイント）

表 11 膝（肘）機能評価改善度判定基準

		観察終了時			
		100～90	89～75	74～60	60 未満
術 前	74～60	著名改善	改善	不変	悪化
	60 未満	著名改善	著名改善	改善	不変

（数字はポイント分け；100～90：極めて良好、89～75：良好、74～60：どちらとも言えない、60 未満：不良）

表 12 関節鏡評価判定基準

Grade I （正常）	Grade II （ほぼ正常）	Grade III （異常）	Grade IV （重度異常）
12	11～8	7～4	3～0

（数字はポイント合計）

表 13 ICRS の軟骨修復度評価

項目と基準	ポイント
修復度： 周囲と同じ高さまで修復	4
75%の高さまで修復	3
50%の高さまで修復	2
25%の高さまで修復	1
まったく修復していない	0
境界： 周囲と完全に融合	4
境界が 1 mm 未満	3
移植片の 3/4 が融合、1/4 に 1 mm 以上の境界	2
移植片の 1/2 が融合、1/2 に 1 mm 以上の境界	1
周囲軟骨との融合が 1/4 以下	0
表面： 正常で滑らか	4
線維性	3
小さなひびや割れ	2
多くの小さなひび/大きなひび	1
移植片が完全に分解	0

(合計最高 12 ポイント)

表 14 有効性評価判定基準 (主要評価項目)

		膝 (肘) 機能評価			
		著明改善	改善	不変	悪化
関節鏡評価	Grade I	極めて有効	有効	どちらも言えない	無効
	Grade II	極めて有効	有効	どちらも言えない	無効
	Grade III	有効	どちらも言えない	無効	無効
	Grade IV	どちらも言えない	無効	無効	無効

有効性の主要評価項目である「有効性評価判定基準」について、結果は以下のとおりであった (表 15)。

表 15 有効性評価判定基準の結果 (有効性評価対象)

対象症例数	極めて有効		有効		どちらも言えない		無効	
	症例数	%	症例数	%	症例数	%	症例数	%
30 例	25	83.3	3	10.0	2	6.7	0	0.0

有効性の副次評価項目の主なものとして、術前と観察終了時 (移植 12 カ月後) に至るまでの「Lysholm Knee Score (表 16)」又は「Mayo Clinic Performance Index (表 17)」の経時変化による膝関節又は肘関節の機能評価に加え、関節鏡評価及び MRI による画像評価を実施している。

表 16 Lysholm Knee Score

・跛行 (最高 5 ポイント)		・支持装具 (最高 5 ポイント)	
なし	5	なし	5
わずか/時々	3	杖/松葉杖	2
重度/いつも	0	荷重負荷不可能	0
・ロッキング (最高 15 ポイント)		・腫脹 (最高 10 ポイント)	
なし/引っ掛かり感なし	15	なし	10
引っ掛かり感があるがロッキングはない	10	激しい運動の時あり	6
時々ロッキングする	6	普通の運動の時あり	2
しばしばロッキングする	2	いつもあり	0
ロッキングし動かない	0		
・膝の不安定性 (最高 25 ポイント)		・疼痛 (最高 25 ポイント)	
問題なく立てる	25	なし	25
運動や激しい運動の時にまれに立てない	20	激しい運動の時たまに/わずかにあり	20
運動や激しい運動の時にしばしば不安定	15	激しい運動の時に激しい疼痛	15
日常生活で時々不安定	10	2km 以上の歩行中/歩行後に激しい疼痛	10
日常生活でしばしば不安定	5	2km 未満の歩行中/歩行後に激しい疼痛	5
歩行の時にいつも不安定	0	常に疼痛あり	0
・階段昇降 (最高 10 ポイント)		・膝の屈伸 (最高 5 ポイント)	
問題なし	10	問題なし	5
若干問題あり	6	若干問題あり	4
1 段のみ昇降可能	2	90° 以内	2
昇降できない	0	できない	0

(合計最高 100 ポイント)

表 17 Mayo Clinic Performance Index

項目と基準	ポイント	項目と基準	ポイント
疼痛:	(最高 45 ポイント)	関節動揺性:	(最高 10 ポイント)
なし	45	正常 (動揺性なし)	10
わずかにあり	30	10° 未満の動揺性	5
あり	15	10° 以上の動揺性	0
かなりあり	0		
肘の屈伸:	(最高 20 ポイント)	日常動作:	(最高 25 ポイント)
100° 以上	20	髪をとかず	5
50~100°	15	食事動作	5
50° 未満	5	用便の始末	5
関節強直	0	シャツの着用	5
		靴の着用	5

(合計最高 100 ポイント)

膝関節に本品を移植した 29 例の Lysholm Knee Score の移植前、移植 3 カ月後、6 カ月後、12 カ月後の経時的変化について、Lysholm Knee Score を構成する 8 項目中、支持装具を除く 7 項目については、いずれも移植前と比較し移植 12 カ月後におけるスコアは高かった。

一方、肘関節に本品を移植した 2 例の Mayo Clinic Performance Index の移植前、移植 3 カ月後、6 カ月後、12 カ月後の経時的変化について、移植前と比較してスコアは高かった。

膝又は肘に対する関節鏡評価について、移植 12 カ月後の関節鏡観察による軟骨修復のグレードは、以下の表 18 のとおりである。30 例中 Grade I (正常) は 7 例、Grade II (ほぼ正

常) は 21 例で Grade I と Grade II を合わせると全体の 93.3%であった (表 18)。

表 18 関節鏡表価結果 (膝・肘) (有効性評価対象)

対象症例数	Grade I		Grade II		Grade III		Grade IV	
	症例数	%	症例数	%	症例数	%	症例数	%
30 例	7	23.3	21	70.0	1	3.3	1	3.3

MRI による画像評価については、30 例中 14 例で、信号強度からは移植部が修復されていると判断された。

安全性については、本品に起因する有害事象の発生から、「極めて安全」、「安全」、「安全性に疑問あり」、「安全でない」の 4 段階⁹で評価された。さらに有効性評価と安全性評価から総合評価 (有用性評価) が「極めて有用」、「有用」、「どちらとも言えない」、「好ましくない」の 4 段階で評価された (表 19)。

表 19 有用性判定基準

		有効性			
		極めて有効	有効	どちらとも言えない	無効
安全性	極めて安全	極めて有用	有用	どちらとも言えない	好ましくない
	安全	有用	有用	どちらとも言えない	好ましくない
	安全性に疑問あり	どちらとも言えない	どちらとも言えない	好ましくない	好ましくない
	安全でない	好ましくない	好ましくない	好ましくない	好ましくない

安全性の検討では、対象症例 32 例中、「極めて安全」は 29 例 (90.6%)、「安全」は 2 例 (6.3%)、「安全性に疑問あり」は 1 例 (3.1%)、「安全でない」は 0 例であった。

本品の有用性評価について、結果は以下のとおりであった (表 20)。

表 20 有用性評価結果 (有用性評価対象)

対象症例数	極めて有用		有用		どちらとも言えない		好ましくない	
	症例数	%	症例数	%	症例数	%	症例数	%
30 例	23	76.7	5	16.7	1	3.3	1	3.3

有害事象 (組織採取、移植手術に起因する好ましくない症状全般として定義) は 29 件 (16/32 例、50%) 発現した (表 21)。死亡例は認められなかった。重篤な有害事象は 7 件 (5/32 例、15.6% ; 移植片離層 1 件、関節運動範囲減少 2 件、関節痛 1 件、関節腫脹 1 件、自殺企図 1 件、うつ病 1 件) 認められ、このうち本品との因果関係がありとされたのは 4 件 (2/32 例、6.3% ; 関節運動範囲減少 2 件、関節痛 1 件、関節腫脹 1 件) であった。また、軟骨組織採取との因果関係を否定できない有害事象として、丹毒が 1 件認められた。

⁹ 極めて安全：本治療器具に起因する有害事象を認めない。安全：本治療器具に起因する有害事象を認めたが、軽度で処置を要しなかった。安全性に疑問あり：本治療器具に起因する有害事象を認め、処置を加え、長期療養にまで至らなかった。安全でない：本治療器具に起因する有害事象を認め、処置を加えたが、長期療養を要した。

表 21 有害事象及び不具合（安全性評価対象）

事象名	有害事象 (n=32)	因果関係あり (n=32)
移植片離層	1例 (1件)	0例
関節運動範囲減少 (重篤)	2例 (2件)	2例 (2件)
関節痛 (重篤)	1例 (1件)	1例 (1件)
関節腫脹 (重篤)	1例 (1件)	1例 (1件)
自殺企図 (重篤)	1例 (1件)	0例
うつ病 (重篤)	1例 (1件)	0例
末梢性浮腫 (非重篤)	2例 (2件)	0例
熱感 (非重篤)	1例 (1件)	0例
鼻咽頭炎 (非重篤)	4例 (4件)	0例
核磁気共鳴画像異常 (非重篤)	1例 (1件)	0例
ばら色靴擦疹 (非重篤)	1例 (1件)	0例
頭痛 (非重篤)	2例 (3件)	0例
上腹部痛 (非重篤)	1例 (1件)	0例
不眠症 (非重篤)	1例 (1件)	0例
肥厚性瘢痕 (非重篤)	1例 (1件)	0例
接触性皮膚炎 (非重篤)	1例 (1件)	0例
腰椎穿刺後症候群 (非重篤)	1例 (1件)	0例
インフルエンザ (非重篤)	1例 (1件)	0例
背部痛 (非重篤)	2例 (2件)	0例
湿疹 (非重篤)	1例 (1件)	0例
熱傷 (非重篤)	1例 (1件)	0例

<機構における審査の概略>

機構は、申請された本品の使用目的、効能又は効果には対象疾患の範囲等、本品の有効性及び安全性を審査する上で基本的な情報が示されていないことから、想定される本品の対象疾患について、本邦で標準的に行われている既存の治療法との関連を含めて具体的に説明することを申請者に求めた。

申請者は、以下のように回答した。

外傷性軟骨欠損症、離断性骨軟骨炎及び変形性関節症において、病因は異なるものの、いずれも軟骨欠損を病態とするものであるため、本品の適応対象と考える。本品の臨床試験の結果に基づく承認申請時の適応対象は膝関節の軟骨全層欠損の患者であり、臨床試験の結果から、1～10cm²の軟骨欠損に対する有用性が示されている。このうち1cm²未満であれば骨穿孔法が第一選択となり、長期の予後を考慮すると2cm²が上限、2cm²程度であれば自家骨軟骨柱移植術の適応となり、上限は4cm²程度であるとの考えもあり、必然的に既存治療との使い分けが必要となる。しかし、1～2cm²程度の軟骨欠損における骨穿孔法は予後に課題を残すとの見解があること、自家骨軟骨柱移植術では組織採取部位に限りがあり、採取部位の治療に課題を残す恐れがあること、軟骨欠損の背景因子はさまざまであることから、医師の判断の余地を残すために、既存治療との使い分けが必要となる領域を含んだ欠損面積を設定した。

以上を踏まえて、本品の適応対象について以下のように考えている。

原疾患：外傷性軟骨欠損症、離断性骨軟骨炎及び早期の変形性膝関節症

欠損面積：1～10cm²

欠損部位：荷重部である大腿骨顆部及び大腿膝蓋関節部

合併症：骨折、靭帯損傷及び半月板損傷等の合併症のある場合は、合併症に対する治療を行い、本品を適用する

既存治療：軟骨に対する既存治療を実施していない症例及び既存治療（保存療法又は外科的治療法）が奏効しなかった症例

機構は、申請者が想定する対象疾患に対する本品の有効性及び安全性を評価するためには、添付された臨床試験成績には、主に以下の論点があると考えた。

(1) 評価対象とする疾患について

機構は、病態も実施されている既存療法も異なる3つの疾患（外傷性軟骨欠損症20例（全例膝）、離断性骨軟骨炎6例（膝4例、肘2例）、変形性関節症（膝6例））に対する本品の有効性と安全性を1つの臨床試験の中で評価することの妥当性について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

本品の使用目的及び効能効果は、軟骨の欠損部位を補綴し、本品に含まれる軟骨細胞が産生する軟骨基質により修復することにより、軟骨欠損を修復するという目的において、組み入れられた被験者の原疾患や重症度等を含めたさまざまな背景因子を問題とする必要性はないと考える。すなわち、軟骨欠損を来たした要因は種々考えられるにせよ、軟骨の補綴と修復を目的とした治療は同じである。離断性骨軟骨炎は、発生機序として有力なのはスポーツ等により関節面に繰り返し加わる剪断力であるとされており、外力による軟骨欠損という点では外傷性軟骨欠損症と同様と考えられるため、外傷性軟骨欠損症と合わせて評価することは妥当と考える。変形性膝関節症についても同様であり、障害を受けた関節軟骨の補綴・修復に関する有効性を判定する点では、外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎と合わせて評価することは適切と考える。

機構は、以下のように考える。

外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎は、外力による軟骨の部分欠損であり、標準的に行われている既存の治療法としては、欠損した軟骨を補填することを目的として骨髄刺激法（骨穿孔法を含む）や自家骨軟骨柱移植術が行われている。一方、変形性膝関節症は、継続的な荷重等により軟骨がすり減り、膝関節の変形や炎症が生じると共に軟骨組織の変性を伴う進行性の疾患である。既存治療の目的はアライメントの整復であり、年齢、アライメント変化や軟骨変性の程度等に応じて、脛骨高位骨切り術や人工関節置換術等が行われている。

申請者が説明したとおり、外傷性軟骨欠損症と離断性骨軟骨炎については、その病因や病態、治療の目的及び方法に共通点が多く、既存療法や本品に期待される治療成績にも両疾患間に懸念される差異はないとの専門協議での議論を踏まえ、外傷性軟骨欠損症と離断性骨軟骨炎をまとめて評価することに大きな問題はないと考える。しかしながら、変形性

膝関節症は、外傷性軟骨欠損症と離断性骨軟骨炎とは、その病因、病態、既存の治療法や治療目的が異なるだけでなく、炎症や変性が生じている疾患部で軟骨様組織を再建・維持することの困難性、膝関節変形により本品にかかる荷重の大きさ、病態等から懸念される安全性上のリスクについても異なると考えられる。したがって、変形性膝関節症における本品の有効性及び安全性については、外傷性軟骨欠損症と離断性骨軟骨炎と同じ観点から評価を行うことは適切ではなく、疾患特性や治療目標に応じた評価を行う必要があると考える。

また、関節軟骨にかかる荷重、症状及び疾患が患者の生活の質（QOL）に及ぼす影響が大きく異なる肘関節と膝関節についても、それぞれ分けて評価する必要があると考える。

(2) 既存療法による治療成績との比較評価について

機構は、本品の有効性を評価し、本品の臨床的位置づけを確認するためには、適応と考える疾患に対する本品の成績と、本邦で標準的に用いられている既存療法の成績と比較することが必要となると考えるが、申請者が対照群を設定せず、本品の有効性を適切に評価できると判断した理由について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

本臨床試験で対象となる軟骨欠損が、保存療法によって自然治癒する可能性はない。一方、骨穿孔法は軟骨修復を目的としておらず、自家骨軟骨柱移植術は以下の理由から一般的な治療法には該当しないと考える。自家骨軟骨柱移植術は自家組織移植であり、必然的に移植に用いる自家組織の採取量並びに採取リスクへの対応が重要となる。一般の整形外科医がこれを実施する際には、採取組織量の制限によって、適応を躊躇せざるを得ないことが知られている。移植後の有効性を比較した場合、自家骨軟骨柱移植術は自家組織移植であるため、本品と比較して優れている可能性も否定できないが、採取組織の量が少ないという点では本品の方が優れている。本品は新規のものであり、この取り扱いに精通した整形外科医はほとんどいない。また、自家骨軟骨柱移植術も一般的な治療方法として用いられているわけではなく、一部の患者にのみ適応される。医師の術式に対するラーニングカーブを踏まえ、両者に精通した医師による臨床試験の実施は現実的ではない。また、本品と類似の製品である TiGenix 社の ChondroSelect[®]の臨床試験においては、骨穿孔法を対照群として、4ヶ国 13 施設で 4 年間をかけて 118 例の症例を収集している (Saris DBF *et al. Am. J. Sports Med.*, 36:235-246, 2008)。しかしながら、本邦において自家骨軟骨柱移植術との比較臨床試験を実施した場合、実施期間だけでおそらく 10 年以上を要することになると予想される。本品は、他に類似の医療機器が存在せず、関節治療の臨床評価に関するガイドラインも発出されていない現状においては、たとえ比較臨床試験を実施しても客観性が担保された成績が得られる見込みは低いと考える。本臨床試験の成績は越智らが行った臨床研究の成績¹⁰ (Ochi M *et al. J. Bone Joint Surg. Br.*, 84:571-578, 2002) と概ね一致しており、有効性に関する再現性は担保されていると考える。また、手術手技と言う特性及びスケジュールの差異より、対照群を置いて盲検化する事は困難であり、非倫理的であると考えられる。

¹⁰ 越智らによる臨床研究の結果が参考資料として提出され、本品と同様のアテロコラーゲンを用いて培養された軟骨を大腿骨内外側顆への移植した 25 例中 22 例で Lysholm Knee Score が 90 ポイント以上まで回復した旨が説明されている。

機構は、以下のように考える。

本品を国内導入するにあたっては、臨床試験によって、本品の有効性を適切に評価し、本品の臨床的位置づけを明らかにすることが、基本的には必要と考える。したがって、本邦において定着した既存の治療法が存在する場合は、既存の治療法を踏まえた臨床試験の計画が必要と考える。

外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎については、既存療法である骨穿孔法や自家骨軟骨移植術が適用できる上限面積について、治療ガイドライン等により明確に規定されているとは言えないものの、当該疾患に対する国内外の文献（松末吉隆 6. 関節軟骨損傷の治療 整形外科 *Knack & Pitfalls 膝関節外科の要点と盲点*（黒坂昌弘 編）文光堂 188-192, 2005）、及び専門協議での議論を踏まえ、 4cm^2 未満の大きさの軟骨欠損に対しては、骨穿孔法又は自家骨軟骨移植術が標準的な治療法として用いられていると考える。したがって、欠損面積 4cm^2 未満の外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎における本品の臨床的位置づけを評価するためには、本品と骨穿孔法又は自家骨軟骨移植術の有効性を比較する臨床試験や、適切な有効性の達成基準を設定した臨床試験等、本品と既存療法との使い分けを説明することが可能となるような臨床試験デザインとすることが必要であったと考える。一方、 4cm^2 以上の軟骨欠損については、保存療法で経過をみるか、骨切り術による関節への荷重調整等が試みられるが、欠損部位を補填する確立した治療法はないと考える。そのため、適切な保存的治療を行う群を対照として設定した比較臨床試験や、対照群の設定が困難な場合には保存的治療を上回る有効性の達成基準を設定した臨床試験等、本品の臨床導入の妥当性の根拠となる有効性を評価するための試験デザインとすることが必要であったと考える。なお、欧州 EMA から公表されている自家培養軟骨製品の評価方法（http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/05/WC500090887.pdf）においても、軟骨欠損面積 4cm^2 を区切りとして異なる試験デザインが提示されている。

また、機構は、変形性膝関節症については、人工膝関節置換術等の根治的療法が適用されることが多いことを踏まえ、適切な評価項目を設定した上で、既存療法の治療成績との有効性の比較が可能となるような試験デザインとすることが必要と考える。

なお、申請者は、新規性が高い本品の取り扱い及び自家骨軟骨移植術の両者に精通する医師による臨床試験の実施が現実的でないこと、海外の類似品の臨床試験を根拠として、比較臨床試験の実施期間は長くなると予想されること、対照群を設定した試験において盲検化が困難であることを説明している。しかしながら、実施可能性から盲検化が困難な場合であっても、既存療法を同時対照とした比較臨床試験において有効性の評価を行うことには一定の意味があること、比較臨床試験自体が困難な場合にも、既存療法による治療成績等を参考にした有効性の達成基準を設定した上で本品の有効性を評価する等、試験デザインについて検討の余地はあると考えられることから、本臨床試験の試験デザインが妥当であるとする理由とはならないと考える。

(3) 膝（肘）機能評価基準について

機構は、申請者が採用した「膝（肘）機能評価基準（表 10）」を、本品の有効性評価に用いる妥当性について説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。

Lysholm Knee Score (表 16) は、跛行、杖の有無、ロッキング症状、疼痛、腫脹、不安定性、階段昇降、膝の屈伸の 8 項目からなる臨床評価法 (最高 100 点) で、越智ら (Ochi M *et al. J. Bone Joint Surg. Br.*, 84:571-578, 2002) も軟骨損傷の評価に用いており、最近では、当該指標は軟骨損傷の評価にも使用できるという報告がある (Kocher MS *et al. J. Bone Joint Surg. Am.*, 86:1139-1145, 2004)。しかし、軟骨損傷が存在する場合、通常、不安定性やロッキング症状はなく、腫脹も軽度で、跛行を呈する患者、杖が必要な患者は少数であり、これらを包含した評価法では、治療効果判定の感度が低下する可能性があると考え、これらの項目を Lysholm Knee Score から除外した「膝 (肘) 機能評価基準」を作成し、当該基準により、疼痛に重点を置きつつも関節機能の評価も可能にすることで、本品の治療効果を鋭敏に捉えられると考えた (最高 100 点)。

機構は以下のように考える。

申請者が採用した「膝 (肘) 機能評価基準」は、Lysholm Knee Score を基に疼痛と関節の動きに焦点を絞ったものである旨が説明されているが、当該基準の評価対象とした項目及びその評価尺度ともに Lysholm Knee Score から大きく簡略化されている。当該簡略化の科学的妥当性及び各評価項目のスコアと臨床的意義との関連性について、現時点では、十分な臨床データに基づく検討がなされておらず、「膝 (肘) 機能評価基準」の妥当性は示されていない。したがって、当該評価基準に基づく成績を本品の有効性の評価に用いることは不適切であると考え。なお、本臨床試験において副次評価項目として設定されていた Lysholm Knee Score は、スコアの経時的変化を評価することは可能であるが、若年層で活動量の多い年齢においては、その臨床症状を必ずしも反映せず、前十字靭帯の臨床症状の評価を目的に開発されたものであるため、軟骨損傷の臨床評価に対しては必ずしも適切なスコアとは言えないとされている (日本整形外科学会診療ガイドライン)。しかしながら、当該スコアは外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎の臨床症状の評価のために臨床現場では利用されており、申請者も述べているように軟骨欠損の臨床症状の評価に用いた文献報告も見受けられる。また、症状の固定した慢性期の患者に対しては各項目における 1 ランク改善が臨床的意義のある変化として周知されており、スコア変動の臨床的意義の解釈も可能であるため、本品の有効性評価に用いることは可能であると考え。

(4) 本臨床試験における有効性評価の方法について

機構は、本品の有効性評価については以下のように考える。

上記 (1) ~ (3) で述べたように、本臨床試験においては、有効性評価を本来であれば別々に行うべき対象疾患と疾患部位が混在する集団として設定されており、対象疾患の特性の違いに応じた本品の適切な有効性評価がなされていないため、提出された臨床試験成績から申請者が想定する外傷性軟骨欠損症、離断性骨軟骨炎及び変形性膝関節症に対する本品の有効性を評価することは困難と判断する。

本臨床試験の結果の解釈については専門協議でも議論され、提出された臨床試験成績から本品の有効性及び臨床的位置づけを説明することは困難であるとの機構の判断は専門委員から支持された。

しかしながら、申請者が想定する本品の適用対象となる疾患において、治療法がなく希少な対象に対しては、得られたデータを症例毎に移植前後で比較評価することによって、本品が対象患者に与える影響について考察し、本品の臨床的位置づけを説明することも可能なのではないかとの意見も出された。そこで、機構は次のとおり検討を行った。

申請者が想定する本品の適用対象となる疾患の中には、既存療法による十分な治療効果が期待できず、また想定される患者数も非常に少ないために臨床試験の実施が困難な対象も含まれていることから、機構は、本臨床試験により得られた 33 例の治療成績を最大限に活用し、これら希少かつ既存療法に限界のある患者に対する新しい治療選択肢としての本品の可能性を検討する意義はあると判断した。検討の対象は、既存療法による効果的な治療が困難と考えられる比較的軟骨欠損面積の大きい外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎とし、次項 (5) に述べる評価及び検討を行った。

(5) 機構が行った有効性評価

機構は、(4) の考察を踏まえて、本臨床試験に組み入れられた症例のうち、外傷性軟骨欠損症及び離断性軟骨炎による膝関節の軟骨欠損例において、本品の有効性評価を目的とし、本品の移植が臨床症状及び形態学的改善に及ぼす影響について、以下の評価項目における症例毎の評価を行った。

1) 評価対象

本臨床試験に仮登録された 38 例より、スクリーニング不適格者 5 名を除外し、本品作製のための軟骨採取を実施した 33 例を安全性の評価対象と考え、このうち有害事象（丹毒）により本品の移植が行われなかった 1 例を除いた 32 例を有効性評価の対象と考えた。さらに、機構は、(1)、(2) の考察に基づき、変形性膝関節症 6 例、及び肘関節への移植 2 例の計 8 例を除外した 24 例を症例毎の有効性評価の対象とした。24 例の患者背景の概略は、以下のとおりである（表 22）。

表 22 患者背景

番号	年齢	性別	罹病期間 ¹¹	軟骨欠損部位	軟骨欠損面積(移植面積)(cm ²) ¹²	軟骨下骨変性の有無	軟骨欠損前治療	軟骨欠損前治療時期 ¹³	合併損傷及び既往歴	合併損傷及び既往に対する手術	合併損傷及び既往に対する手術時期 ¹⁴
離断性軟骨軟骨炎											
1	30	男	192カ月	左大腿骨内側頭	4.7 (6.9)	あり	骨軟骨接合術	16年前	なし	骨接合術	16年前
2	25	女	2カ月	左大腿骨外側頭	1.8 (2.0)	なし	なし	—	左膝凹盤状半月	半月板切除術、遊離体摘出術	10年前
3	24	女	3カ月	右大腿骨内側頭	3.1 (2.6)	あり	なし	—	右半月板損傷	半月縫合術	7年前
4	29	男	24カ月	左大腿骨内側頭	2.4 (2.7)	あり	なし	—	左離断性軟骨軟骨炎	遊離体摘出術	9か月前
外傷性軟骨欠損症											
5	42	女	不明	左大腿骨内側頭	3.1 (3.5)	なし	なし	—	左右前十字靭帯損傷、左半月板損傷	前十字靭帯再建術、半月板切除術	20年前、3か月前
6	30	男	3カ月	左大腿骨外側頭	1.5 (1.5)	あり	なし	—	左大腿骨外側頭骨折	骨接合術	3か月前
7	49	女	60か月	右膝蓋骨	1.8,1.8 (1.1,1.2)	なし	関節内注射	不明	右膝内症	(関節鏡検査)	3年前
8	33	女	13か月	左膝蓋骨	2.5 (2.4)	なし	関節内注射	不明	左膝内症	(関節鏡検査)	8か月前
9	26	男	36か月	右大腿骨内側頭	4.9 (3.9)	あり	なし	—	なし	なし	—
10	36	女	11カ月	左大腿骨内側頭	1.8 (1.3)	なし	関節内注射	不明	左内側半月板損傷	なし	—
11	26	男	24カ月	左大腿骨外側頭	3.1 (2.4)	なし	なし	—	左前十字靭帯損傷	前十字靭帯再建術	21か月前
12	21	男	7か月	右大腿骨内側頭	4.0 (4.0)	なし	なし	—	右前十字靭帯損傷	前十字靭帯再建術	組織採取時
13	21	女	60か月	左膝蓋骨	1.8 (2.0)	あり	なし	—	左膝蓋骨脱臼	内側膝蓋大腿靭帯再建術	移植時
14	45	男	12か月	左大腿骨内側頭	2.9 (2.9)	なし	関節内注射	不明	左内側半月板損傷	半月板部分切除術	1年前
15	30	男	3か月	左大腿骨内側頭	1.6 (2.0)	あり	なし	—	なし	なし	—
16	23	男	3か月	右大腿骨内側頭	1.8 (1.6)	なし	なし	—	右前十字靭帯損傷 右半月板損傷	前十字靭帯再建術、 半月板部分切除術	3か月前
17	24	女	24カ月	右大腿骨内側頭	1.8 (1.3)	なし	関節内注射	不明	右内側半月板損傷 右大腿骨内側頭軟骨損傷	半月板部分切除 軟骨片固定	33か月前
18	41	男	10か月	左大腿骨内側頭	3.9 (4.2)	あり	関節内注射	不明	左前十字靭帯損傷	前十字靭帯再建術	3か月前
19	22	女	3か月	右大腿骨内側頭	4.5 (3.8)	なし	なし	—	なし	なし	—
20	21	女	3か月	左大腿骨外側頭	1.2 (2.0)	あり	なし	—	左膝蓋骨脱臼	内側膝蓋大腿靭帯再建術	移植時
21	55	女	14か月	左膝蓋骨	4.9 (4.2)	あり	関節内注射	不明	左膝蓋骨骨折	骨接合術、内外側半月板部分切除術	14か月前、組織採取時
22	40	男	36カ月	右大腿骨外側頭	4.7 (4.9)	なし	なし	—	右内外側半月板損傷	半月板部分切除	3年前
23	37	女	3カ月	左膝蓋骨・大腿骨滑車部	3.1,1.5 (4.1,2.9)	なし	なし	—	右前十字靭帯損傷(対側)	前十字靭帯再建術(対側)	30か月前
24	22	女	60カ月	左膝蓋骨	4.9 (4.2)	あり	骨軟骨接合術	—	左膝蓋骨脱臼骨折	靱帯の骨接合術、膝蓋骨制動術	5年前

11 受傷から本品移植までの期間を示す。

12 複数の軟骨欠損を有する症例の場合、それぞれの欠損面積を記載した。

13 本品の移植手術日からみたら軟骨欠損前治療時期を示す。関節内注射については全例ヒアルロン酸を用いており、最終投与日を「不明」としたが、臨床試験実施計画書の除外基準に手術前の膝(肘)機能評価の1週間前(移植予定日9週間前)以降に当該薬剤の関節内注射をうけたものとあり、少なくとも本品の移植手術より9週間前であったと考える。

14 本品の移植手術日からみたら合併損傷及び既往に対する手術時期を示す。合併損傷に対する手術が2つ以上の場合には、記載順は前欄に記載した手術名の記載順に対応する。

2) 評価方法

症例毎の有効性評価対象患者における、本品の移植前及び移植 12 カ月後における膝関節の臨床症状（Lysholm Knee Score）及び画像による形態学的所見（MRI 画像及び関節鏡評価（関節鏡評価判定基準））の変化を評価した。また、機構は、臨床症状の評価に影響を与える可能性のある因子として、鎮痛剤の使用、軟骨欠損面積、軟骨欠損及び合併症に対する外科的治療の時期、また、画像による形態学的所見の評価に影響を与える可能性のある因子として、軟骨欠損面積及び軟骨下骨変性の合併を考え、これらの因子の影響についても検討した。

【評価項目】

(i) Lysholm Knee Score

Lysholm Knee Score の評価方法は以下のとおりである。

① Lysholm Knee Score 合計ポイント

本品の移植前及び移植 12 カ月後における Lysholm Knee Score の合計ポイントの変化を検討した。

② Lysholm Knee Score 各項目の正常化例の検討

本品の移植前に Lysholm Knee Score の各項目においてランクが正常（各項目の最高点）より低値であった症例のうち、移植 12 カ月後にランクが正常化した症例の割合を検討した。

③ Lysholm Knee Score 各項目の著明改善例の検討

本品の移植前に Lysholm Knee Score の各項目においてランクが正常（各項目の最高点）より 2 ランク以上低値であった症例のうち、移植 12 カ月後にランクの著明改善を認めた症例の割合を検討する。なお、著明改善例とは、2 つ以上の項目において 2 ランク以上の改善による正常化を認めた症例と定義した。また、著明改善例については、当該症例の疾患背景について検討した。

④ Lysholm Knee Score 各項目の増悪例の検討

本品の移植前と比較して、移植 12 カ月後に Lysholm Knee Score の各項目においてランクの増悪を認めた症例の割合を検討する。なお、ランクの増悪とは、移植前における各項目のランクに比較して、移植 12 カ月後にランクの低下を認めることとした。また、いずれかの項目においてランクの増悪が認められた症例を増悪例と定義し、当該症例の疾患背景について検討した。

⑤ Lysholm Knee Score に影響すると考えられる因子の検討

鎮痛剤の有無、軟骨欠損面積、及び合併損傷に対する外科的治療が Lysholm Knee Score 合計ポイントに与える影響について検討した。なお、鎮痛剤の有無については、移植 12 カ月後の評価時点において、鎮痛剤の最終内服時期が確認できない症例を「鎮痛剤の影響が否定できない症例」と定義し、検討を行った。軟骨欠損面積については、既存治療である自家骨軟骨柱移植術が適応される上限欠損面積と考えられる 4.0cm²

を基準とし、当該基準未満及び当該基準以上の症例に分類して検討を行った。また、合併損傷に対する外科的治療時期については、外科的治療が膝機能に与える影響が強く残ると考えられる期間は、術後 3 カ月以内であるという専門委員の意見をもとに、外科的治療後 3 カ月以内に本品を移植した症例及びそれ以外の症例の検討を行った。

(ii) 画像評価

画像の評価方法は以下のとおりである。なお、評価に用いた MRI 画像は、提出された画像のうち T2 及びプロトン密度強調画像等、軟骨の評価に適していると思われる条件によって撮影されたものを評価した。

① MRI 画像による軟骨欠損部（本品移植部）での軟骨組織の検出

本品移植 12 カ月後における軟骨欠損部（本品移植部）での正常軟骨組織の検出の有無について検討した。

② MRI 画像による軟骨欠損部（本品移植部）の高さの検討

本品移植 12 カ月後における軟骨欠損部（本品移植部）の高さが周囲軟骨の高さまで回復した症例、及び回復しなかった症例の割合を検討した。また移植軟骨の肥厚例については、当該症例の疾患背景について検討した。なお、関節鏡によっても同様の情報を収集しているが、関節鏡による移植部の高さの評価は骨膜パッチ上の所見を直接観察したものであり、1 年後の骨膜の状態が不明であることから、高さの判定で移植軟骨か骨膜かの判断が困難であることを考慮し、本品移植部の高さの回復については MRI 所見を用いることとした。

③ MRI 画像による炎症所見の有無の検討

本品の移植前に軟骨欠損部周囲組織に炎症と考えられる MRI 像を認め、移植 12 カ月後の時点でその所見が消失していると判断される例の割合を検討した。また、炎症所見が本品の移植後に新たに出現したと考えられる症例については、当該症例の疾患背景について検討した。なお炎症所見とは、関節液貯留、及びその他の所見とした。

④ 関節鏡所見の検討

移植 12 カ月後の関節鏡所見を ICRS の軟骨修復度評価による関節鏡評価判定基準により評価し、それぞれの Grade の症例数を検討する。また、Grade III 以上の回復のなかった症例については、疾患背景について検討した。

3) 結果

(i) Lysholm Knee Score

Lysholm Knee Score を用いた臨床症状の評価結果は、以下のとおりである（表 23）。

① Lysholm Knee Score 合計ポイント

本品の移植 12 カ月後における Lysholm Knee Score の合計ポイントは移植前と比較して 24 例中 23 例（1 例は再移植のため評価なし）で上昇した。

② Lysholm Knee Score 各項目の正常化例の検討

本品の移植前に Lysholm Knee Score の各項目においてランクの低下していた症例は 24 例中「疼痛」24 例 (100%)、「階段昇降」20 例 (83.3%)、「ロッキング」17 例 (70.8%)、「膝の屈伸」16 例 (66.7%)、「跛行」15 例 (62.5%)、「膝の不安定性」14 例 (58.3%)、「腫脹」10 例 (41.7%)、及び「支持装具」3 例 (12.5%) であった¹⁵。このうち、本品の移植 12 カ月後にランクの正常化を認めた症例は「跛行」13 例 (86.7% (13/15 例))、「ロッキング」6 例 (35.3% (6/17 例))、「膝の不安定性」10 例 (71.4% (10/14 例))、「階段昇降」8 例 (40.0% (8/20 例))、「支持装具」2 例 (66.7% (2/3 例))、「腫脹」7 例 (70.0% (7/10 例))、「疼痛」10 例 (41.7% (10/24 例)) 及び「膝の屈伸」12 例 (75.0% (12/16 例)) であった。

③ Lysholm Knee Score 各項目の著明改善例の検討

本品の移植前に Lysholm Knee Score の各項目において 2 ランク以上のランクが低下していた症例は、24 例中「疼痛」21 例 (87.5%)、「膝の不安定性」11 例 (45.8%)、「階段昇降」10 例 (41.7%)、「ロッキング」5 例 (20.8%)、「跛行」及び「腫脹」が 4 例 (16.7%) であった。「膝の屈伸」及び「支持装具」ではランクの低下を認めなかった。このうち、本品の移植 12 カ月後にランクの著明改善を認めた症例は「疼痛」7 例 (33.3% (7/21 例))、「膝の不安定性」7 例 (63.6% (7/11 例))、「跛行」3 例 (75.0% (3/4 例))、「ロッキング」3 例 (60.0% (3/5 例))、「階段昇降」2 例 (20.0% (2/10 例))、及び「腫脹」2 例 (50.0% (2/4 例)) であった。

著明改善例は 5 例 (離断性骨軟骨炎 1 例、及び外傷性軟骨欠損症 4 例) であった。離断性骨軟骨炎の 1 例は軟骨欠損面積 1.8cm^2 で「疼痛」及び「膝の不安定」で 4 ランクの改善を認めた。一方、外傷性軟骨欠損症で軟骨欠損面積が 4.0cm^2 以上の症例は 2 例であり、「ロッキング」「膝の不安定性」で 2 ランク以上の改善を認めた複数欠損の 1 例と、「膝の不安定性」「疼痛」で 2 ランク以上の改善を認めた 1 例であった。また、外傷性軟骨欠損症で軟骨欠損面積が 4.0cm^2 未満の症例は 2 例で、「跛行」「膝の不安定性」「階段昇降」「腫脹」及び「疼痛」において 2 ランク以上の改善を認めた 1 例 (後に自殺企図を認めた)、「跛行」「ロッキング」「腫脹」及び「疼痛」に 2 ランク以上の改善を認めた 1 例であった。前者は本品の移植が骨接合術後 3 カ月以内に行われた症例であり、後者は鎮痛剤の影響が否定できない症例であった。

④ Lysholm Knee Score 各項目の増悪例の検討

本品の移植前に比較して、移植 12 カ月後に Lysholm Knee Score の各項目においてランクが増悪していた症例¹⁶は、24 例中「階段昇降」が 4 例 (16.7%)、「膝の屈伸」が 3 例 (12.5%)、「跛行」「ロッキング」「膝の不安定性」「支持装具」及び「腫脹」が

¹⁵ 移植片離層による再移植症例においては、移植 12 ヶ月後のスコアが得られていなかったため改善が確認されなかった症例として扱った。

¹⁶ 移植片離層による再移植症例においては、移植 12 ヶ月後のスコアが得られていなかったが、移植片離層は有効性の欠如によることも否定できないと考え、各項目における増悪の症例に含めて評価した。

2例(8.3%)、「疼痛」が1例(4.2%)であった。増悪例は移植片離層による再移植症例の外傷性軟骨欠損症の1症例を含む9例で、全例が外傷性軟骨欠損症であった。このうち、複数項目でランクの低下を認めた症例は2例であり、移植片離層の1例と、「跛行」「階段昇降」及び「支持装具」でランクの低下を認めた複数個所移植例であった。「階段昇降」においてのみランクの低下を認めた例は2例であり、いずれも軟骨欠損面積は4.0cm²未満で、1例は、本品の移植が外科的治療後3カ月以内に行われていた。また「膝の屈伸」においてのみ増悪した症例は2例であり、軟骨欠損面積はそれぞれ3.9cm²及び4.7cm²であった。他の増悪例については、「膝の不安定」「ロッキング」、及び「腫脹」の項目でランクの低下がみられた例がそれぞれ1例であり、いずれも軟骨欠損面積は4.0cm²未満であった。また「ロッキング」と「腫脹」にランクの低下を認めた症例は、いずれも本品の移植が外科的治療後3カ月以内に行われていた。

⑤ Lysholm Knee Score に影響すると考えられる因子の検討

症例毎の有効性評価の対象とした24例のうち、鎮痛剤の影響が否定できない症例は外傷性軟骨欠損症の2例であり、Lysholm Knee Score 合計ポイントは16及び42ポイント上昇した。また、それ以外の症例においてもLysholm Knee Score 合計ポイントは上昇していた。

軟骨欠損面積について、4.0cm²未満の軟骨欠損を有する症例は16例、4.0cm²以上の軟骨欠損を有する症例は8例(1例は移植片離層による再移植のため評価なし)であった。いずれの症例も軟骨欠損面積に関わらずLysholm Knee Score 合計ポイントは上昇していた。

また、本品の移植が外科的治療後3カ月以内に行われていた症例は、いずれも外傷性軟骨欠損症の8例(1例は移植片離層による再移植のため評価なし)であった。外科的治療後3カ月以内に本品を移植した症例、及びそれ以外の症例においてもLysholm Knee Score 合計ポイントは上昇していた。

いずれの因子についても、Lysholm Knee Score への特段の影響は認められなかった。

⑥ その他

その他、Lysholm Knee Score による臨床症状評価に影響を及ぼす可能性のあるものとして、損傷部位(大腿骨内側顆、外側顆及び膝蓋骨における損傷が各々13例、5例及び6例(1例は大腿骨滑車部との複数個所損傷))、複数個所損傷(2例)及び軟骨下骨変性(11例)が考えられる。いずれの症例の背景因子についても、Lysholm Knee Score への特段の影響は認められなかった。

(ii) 画像評価

提出された画像所見に対し、機構が行った画像評価を以下に示す(表24)。

① MRI 画像による軟骨欠損部(本品移植部)での軟骨組織の検出

症例毎の有効性評価の対象とした 24 例のうち、移植 12 カ月後の時点で MRI 画像を評価可能であった 22 例中、外傷性軟骨欠損症の 1 例（4.2%）でのみ、軟骨欠損部を新たに覆う、正常軟骨組織とほぼ同等の信号強度の組織が検出された。当該症例は左大腿骨内側顆に 2.9cm²の軟骨欠損を有する症例であり、Lysholm Knee Score も移植前の 73 点から移植 12 カ月後で 91 点に上昇し、関節鏡所見の改善を認めた。

② MRI 画像による軟骨欠損部（本品移植部）の高さの検討

正常軟骨とは断言できないものの、本品の移植 12 カ月後に軟骨欠損部周囲の高さまで組織形成が示された症例は、移植 12 カ月後の時点で MRI 画像を評価可能であった 22 例中 8 例（36.4%）であり、いずれも外傷性軟骨欠損症例であった。また、本品の移植 12 カ月後に軟骨欠損部周囲の高さまで組織形成が示されなかった症例は 7 例（31.8%）認められた。

一方で、本品移植部位が本来の軟骨より高く認められた症例が 22 例中 7 例（31.8%）であり、このうち、肥厚或いは膨腫と診断された症例が外傷性軟骨欠損症に 2 例認められ、大腿骨内顆の 4.5cm²の軟骨欠損に対して移植を行った症例、及び軟骨下骨変性を伴い左膝蓋骨の 4.9cm²の軟骨欠損に対して移植を行った症例であった。

③ MRI 画像による炎症所見の有無の検討

本品の移植前に炎症所見を認めた症例は 13 例で、移植 12 カ月後の MRI 画像で明らかに改善したと考えられる症例は 5 例（38.5%）であり、炎症所見が持続していると考えられる症例は 8 例（61.5%）であった。本品の移植後新たに炎症所見が出現したと考えられる症例は、関節液貯留が認められた外傷性軟骨欠損症の 2 例であり、軟骨欠損面積 3.1cm² 及び 3.1 と 1.5cm²の複数箇所欠損を有する 2 例（ともに軟骨下骨の変性はなし）であった。また、離断性骨軟骨炎で強い骨髄浮腫が見られる症例（1 例）が認められたが、原因及び病態は不明であった。

④ 関節鏡所見の変化

本品の移植 12 カ月後の関節鏡所見を ICRS の軟骨修復度評価による関節鏡評価判定基準を用いて評価可能であった 22 例において、Grade I（12 点）が 7 例（31.8%）¹⁷、Grade II（11～8 点）が 14 例（63.6%）¹⁸及び Grade IV（3～0 点）で 1 例（4.5%）であった。Grade IV であった症例は、離断性骨軟骨炎で軟骨下骨変性を伴った 2.4cm²の軟骨欠損に対し、本品の移植を行ったが、軟骨下骨の陥凹が強く、移植片離層を認めた症例であった。

¹⁷医療機器・体外診断薬部会終了後に訂正（訂正前：「Grade I（12 点）が 6 例（27.3%）」）

¹⁸医療機器・体外診断薬部会終了後に訂正（訂正前：「Grade II（11～8 点）が 15 例（68.2%）」）

表 23 Lysholm Knee Score

症例	合計		跛行		ロッキング		膝の不安定		階段昇降		支持器具		腫脹		疼痛		膝の屈伸		参考情報			
	最高100点	12カ月前	最高5点	12カ月前	最高15点	12カ月前	最高25点	12カ月前	最高10点	12カ月前	最高5点	12カ月前	最高25点	12カ月前	最高10点	12カ月前	最高5点	12カ月前	軟骨欠損面積 ¹⁹ (cm ²)	評価時の鎮痛剤使用 ²⁰	3か月以内の外科的治療 ²¹	その他
離断性軟骨軟骨炎																						
1	74	95	3	5	15	15	25	25	6	10	5	5	10	10	5	20	5	5	4.7	—	なし	
2	44	91	3	5	6	10	5	25	6	6	5	5	10	10	5	25	4	5	1.8	—	なし	
3	54	95	3	5	15	15	10	25	6	10	5	5	6	10	5	20	4	5	3.1	—	なし	
4	76	100	5	5	10	15	25	25	6	10	5	5	6	10	15	25	4	5	2.4	—	なし	移植片肥大、離層
5	76	81	5	5	10	10	25	25	6	10	5	5	6	2	15	20	4	4	3.1	—	あり	
6	31	99	0	5	10	15	5	25	0	10	2	5	0	10	10	25	4	4	1.5	—	あり	自費企画
7	53	55	5	3	10	10	25	25	2	0	5	2	2	6	0	5	4	4	1.8, 1.8	—	なし	パニック障害 複数箇所移植
8	67	81	5	5	10	10	25	25	2	6	5	5	6	10	10	15	4	5	2.5	—	なし	
9	86	100	5	5	15	15	20	25	6	10	5	5	10	10	20	25	5	5	4.9	—	なし	
10	54	96	0	5	6	15	20	25	2	6	5	5	2	10	15	25	4	5	1.8	不明	なし	
11	79	96	5	5	15	15	25	25	10	6	5	5	10	10	5	25	4	5	3.1	—	なし	
12	83	100	3	5	15	15	15	25	10	10	5	5	10	10	20	25	5	5	4.0	—	あり(採取時)	
13	81	95	5	5	15	10	25	25	6	10	5	5	6	10	15	25	4	5	1.8	—	あり(移植時)	
14	73	91	3	5	15	15	25	25	6	6	5	5	10	10	5	20	4	5	2.9	—	なし	
15	65	95	3	5	10	15	25	25	2	10	5	5	6	10	10	20	4	5	1.6	—	なし	
16	58	81	3	5	6	10	10	20	10	6	5	5	10	10	10	20	4	5	1.8	—	あり	
17	66	82	3	5	6	15	25	20	2	2	5	5	10	10	10	20	5	5	1.8	不明	なし	
18	40	80	0	5	10	10	5	20	0	6	5	5	10	10	5	20	5	4	3.9	—	あり	
19	64	74	3	3	10	10	15	20	6	6	5	5	10	10	10	15	5	5	4.5	—	なし	
20	61	91	3	5	10	10	10	25	2	6	2	5	10	10	20	25	4	5	1.2	—	あり(移植時)	移植片離層後 再移植
21	33	—	0	—	10	—	15	—	0	—	2	—	2	—	0	—	4	—	4.9	—	あり(採取時)	
22	65	85	3	5	10	10	20	25	2	6	5	5	10	10	10	20	5	4	4.7	—	なし	一部骨膜剥離
23	52	91	5	5	6	15	10	25	6	6	5	5	10	10	5	20	5	5	3.1, 1.5	—	なし	複数箇所移植
24	61	100	5	5	10	15	15	25	10	10	5	5	6	10	5	25	5	5	4.9	—	なし	

¹⁹ 複数の軟骨欠損を有する症例の場合、それぞれの欠損面積を記載した。

²⁰ Lysholm Knee Score の評価当日には鎮痛剤の使用なしと申請者により説明されたが、その最終内服時期が不明であるため、鎮痛効果が当該スコアに与える影響が不明であると考えた。

²¹ 外科的治療が本品の移植から遡って3か月以内に終わった症例を「あり」とし、行われていない症例を「なし」とした。

表 24 画像所見

症例	MRI										関節鏡		参考情報	
	前					12 カ月後					12 カ月後	ICRS 軟骨修復度評価 ²³	軟骨欠損面積 (cm ²) ²²	軟骨下骨変性の有無
	軟骨欠損部位	炎症所見	その他	軟骨再生像	移部の高さ	炎症所見	その他	軟骨浮腫、軟骨下骨高信号、関節液貯留、表面高信号、軟骨表面中心部陥凹(移植部肥厚後、途中剥離)、軟骨下骨再生、関節液貯留	軟骨欠損					
腫瘍性・骨軟骨炎														
1	左大腿骨内側顆	—	実施せず(金属)	なし	—	—	実施せず(金属)	10 (4.4.2)	4.7	あり				
2	左大腿骨外側顆	あり	軟骨下骨挫傷、関節液貯留	なし	低	なし	骨髄浮腫、軟骨下骨高信号	10 (4.3.3)	1.8	なし				
3	右大腿骨内側顆	あり	関節液貯留、軟骨信号強度不整	なし	低	あり	関節液貯留、表面高信号、	9 (3.3.3)	3.1	あり				
4	左大腿骨内側顆	あり	軟骨下骨陥凹、関節液貯留	なし	低	あり	軟骨表面中心部陥凹(移植部肥厚後、途中剥離)、軟骨下骨再生、関節液貯留	2 (2.0.0)	2.4	あり				
外傷性軟骨欠損症														
5	左大腿骨内側顆	あり	軟骨菲薄	なし	正常	あり	軟骨様組織(高信号)、関節液貯留	10 (4.2.4)	3.1	なし				
6	左大腿骨外側顆	なし	骨折部に軟骨欠損	なし	高	なし	移植部軽度過形成。骨内軟骨(骨折部)	11 (4.4.3)	1.5	あり				
7	右膝蓋骨	あり	強い炎症、関節液貯留	なし	高	あり	骨皮質下のう泡、関節液貯留、軟骨様組織(低信号)	実施せず	1.8, 1.8	なし				
8	左膝蓋骨	あり	関節液貯留	なし	低	なし	移植片生着(低信号)、軟骨下骨血流低下(同～低信号)	10 (3.3.4)	2.5	なし				
9	右大腿骨内側顆	なし	軟骨下骨挫傷、表面不整	なし	正常	なし	軟骨様組織(同～低信号)、表面平滑	12 (4.4.4)	4.9	あり				
10	左大腿骨内側顆	あり	表面不整、軟骨下骨低信号、関節液貯留	なし	高	なし	軟骨移植部やや肥厚	10 (4.3.3)	1.8	なし				
11	左大腿骨外側顆	なし	軟骨下骨領域不明、軟骨菲薄、	なし	低	あり	軟骨様組織(低信号)、移植軟骨表面陥凹、関節液貯留	12 (4.4.4)	3.1	なし				
12	左大腿骨内側顆	なし	軟骨下骨不整、軟骨高信号	なし	高	なし	軟骨様組織(同～低信号)肥厚様だが、軟骨下骨陥凹	12 (4.4.4)	4.0	なし				
13	左膝蓋骨	なし	軟骨下骨不整、非荷重部	なし	正常	なし	周囲軟骨と一塊となった軟骨様組織	10 (4.4.2)	1.8	あり				
14	左大腿骨内側顆	あり	軟骨一部欠損(高信号のみ)	あり	正常	あり	正常軟骨か(同～低信号)、関節液貯留	9 (4.4.1)	2.9	なし				
15	左大腿骨内側顆	なし	軟骨下骨より陥凹、境界不明	なし	正常	なし	軟骨様組織(低信号)、境界部高信号	12 (4.4.4)	1.6	あり				
16	右大腿骨内側顆	あり	骨髄低信号、軟骨菲薄	なし	正常	あり	関節液貯留、軟骨様組織(同信号)	12 (4.4.4)	1.8	なし				
17	右大腿骨内側顆	あり	骨髄軟下骨境界不明瞭、軟骨菲薄、関節液貯留	なし	高	あり	軟骨様組織(同～低信号) 近接骨髄低信号	9 (4.2.3)	1.8	なし				
18	左大腿骨内側顆	あり	骨髄低信号、軟骨菲薄	なし	正常	あり	軟骨様組織(同信号) 軟骨下骨低信号	12 (4.4.4)	3.9	あり				
19	左大腿骨内側顆	あり	骨髄低信号、軟骨下骨の不整	なし	高	なし	移植部膨隆、肥厚、表面不正(同～高信号)	12 (4.4.4)	4.5	なし				
20	左大腿骨外側顆	なし	軟骨表面高信号	なし	正常	なし	下骨の反応性骨リモデリング、軟骨様組織(同信号)	11 (4.4.3)	1.2	あり				
21	左膝蓋骨 ⁹	なし	軟骨欠損像	なし	—	—	実施せず	実施せず	4.9	あり				
22	右大腿骨外側顆	なし	骨髄低信号、軟骨菲薄	なし	低	—	表面一部不正、移植片不明	9 (2.4.3)	4.7	なし				
23	左膝蓋骨 大腿骨滑車部	なし	骨髄低信号、膝蓋骨不整強度	なし	低	あり	膝蓋骨側は軟骨様? 滑車側不明瞭、関節液貯留、	11 (4.4.3)	3.1, 1.5	なし				
24	左膝蓋骨	あり	軟骨下骨炎症、関節液貯留	なし	高	なし	移植部肥厚(軟骨様組織高信号)	11 (4.4.3)	4.9	あり				

22 複数の軟骨欠損を有する症例の場合、それぞれの欠損面積を記載した。

23 括弧内の数値は ICRS の軟骨修復度評価の各項目(修復度、境界、表面)のポイントを指す(表 13 参照)。

4) 有効性の総括

本品の移植 12 カ月後に臨床症状の評価が可能であった 23 例全例において、Lysholm Knee Score の合計ポイントが上昇しており、各項目のランクの正常化又は 2 ランク以上の改善例が多く認められた。特に、「疼痛」、「跛行」及び「膝の不安定性」とそれに関連した臨床症状の項目にランクの改善が多く認められたことから、本品が対象患者の症状軽快、特に疼痛緩和に寄与する可能性が示唆された。これら臨床症状の評価に影響を与える因子については、症例数も限られているため評価には限界があるものの、本品の移植前後において、いずれの背景因子をもつ症例においても Lysholm Knee Score 合計ポイントの上昇を認めていた。機構が評価対象とした症例の範囲内で、患者の背景因子は本品移植後の臨床症状の改善に対しては大きく影響しないという結果であった。症例毎の有効性評価対象とした症例のうち最大軟骨欠損面積は 4.9 cm² であり、欠損面積の大きい軟骨欠損症例においても臨床症状の改善傾向が期待される結果であった。

ただし、臨床症状の改善に関しては、機構が症例毎の評価において検討した背景因子の他にも、臨床症状の改善に影響を及ぼす因子はあると考える。特に、通常の医療行為として行われるリハビリテーションによる筋力及び支持組織の補強が運動機能に与える効果は診療の現場において周知されており、本品移植後の臨床症状のスコア上昇に関しては、同時に実施されていたリハビリテーションが寄与している可能性は否定できない。

一方、本臨床試験で取得された MRI 画像所見については、移植の前後で軟骨欠損部の高さや炎症所見の軽快傾向が認められた。また、関節鏡評価については、骨膜パッチ上からの評価ではあるものの、軟骨欠損部の修復傾向が認められた。しかしながら、機構及び専門協議における検討の結果、MRI 画像による評価の限界はあるものの、本品移植 12 カ月後において、本品が正常軟骨様組織に置き換わる画像や硝子軟骨の特徴を示す所見は得られていないと評価した。MRI 画像については、撮像条件が臨床試験計画時に事前に十分に検討されておらず、症例毎に異なっており、必ずしも軟骨を検出するのに適した画像が得られたとは言い難いことを考慮すると、適切な撮像条件下では、軟骨修復像が得られた可能性は否定できないものの、機構は、本臨床試験で得られた画像所見からは、本品による軟骨の再生を裏付けるデータは示されていないと考える。

なお、米国で 1997 年に承認された Carticel[®] 及び欧州で 2009 年に承認された ChondroCelect[™] では「軟骨欠損の修復」に関する適応が認められているが、それぞれの臨床試験において組織切片又は生検による組織形態評価により硝子軟骨様の像が確認されており、本臨床試験成績とは差異がある。

以上より、本品による軟骨の再生を裏付けるデータは示されておらず、また、本品移植後 12 カ月以降において患者の経過に及ぼす本品の影響について評価していない点が課題として残るものの、本品移植 12 カ月後の時点において、少なくとも症例毎の有効性評価対象とした被験者において臨床的意味のある臨床症状スコアの改善傾向が認められたと考える。

(6) 安全性評価

1) 安全性に関する情報

機構は、申請者が実施した本臨床試験の安全性解析について、対象集団設定、有害事象の定義、及び有害事象と本品の関連性の判断について説明を求めた。

申請者は、以下のように説明した。本品の有害事象とは「組織採取、移植手術に起因する好ましくない症状全般」であり、本品を移植なしでも発症したと考えられる事象については、有害事象として扱わない。また、本品の安全性の解析集団から組織採取のみで移植を行わなかった例を除外した。

機構は、有害事象とは、本品に起因するしないに関わらず「治験期間中に発生した全ての好ましくない事象」を示すものであり、本来の定義に従って広く情報を収集することが重要であると考えたため、申請者に対して次のように安全性情報の整理を求めた。

- ① 安全性解析集団に、組織採取のみで移植を実施しなかった 1 例を加え 33 例とすること
- ② 治験担当医師が有害事象ではないと判断したものの、症例報告書に記載してある治験期間中に発症したあらゆる好ましくない事象について、再度情報を整理すること
- ③ 本品との関連性の判断として、本品自体が引き起こす事象以外にも、本品に起因する手技に起因する有害事象、本品との因果関係が否定できない有害事象についても関連性を十分考察すること

以上を踏まえ、申請者は以下のような安全性情報を提出した。

安全性解析対象集団は本品を移植した 32 例と、軟骨採取のみで移植を実施しなかった 1 例での計 33 例とした。有害事象は、22/33 例(66.7%) 64 件であり、不具合は 5/33 例(15.2%)、13 件であった。重篤な有害事象は 5/33 例(15.2%) 12 件(適用部位疼痛 3 件、移植片剥離 2 件、関節可動域低下 2 件、処置後腫脹 2 件、移植片肥大 1 件、自殺企図 1 件及び抑うつ症状 1 件)であった。このうち、不具合は 3/33 例(9.1%) 10 件(適用部位疼痛 3 件、移植片剥離層 2 件、関節可動域低下 2 件、処置後腫脹 2 件及び移植片肥大 1 件)であった。本臨床試験で報告された不具合を表 25 に示す。

表 25 本臨床試験で報告された不具合

事象名 (重篤度)	不具合
適用部位疼痛 (重篤)	3 例 3 件
移植片離層 (重篤)	2 例 2 件
関節可動域低下 (重篤)	2 例 2 件
処置後腫脹 (重篤)	2 例 2 件
腕の発赤腫脹 (非重篤)	2 例 2 件
移植片肥大 (重篤)	1 例 1 件
適用部位熱感 (非重篤)	1 例 1 件

2) 安全性評価

機構は、本品に関連したと考えられた不具合について、申請者の回答をもとに検討を行った。

① 移植部肥大

本臨床試験において1例が移植片肥大と、それに引き続く移植片離層によって疼痛、腫脹及び関節可動域低下をともなった重篤な有害事象として報告された。当該症例は、移植時に、変性した軟骨下骨からの出血を認め、顆間部は骨膜の縫着が不完全であった。移植8カ月後に上記事象が発現したため遊離体摘出を行っており、組織像では、遊離片の剥離面に線維性軟骨を認めた。申請者は、被覆に用いた骨膜の肥厚の可能性があることに加え、軟骨下骨からの出血由来の骨髄細胞由来間葉系幹細胞が、線維性軟骨に分化・増殖した可能性があると説明し、また、離片部に認められた線維性軟骨が本品の分化に起因する可能性も否定できないことから、適切に注意喚起する必要があると説明している。

機構は、本臨床試験で報告された1例からは、肥大の病態や原因について議論することは困難であるものの、同様事象が類似臨床研究にて報告されていること（Carticel[®]（自家培養軟骨細胞）の臨床研究（Zaslav K *et al. Am. J Sports Med.*, 37:42-55, 2009）、越智らの臨床研究）も鑑み、情報提供を行う必要があると考える。骨膜肥厚の可能性については、移植時の厚さ調整等の取り扱い時の注意、また軟骨下骨からの出血に起因した組織増殖の可能性が否定できないのであれば、軟骨下骨変性や出血を認める患者、及び何らかの出血のリスクがある患者については注意喚起することが必要であると考えた。遊離片の線維性軟骨が本品の分化に起因する可能性についても、申請者の説明とおおり、適切に注意喚起する必要があると考える。加えて、有害事象としての報告はなかったものの、移植12カ月後のMRI画像上、移植片の肥厚及び膨隆所見（各1例）、明らかな肥厚ではないものの周囲軟骨の高さを超えた所見（5例）が認められていることを踏まえると、移植部肥大に関しては今後の情報収集が必要であると考えられる。

② 移植片離層

重篤な有害事象として、移植片離層が2例に認められた。1例は移植部肥大とともに報告されたものであるが、もう1例は移植3カ月後に膝の屈曲に伴って発生した。機構は、運動動作による本品の剥離は1例のみで、組織像等は検討もなく、その原因は不明であるものの、移植3カ月を経過して荷重による剥離の可能性があるのであれば、手術後の荷重動作に対する注意喚起が必要であると考えられる。したがって本事象に関しても添付文書等において注意喚起を行い、今後の情報収集が必要であると考えられる。

③ 関節可動域低下

重篤な有害事象として、関節可動域低下が2例に認められた。1例は移植部肥大及

び離層とともに報告されたものであるが、1例は変形性膝関節症の患者において移植前に出現した可動域制限が、本品の移植後に増悪したものである。機構は、変形性膝関節症はその臨床経過が外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎とは異なるものの、本品の移植後に症状が増悪した報告はまれであり、本事象が手術後2カ月に改善した一時的なものであったにしても、当該内容の情報提供を行うとともに、今後の情報収集が必要であると考ええる。

④ その他

本臨床試験の有害事象として報告された事象ではないが、機構が重要であると考ええる不具合には「移植片骨化」と「移植後関節液貯留」がある。申請者は、移植片骨化については越智らの臨床研究（Ochi M, *et al. J. Bone Joint Surg. Br.*, 84:571-578, 2002）において1例が認められ、申請者は、移植部周囲の軟骨下骨及び骨髄から骨形成能を有する細胞が浸潤し骨化したと考えるのが妥当であり、仮に本品の骨化が進行したとしても大きな問題はないと説明している。しかし、機構は、移植部骨化は関節機能の制限等、新たな症状発現に関わる可能性も否定できず、臨床的にも重要であると考ええる。また、臨床研究の報告例では、組織的評価は行われておらず、その機序を含めた詳細は不明であるため、本品自体の骨細胞への分化及び、移植時に用いる骨膜の影響の可能性もあると考える。したがって、本事象について注意喚起を行うとともに、今後の情報収集が必要であると考ええる。

また、機構が行った症例毎の有効性評価において、MRI画像上、本品移植12カ月後まで炎症に起因すると考えられる関節液貯留が持続した症例が認められ、予後のデータが得られていない事を踏まえると、本事象に関しても、適切な情報提供、及び今後の情報収集が必要であると考ええる。

3) 長期安全性

機構は、本品の長期安全性について説明を求めた。

申請者は、本品の長期安全性について、観察期間である12カ月の評価終了後、追跡調査として本品を移植した32例中、23カ月以降に26例、及び35カ月以降に19例を、また、調査時点において48カ月を経過していた16例中7例（最長51カ月）の安全性情報を収集し、参考資料として提出した。当該内容から、観察された症例において重篤な有害事象は報告されなかった旨の説明をしている。

機構は、本臨床試験において、移植12カ月後のMRI画像において、軟骨の高さが正常軟骨を超える症例、及び炎症に起因すると考えられる関節液貯留を認める症例が散見されることより、これらの事象が長期経過において移植片肥大・離層や炎症反応の持続といった有害事象と関連する可能性があると考えた。さらには、本品の有効性に対する機序が説明

されていないことを踏まえると、臨床試験の安全性情報からは想定されない有害事象の発症の可能性もあり、リスク低減化を検討する事も困難である。

したがって、提出された参考資料において、本品移植後最長 51 カ月までの長期観察例に、重篤な有害事象は報告されていないことは重要な情報であるものの、症例数も限られていることを考慮し、今後も継続的に長期安全性について検討する必要があると考える。

4) 安全性の総括

以上の結果より、機構は、本臨床試験の対象患者に報告された全有害事象において、本品との関連が強く示唆される重大な不具合を認めない点、発症した事象が自然経過あるいは何らかの治療によって軽快又は治癒を認めている点を考慮すると、移植 12 カ月後まで本品の安全性については忍容可能と考える。しかし、評価対象とされた症例は少数例であり、安全性のデータが限られていることを考慮すると、今後さらに情報を収集する必要があると考える。特に、移植部肥大、移植片離層、関節可動域低下、移植片骨化及び関節液貯留といった事象に関しては、今後の重点項目として、検討すべきであると考え。

(7) 本品の臨床的位置づけについて

本品による軟骨の再生は明確には示されてはおらず、機構が評価対象とした症例の範囲（最小軟骨欠損面積 1.2cm²、最大軟骨欠損面積 4.9cm²）においては、本品の寄与の程度は不明確な部分があるものの、臨床症状スコアの改善傾向が認められた。また、安全性に関しては参考資料ではあるものの、最長で本品移植 51 カ月後までの安全性情報の中に、本品の使用に関して、忍容できない問題点は認められなかった。

提出された臨床試験成績については、対象疾患の選定及び有効性の評価方法といった試験デザインに問題点があったことから、本臨床試験から有効性を評価することは困難であり、また、本臨床試験において本品が有効と判断するための達成基準や検証すべき仮説はあらかじめ設定されておらず、既存治療に対する本品の有効性及び安全性に関する比較検討はできていないため、申請者が主張する既存治療の適応となる患者層も含めた本品の臨床的位置づけは説明できていない。したがって、標準的に受け入れられている外科的治療法の適応となる患者に対して本品を適用するためのエビデンスは現時点では得られておらず、他に治療法の選択肢がある患者に本品を適用すべきではないと考える。

一方、本品の対象疾患である外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎に対し、現在本邦において標準的に受け入れられている外科的治療法として骨穿孔法及び自家骨軟骨柱移植術があるものの、比較的大きい軟骨欠損を有する症例に対してはその実施に制限があることが知られている。大きい軟骨欠損を有する症例は、若年者及び活動能力の高い成人におけるスポーツ外傷として診療される事が多く、当該患者においては、疼痛や可動域制限といった臨床症状から日常生活やスポーツ活動が制限されるのみならず、長期的には比較的早期の変形性膝関節症に移行することが懸念される。

前述の「(4) 本臨床試験における有効性評価の方法について」での議論等も踏まえ、機構の行った本品移植前後の症例毎の有効性評価は、事後的なものであり、評価には限界がある。しかしながら、当該症例評価の結果から、軟骨欠損面積の大きい症例、具体的には、自家骨軟骨柱移植術の適応上限であると考えられている 4cm^2 以上の軟骨欠損を有する症例の中には、本品が当該患者に対する唯一の外科的選択肢となる可能性があり、臨床症状の改善を目的とした新たな治療機会を提供するものとして本品の臨床的意義があるものと考ええる。

4. 承認申請書に添付すべき資料に係る適合性調査結果等

薬事法の規定に基づき承認申請書に添付すべき資料に対して書面による調査を実施した。

調査の結果、本品の承認申請当初に評価資料として提出された「治験総括報告書」（添付資料へー1）及び「治験総括報告書追補」（添付資料へー2）について、術後 12 カ月目の観察期間終了後に治験終了届書が治験依頼者から機構に提出されており、添付資料へー2のうち術後 12 カ月目以降 24 カ月目までの資料は、GCP を遵守して収集・作成されていなかったことが確認されたことから、評価資料から削除し、参考資料として取り扱うこととした。

また、申請者から、提出した資料の一部に、治験実施計画書において規定していない検査等の成績を記載していた旨の説明があり、当該成績についても評価資料から削除し、参考資料として取り扱うこととした。

それ以外の資料については、特に問題が認められなかったことから、以上の削除等の措置を講じた上で提出された資料に基づき審査を行うことについては支障のないものと判断した。

5. その他

本品の承認申請時の資料においては、以下のような承認審査における重要な事項に関する情報・説明が不足していた。

- 製造方法、品質特性解析、品質管理の妥当性
- 効力又は効果を裏付ける試験結果の考察の妥当性
- 適応対象の考え方及びその根拠
- 適応対象に対する既存の治療法及び本品の臨床的位置付けの考え方及びその根拠
- 臨床試験における対象の選択の適切性
- 臨床試験における有効性評価
- 臨床試験における安全性評価

機構は、審査にあたっては、これらの事項について逐一申請者に説明を求めたが申請者

から適切な回答が提出されず、申請内容及び論点の整理を進めることに長期間を要した。本品の開発目的は「軟骨組織の修復」として申請されたが、品質試験における培養軟骨細胞に関する特性解析等や、非臨床試験における本品の効力又は効果を考察するための詳細な組織評価等が行われておらず、軟骨組織の修復に関連する特性及び機能に関するデータが提出されていなかったため、申請者が主張する根拠の説明を確認することに時間を要した。また、本品の製造工程中で使用する原材料の生物由来原料基準への適合性が確認されずに申請されたこと、申請後に原材料の切り替えに伴う必要な対応が適切に行われなかったことも審査に時間を要した原因であったと考える。また、「へ. 臨床試験成績に関する資料 (4) 本臨床試験における有効性評価の方法について」で述べたように、提出された臨床試験は試験デザインに問題点があり、提出された臨床試験成績から本品の有効性及び臨床的位置付けを評価することは困難であるとの機構の判断が専門委員により支持されたことを踏まえ、申請者に対して本品の有効性、安全性及び臨床的位置付けに関して再度検討を指示したが、問題解決の適切な対応はなされなかった。結果として、専門協議において指摘が出された後に、症例毎の有効性の検討を機構自らがを行い、本品の臨床的位置づけを見出す可能性について検討を行ったことも、審査時間を要した原因であったと考える。

機構は、申請品目に対する承認審査の判断を行う際の重要な事項について、申請者からの論理的な説明なしに審査を効率的に進めて結論を導くことは難しいと考える。申請者には自身の対応の不十分さを認識し、今後は万全の体制を構築して承認申請に臨むことを望む。

また、臨床試験成績に関しては、「4. 承認申請書に添付すべき資料に係る適合性調査結果等」で述べたとおり、GCP 上、適切性を欠いて収集・作成された資料が存在した。臨床試験に係わる手続や実施管理の不手際が二度と起こらないよう、申請者は GCP 遵守に傾注する必要があると考える。

6. 総合評価

提出された非臨床試験及び臨床試験の資料から、機構は、本品の開発目的とされた軟骨欠損部位の補綴と軟骨基質の産生による軟骨組織の修復に関する成績は示されていないものとする。

また、臨床試験においては、対象患者が有効性評価を別々に行うべき対象疾患と疾患部位が混在する集団として設定され、対象疾患の特性の違いに応じた本品の適切な有効性評価がなされていないため、提出された臨床試験成績のみから本品の有効性を評価することは困難であると判断する。

しかし、個々の被験者における本品の有効性について、臨床的観点から個別に評価した結果、本品の寄与の程度は不明確な部分があるものの、移植後 12 カ月時点においては外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎の臨床症状が改善する傾向は認められたと考える。

また、安全性については、生物由来製品として感染症リスク等はあるものの、少なくとも移植後 12 カ月までは本品の安全性について忍容可能であると考ええる。

以上から、外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎については、本品の移植により臨床症状の改善傾向が認められたことから、他に治療法のない患者に対して新たな治療機会を提供する観点から、標準的な外科的治療法がない軟骨欠損面積が 4cm² 以上の外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎に限って本品の臨床的意義はあるものと考ええる。

ただし、本品を製造販売するにあたっては、本品は整形外科領域において本邦初の細胞・組織加工製品であること、現時点において有効性を示す情報が限られていること、また、本品に関する有効性及び安全性に関する知見の収集は、本品の適正使用に資するだけでなく、今後の同分野の製品開発等に貴重かつ有用となると考えられることを踏まえ、以下の対応が必要と考える。

- ・使用する医師及び医療機関について

本品の使用にあたっては、膝関節の外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎の治療に対する十分な知識・経験を有する医療機関及び医師により、本品の取扱いについて製造販売業者が実施する講習等により十分に習熟した上で使用されること。また、患者の疾患の状態や他の治療法の適用の可否について十分に検討した上で本品の適用患者を選択すること。

- ・患者又はその家族への情報提供について

本品の特性や臨床試験成績に関する情報が限られていること、及び本品の移植後に軟骨組織が形成されるデータは得られていないことを含めた本品の正確な情報について、患者又はその家族に十分に説明が行われること。そのために患者又はその家族に対して、文書を用い、適切な説明が行われ、文書による同意を得られた上で使用すること。

- ・製造販売後の使用成績調査について

臨床試験の症例数が限られていることから、製造販売後の一定期間は全症例を対象とした使用成績調査を実施すること。また、安全性や適正使用に関する情報を、適宜、医療現場や学会等に遅滞なく情報提供すること。

- ・本品の品質の向上について

本品の品質特性と、安全性及び有効性との関連について明確になっていないことを踏まえ、本品の品質特性に関する詳細なデータ及び科学的知見の情報を引き続き収集し、本品の規格及び試験方法の設定を含めた品質管理方法について、必要に応じて見直しを検討すること。

以上の審査を踏まえ、機構は、下記の承認条件を付した上で、使用目的、効能又は効果を以下のように整備し、本品を承認して差し支えないと判断する。

【使用目的、効能又は効果】

膝関節における外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎（変形性膝関節症を除く）の臨床症状の緩和。ただし、他に治療法がなく²⁴、かつ軟骨欠損面積が 4cm² 以上の軟骨欠損部位に適用する場合に限る。

【承認条件】

1. 本品の有効性及び安全性を十分に理解し、膝関節の外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎の治療に対する十分な知識・経験を有する医師及び施設において、適切な症例を選択して用いられるように必要な措置を講じること。
2. 製造販売後の一定期間は、本品の使用症例の全例を対象に使用成績調査を実施し、本品の有効性及び安全性に関するデータを収集し、必要により適切な措置を講じること。

なお、本品は、新構造医療機器に該当し、本品の特性及び対象患者数を考慮し、再審査期間は7年とすることが適当と考える。また、本品は自己由来細胞を加工した製品であり、製造工程で使用される原材料等から、生物由来製品に該当すると判断する。

本件は、医療機器・体外診断薬部会において審議されることが妥当であると判断する。

²⁴医療機器・体外診断薬部会終了後に訂正（訂正前：「他に治療法が無く」）