

平成 23 年度戦略的技術開発委託費
医療機器等の開発・実用化促進のためのガイドライン策定事業
(医療機器に関する開発ガイドライン作成のための支援事業)

再生医療分野（組織[軟骨]再生における性能評価技術）

開発WG 報告書

平成 24 年 3 月

独立行政法人 産業技術総合研究所

平成 23 年度 再生医療分野（組織[軟骨]再生における性能評価技術）開発 WG 委員名簿
（敬称略、※座長）

氏名	所属
※ 牛田 多加志	東京大学大学院 医学系研究科 疾患生命工学センター 教授
安達 伸生	広島大学病院 整形外科 准教授
北村 信人	北海道大学大学院 医学研究科 機能再生医学講座 講師
佐藤 正人	東海大学 医学部医学科 整形外科学 准教授
菅原 桂	(株) ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング 研究開発部 上席研究員
関矢 一郎	東京医科歯科大学 軟骨再生学 教授
中村 憲正	大阪保健医療大学 保健医療学部 教授
袴塚 康治	公益社団法人 日本セラミックス協会 生体関連材料部会 幹事
服部 耕治	甲南女子大学 看護リハビリテーション学部 教授
堀井 章弘	オリンパス株式会社 研究開発センター 治療技術開発部 副部長
森田 有亮	同志社大学 生命医科学部 医工学科 教授
山我 美佳	帝人ファーマ株式会社 創薬推進部 プロジェクトマネージャー
渡辺 淳也	帝京大学ちば総合医療センター 整形外科 准教授

開発 WG 事務局

弓場 俊輔 産業技術総合研究所 健康工学研究部門

再生医療分野（組織[軟骨]再生における性能評価技術）開発 WG 委員会 開催日

第 1 回開発 WG 委員会

開催日 平成 23 年 12 月 14 日 (水)

第 2 回開発 WG 委員会

開催日 平成 24 年 2 月 23 日 (木)

目 次

1. 当該技術分野の概要とガイドライン策定の意義.....	1
2. ガイドラインの検討過程.....	2
2.1 開発 WG 委員会概要	
2.1.1 第 1 回開発 WG 委員会議事録	
2.1.2 第 2 回開発 WG 委員会議事録	
3. ガイドラインの検討結果.....	6
開発ガイドライン（品質管理）素案	
開発ガイドライン（非臨床評価）素案	
4. 平成 23 年度の総括と今後の展望	43

参考資料

1. 開発ガイドライン（臨床評価）素案
2. FDA ガイダンス(2007 年度版)

1. 当該技術分野の概要とガイドライン策定の意義

1994年にBrittbergらによって自己培養軟骨細胞移植術が報告されると、細胞移植・再生医療技術により関節軟骨の完全な修復が可能となるとの期待が高まった。1995年から米国ではGenzyme社が細胞単離・培養工程を事業化し、全世界で1万例以上の軟骨損傷へ臨床応用されている。また、Lysaghtらによれば2007年の再生医療製品の市場規模は15億ドルであり、Living skin equipment / cartilageの規模は9千万ドルと試算している。現在、ヨーロッパ各国やアジアの一部でも再生軟骨製品の開発販売が進んでいるが、日本ではジャパン・ティッシュ・エンジニアリングの培養軟骨の申請中のみで、未だ製造販売には至っていない。

我が国は、再生医療に係わる基盤技術開発に優れ、新しい再生医療技術確立・普及化へのポテンシャルを有しており、産業への応用を見据えた、科学的根拠に基づいた製品の安全性評価を適正かつ迅速に進めるための共通した指標が最近になってようやく定められた。それは、厚生労働省から発出された平成20年2月8日付け薬食発第0208003号厚生労働省医薬食品局長通知、及び平成20年9月12日付け薬食発第0912006号厚生労働省医薬食品局長通知であり、ヒト由来の細胞・組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性を確保するための基本的技術案件が定められている。軟骨再生医療に限ると、平成21年度の再生医療審査WGにより関節軟骨再生に関する評価指標（案）が作成され、その内容は既に平成22年12月15日付け薬食機発1215第1号厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室長通知「次世代医療機器評価指標の公表について」として公表されている。

しかしながら、それらは安全性に重きをおいた指標であり、性能評価に関する指標を今後、充実させる必要がある。一方、さらなる産業化には指標の国際標準化への取り組みも重要で、その事例として、東京大学牛田教授を中心とした活動として、“Implants for surgery—Quantification of sulphated glycosaminoglycans (sGAG) for evaluation of chondrogenesis”のISO TC/150/SC7への提案が挙げられる。

そこで、本ワーキンググループ（以下、WGと記す）では、我が国における再生医療の普及に向けて、国際標準化も睨みつつ、軟骨再生における性能評価技術の開発ガイドラインを策定することで、産業化推進のツールとして役立てることを目標とする。

2. ガイドラインの検討過程

2.1 開発 WG 委員会概要

今年度の活動概要は以下のとおり。第 1 回委員会にて、昨年度決定した開発ガイドラインの具体的項目、すなわち、品質管理（細胞評価・製品の安定性評価・評価法バリデーション）、非臨床評価技術（生化学的評価・組織学的評価・分子生物学的評価・形態学的評価・力学的評価・動物試験）、臨床評価技術（疼痛・関節機能等改善の臨床症状・機能評価・画像診断評価）について委員全員の合意を得た上で、素案作成作業に向けた委員の分担を決定した。品質管理については、企業委員の菅原・山我・堀井・袴塚委員、非臨床評価技術については、工学・基礎医学分野に明るい牛田委員長・関矢・服部・渡辺・堀井・森田・佐藤委員、臨床評価技術については、臨床医学分野に明るい中村・北村・安達・渡辺委員が担当した。第 2 回委員会では、各分担班で作成した素案について、班代表からの説明があり、委員全員で素案に対する質疑応答の後、開発ガイドライン策定に向けた次年度の方針についても討議した。

2.1.1 第 1 回開発 WG 委員会

(1) 開催日時 平成 23 年 12 月 14 日（水）15:00～17:00

(2) 開催場所 オフィス東京 2 階 L 会議室（東京都中央区京橋 1 丁目 6 番 8 号）

(3) 出席者

委員：牛田 多加志、北村 信人、佐藤 正人、菅原 桂、関矢 一郎、中村 憲正
袴塚 康治、服部 耕治、堀井 章弘、森田 有亮、山我 美佳、渡辺 淳也

経済産業省：村上 一徳

国立医薬品食品衛生研究所：澤田 留美、加藤 玲子

医薬品医療機器総合機構：藤井 道子

産業技術総合研究所：廣瀬 志弘、山岸 正裕

事務局：弓場 俊輔、本間 一弘（産業技術総合研究所）

(4) 配布資料

資料 1. 議事次第

資料 2. 委員名簿

資料 3-1~4. "Osteoarthritis and Cartilage" Vol.18, No.S3 (2010)

OAC Histopathology Supplement

資料 4-1~4. "Cartilage" Review (2010) and ICRS Recommendation Papers (2011)

資料 5. 海外における ACI 治験状況

資料 6. 平成 22 年度再生医療分野（組織[軟骨]再生における有効性評価技術）開発 WG 報告書（案）

資料 7. 厚生労働省通知（薬食機発第 1215 第 1 号 平成 22 年 12 月 15 日付

「次世代医療機器評価指標の公表について」）

(5) 議事抄録

ガイドライン策定作業に向け、項目についての最終確認を主な目的として委員間で得るべきコンセンサスについて討議した。

- 自家細胞のみならず、他家細胞をも包含するようなガイドライン
- ガイドラインは、必ず拘束力のあるものではなく、必要に応じて取捨選択できるもの
- 適応疾患は限定せず、限局性の軟骨欠損程度にとどめる。
- 推奨試験法（動物実験では使用動物種）やそれに関する参考情報（文献・関連する海外ガイドライン等）を記載。ただし、そこに規格値を設定するのは困難。
- GLP 実験施設が少ないこと等の国内事情を勘案したもの
- 臨床評価では、バイオプシーを行わないのが世界的潮流で、今後は MRI 等の画像診断。
- 品質管理としての製品の安定性については、スキャフォールド中の細胞生存を評価する場合、あるいは長期保存における場合について今後議論する。
- 臨床評価の項目として、主観的（患者立脚型）評価・客観的（医師立脚型）評価・画像診断では？
- 臨床試験デザインについては、エンドポイントは特に 1 次では海外でコンセンサスが出来上がっているし、比較試験の有無・症例数についても海外の状況を参考にしてはどうか？

以上のような議論を通じ、次回委員会に向け、「品質管理」・「非臨床評価技術」・「臨床評価技術」の 3 項目について各班を編成し、班毎に素案作成することとなった（項目毎の担当委員は第 1 回委員会後、メールにて決定）。

品質管理については、細胞評価・製品の安定性評価・評価法バリデーション（菅原・袴塚・山我・堀井委員）

非臨床評価技術については、生化学的評価・組織学的評価・分子生物学的評価・形態学的評価・力学的評価・動物試験（牛田座長・関矢・服部・渡辺・堀井・森田・佐藤委員）

臨床評価技術については、疼痛・関節機能等改善の臨床症状・機能評価・画像診断評価（中村・北村・安達・渡辺委員）

2.1.2 第 2 回開発 WG 委員会

(1) 開催日時 平成 24 年 2 月 23 日（木）15：00～17：00

(2) 開催場所 オフィス東京 地階 S 会議室（東京都中央区京橋 1 丁目 6 番 8 号）

(3) 出席者

委員： 牛田 多加志（座長）、安達 伸生、北村 信人、佐藤 正人、菅原 桂、
中村 憲正、袴塚 康治、服部 耕治、堀井 章弘、森田 有亮、山我 美佳
渡辺 淳也

経済産業省：村上 一徳、長部 喜幸

国立医薬品食品衛生研究所：松岡 厚子、澤田 留美、加藤 玲子

医薬品医療機器総合機構：河野 健

産業技術総合研究所：廣瀬 志弘、山岸 正裕

事務局：弓場 俊輔、本間 一弘（産業技術総合研究所）

(4) 配布資料

- 資料 1. 開発ガイドライン（品質管理）素案
- 資料 2. 開発ガイドライン（非臨床評価）素案
- 資料 3. 開発ガイドライン（臨床評価）素案
- 資料 4. FDA ガイダンス(2007 年度版)

(5) 議事抄録

各分担任（「品質管理」・「非臨床評価技術」・「臨床評価技術」）代表から、素案についての説明があった後、委員間で交わされた質疑応答は以下のとおり。

- 品質管理は、最終製品に軟骨細胞が含まれる場合と含まれない（間葉系幹細胞のみ含む）場合に分けた。
- 細胞数並びに生存率・確認試験（形態学的指標の他に、最終製品に軟骨細胞を含む場合、生化学的指標・遺伝子発現について、軟骨細胞を含まない場合は、重要中間体・遺伝型・遺伝子工学的改変法・免疫学的指標について試験）・細胞の純度試験・効能試験・製品安定性（製品の有効期限決定）・非生体材料及び最終製品の生体適合性・力学的適合性試験（最終製品に軟骨細胞を含む場合のみ）を行うこととし、素案を作成した。
また、品質管理評価方法のバリデーションについても、測定法の妥当性を確認することが重要と考え、言及した。
- 非臨床評価や臨床評価との整合性（生化学的指標・遺伝子発現・力学的適合性・組織評価等）やリンクも考慮すべき。
- 最終製品の出荷試験に特化した部分とそうでない非臨床試験の部分を分けた記載も望ましい。
- 使いやすいガイドラインを目指し、1 枚の表に表現することも検討（非臨床評価・臨床評価も併記）
- 企業として負担となる過度な試験を行わないためにも、細胞種等事例に応じて設定値等個別に適切に設定していただくよう策定。
- FDA ガイダンス等海外のものと体裁を揃えることに。

非臨床評価技術は、生化学的評価・組織学的評価・分子生物学的評価・形態学的評価（肉眼的評価）・力学的評価（動的評価・静的評価）・動物試験（動物種・疾患モデル）を行うこととし、素案を作成した。

- 特に開発段階におけるガイドラインを意識したが、品質管理のものと重複する部分もあって、うまく整合あるいは統合していく予定。
- 評価項目にある評価法を全て行わなくてはいけないわけではない表現として、「推奨」・「紹介」のような記載の仕方も。
- ICRS のスコアのような国際的な評価基準も、定量的な評価法として取り込み、その妥当性に

ついて考慮しながら位置づけを今後検討する方針。

- 力学試験については、単純押込み試験のような静的試験が簡便であることから、それも併用しつつ、動的な粘弾性試験を、工学を専門とする視点から推奨する。
- 動物試験については、用いる動物種が問題で、ICRS のガイドラインが参考になる。ここで概念研究では小動物を用いるが、臨床応用を目指す場合、臨床での使用を想定した動物モデルを使うことが肝要。
- 信頼性保証を目的に有効性について動物試験を行う場合、特に日本では施設数の問題等で困難な GLP 試験を大型動物で必ずしも行う必要はないのでは。安全性について GLP 試験を行うのであれば、小動物で。
- 動物からヒトへ移行するときに橋渡しができる非侵襲的試験法も議論していただきたい。

臨床評価技術は、FDA ガイドラインの体裁に倣う予定で、今回はエッセンスのみ記載。

- 実際の内容についても、それら海外のガイドラインを使うことになるだろうが、生活習慣が異なる日本に、欧米人を対象として設定されたスコアを必ずしもそのまま使えない点も考慮すべき。
- 1 つの評価法が絶対的だということではなく、複数のものを合わせて総合的に評価すべき。
- 移植後の組織を非侵襲的に評価できる点で、画像診断は鍵。
- 画像診断としては、MRI では苦手な骨評価のためにレントゲンも入れてはどうか？
- 直接的な評価としては、MRI が主力。3 テスラのものを推奨し、経時的変化を評価するには、3 次元 等方性ボクセルの撮像がよい。
- まず、包括的 MRI として、今後主流となる MOCART 法を用い、必須のシーケンスとして、プロトン密度強調画像・その脂肪抑制像・3 次元 等方性 MRI が挙げられる。
- 次に、プロテオグリカンの測定法（dGEMRIC・T1ρmapping）・コラーゲン配列の評価法（T2mapping・NTCmapping）・水分含有量の測定法（ADCmapping）の用いる質的 MRI を用いるとよい。このうち、dGEMRIC は現在、あまり用いられていないことから、T1ρmapping や T2mapping に移行するものと思われる。

今年度の成果の取り纏め方として、ワーキンググループ委員会としての検討結果としてガイドライン素案を挙げ、いただいた資料や議事録で残される討議内容も参考資料とするとともに、また、討議の中で浮かび上がったディスカッションポイントについても整理して、次年度以降策定に活かすべく、報告書に残すこととした。

なお、報告書では、次年度以降、「品質管理」・「非臨床評価技術」のみガイドラインにすることから、それらの素案を主な検討結果とし、「臨床評価技術」に関する素案については、技術抽出を目的とした参考資料にとどめ、評価指標改訂等の別の機会に活用していただくこととした。

3. ガイドラインの検討結果

開発ガイドライン（品質管理）素案

■評価指標

最終製品に軟骨細胞を含む場合（自家細胞を想定）

- ・ 原材料として軟骨細胞を使用する場合
- ・ 原材料として間葉系幹細胞を使用し、培養によって軟骨細胞に分化誘導する場合

項目	記載内容（根拠、測定方法）	参考資料
細胞数並びに生存率	<ul style="list-style-type: none"> ・ 最終製品の一部を酵素処理して細胞懸濁液とし、血球計算板やセルカウンターで細胞数を測定する方法が一般的である。細胞生存率を測定する方法として、トリパンプルを用いた色素排除法があり、生細胞及び死細胞を計数することができる。 ・ スキャフォールドに細胞を播種し、三次元培養した製品では、使用しているスキャフォールドをタンパク質分解酵素等で消化して細胞懸濁液を得て、それを細胞数及び生存率の測定に用いる。例えば、コラーゲンをスキャフォールドに用いている場合はコラゲナーゼで消化を行い、アガロースの場合はプロナーゼ、アルギン酸の場合はパパインで消化を行う。 ・ スキャフォールドから細胞を分離して細胞を計数することが困難な場合には、細胞の DNA 量を測定する方法や、MTT アッセイによりミトコンドリアの酵素活性を指標に生細胞数を算出する方法がある。 	1) - 4)
確認試験		
形態学的指標	<ul style="list-style-type: none"> ・ 軟骨細胞は球形又は楕円形の形態をとるが、平面培養によって紡錘状の線維芽細胞様となる。細胞外マトリックスの存在等、培養環境により細胞形状が変わる。球形状の細胞形状の方が、紡錘型の細胞に比してタイプ II コラーゲン等、軟骨基質産生を維持している。 ・ 細胞をスキャフォールドに播種した場合の細胞形態の観察は困難であることが多い。 	5) - 7)
生化学的指標	<p>生化学的指標としては、軟骨細胞が産生するグリコサミノグリカン(GAG)、タイプ II コラーゲン、アグリカン等がある。又、軟骨細胞特異的な産生物質と線維芽細胞や脱分化軟骨細胞が産生する物質の比率を指標として、例えばタイプ II コラーゲン/タイプ I コラーゲン比、コンドロイチン 6 硫酸/コンドロイチン 4 硫酸の比を指標とする方法がある。スキャフォールドに細胞を播種し、三次元培養した製品では、使用しているスキャフォールドをタンパク質分解酵素等で消化し、その中に存在する産生物質を定量する。GAG は硫酸化 GAG の硫酸基に色素を結合させ、吸光度で定量することができる（色素結合法）。その他の産生物質は ELISA や HPLC 等によって定量する。</p>	8) - 14)

<p>遺伝子発現</p>	<p>生化学的指標のマーカーとなるタンパク質について、遺伝子発現を検出する方法がある。又、Sox9 や HAPLN1（ヒアルロン酸とプロテオグリカン連結たんぱく質）の遺伝子発現を軟骨細胞のマーカーとして検出する方法がある。mRNA 発現の有無は RT-PCR で確認することができ、定量 PCR により遺伝子発現を定量することができる。</p>	<p>15) 16)</p>
<p>細胞の純度試験</p>	<p>細胞の純度は品質管理における重要な要素である。培養軟骨製品に含まれる細胞には、以下のものが考えられる。</p> <ol style="list-style-type: none"> ① 軟骨細胞（原材料に由来、又は原材料となる間葉系幹細胞を培養によって軟骨細胞に分化誘導したもの） ② 混入細胞（原材料に由来するもので未分化細胞等を含む） ③ 培養工程中に生じた脱分化軟骨細胞 ④ 異常増殖細胞、形質転換細胞 <p>軟骨細胞については上記の形態学的指標、生化学的指標、遺伝子発現、免疫学的指標といった、軟骨細胞を特異的に識別するマーカーを用いて測定する。混入が想定される細胞については、適切な指標を用いて特定すること。脱分化軟骨細胞は軟骨細胞と線維芽細胞との中間的な表現型を示すこともあるため、脱分化軟骨細胞と混入細胞を明確に分けることは困難である。移植後に重篤な有害事象をひきおこす造腫瘍性細胞については、出荷試験として実施するのは困難であるため、試験的検体を用いた非臨床試験において、核型分析、軟寒天コロニー形成試験、免疫不全動物における腫瘍形成能試験等で腫瘍形成について検討すること。</p>	
<p>効能試験</p>	<p>軟骨再生を目的とした細胞・組織加工医薬品等の最終製品の有効性を担保するために、製品の目的、特徴、形態に応じて <i>in vitro</i> 試験又は実験動物を用いた <i>in vivo</i> 試験から適切な効能試験を必要に応じて設定する。例えば、最終製品に軟骨組織と類似した力学的特性を持つことを期待する製品では、製品の体内における効能を投与前に予測ないし評価するために、弾性率や粘弾性特性等の力学的特性を測定する方法も有効である。軟骨組織とは類似しない力学的特性を持つ製品については、前述の生化学的指標や遺伝子発現等を有効性の代替指標（Surrogate Marker）として同定し、効能試験に応用することが考えられる。GAG は軟骨細胞が特異的に産生するアグリカンの構成要素であり、品質管理、非臨床試験、臨床試験における重要な指標となりうる。</p>	<p>4) 8)</p>

力学的適合性試験	<p>培養軟骨製品に要求される力学的特性としては、</p> <p>① 製品の形状を保って移植部位に適用するための力学的強度</p> <p>② 軟骨組織と類似した力学的特性によって移植後に荷重を支えるための力学的強度</p> <p>が挙げられる。製品の効能効果として移植後の力学的特性を謳う場合には、力学的適合性試験を実施する必要がある。一般に力学的適合性試験は無菌性を保った状態で行うことが困難で、最終製品の出荷試験としてはなじまないため、試験的検体を用いた非臨床試験で実施することでも構わない。</p>	17) 18)
製品安定性	<p>再生医療製品は生きた細胞を含むため、その性能を発揮するために以下の点に留意して製品安定性を検討する必要がある。細胞を凍結状態で輸送する場合には、凍結時に使用する培地又は凍結保存液、凍結保護剤等について、製造工程で使用する原材料と同様に適切に選択すること。又、非凍結状態で輸送する場合の輸送液等も同様である。製品形態あるいは細胞種によって、製品安定性を保つための適切な保存形態、温度条件又は輸送液等が異なる可能性があるため、製品毎に適切な組み合わせを検討し、有効性を担保すること。</p>	
非生体材料及び最終製品の生体適合性	<p>非細胞材料の生体適合性については、以下のガイドライン等を参考にすること。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ ISO10993-1 ・ JIS T 0993-1 又は ASTM F 748-04 ・ 医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について（医薬審発第 0213001 号、平成 15 年 2 月 13 日） ・ 生物学的安全性試験の基本的考え方に関する参考資料について（医療機器審査 No.36、平成 15 年 3 月 19 日） <p>→現在、改訂が進んでいるので引用にあたっては最新版とする</p>	

根拠資料

- 1) 組織培養の技術 第三版 [基礎編]、p34-40、日本組織培養学会編、朝倉書店 (1996)
- 2) Paul D. et. al., Cell, 30, 215-224 (1982)
- 3) Chang S. C. N. et. al., J. Biomed. Mater. Res., 55, 503-511 (2001)
- 4) Implants for surgery – Quantification of sulfated glycosaminoglycans (sGAG) for evaluation of chondrogenesis, ISO/TC 150/SC7 (draft)
- 5) Villar-Suarez V. et. al., J. Biomed. Biotech., 4, 364-373 (2005)
- 6) 骨と軟骨のバイオロジー、p85-87、藤井克之編、金原出版 (2002)
- 7) Schnabel M. Et. Al., Osteoarthritis Cartilage, 10, 62-70 (2002)
- 8) Yokoi M. et. al., J Tissue Eng. Regen. Med. (2011)
- 9) 標準整形外科学 第 11 版、p 、医学書院 (2011)
- 10) Diaz-Romero J. et. al., J. Cell. Physiol. 202, 731-742 (2005)
- 11) Kawasaki K. et. al., J Cell Physiol., 179, 142-8 (1999)
- 12) Dey P. et. al., Connect. Tissue Res., 28, 317-324 (1992)
- 13) Farndale R. W. et. al., Connect. Tissue Res., 9, 247-248 (1982)

- 14) Frandale R. W. et. al., *Biochem. Biophys. Acta*, 883, 173-177 (1986)
- 15) Akiyama H., *Mod Rheumatol*, 18, 213-219 (2008)
- 16) Rapko S. et. al., *Tissue Engineering : Part C*, 16, 1367-1375 (2010)
- 17) Morita Y. et. al., *Biomed. Mater. Eng.*, 12, 291-8 (2002)
- 18) Morita Y. et. al., *J Biomech.* 39, 103-9 (2006)

最終製品に軟骨細胞を含まない場合（自家細胞及び同種細胞を想定）

・原材料として間葉系幹細胞を使用し、軟骨細胞に分化誘導せず適用する場合

項目	記載内容（根拠、測定方法）	参考資料
細胞数並びに生存率	<ul style="list-style-type: none"> ・最終製品の一部を酵素処理して細胞懸濁液とし、血球計算板やセルカウンターで細胞数を測定する方法が一般的である。細胞生存率を測定する方法として、トリパンプルを用いた色素排除法があり、生細胞及び死細胞を計数することができる。 ・スキャフォールドに細胞を播種し、三次元培養した製品では、使用しているスキャフォールドをタンパク質分解酵素等で消化して細胞懸濁液を得て、それを細胞数及び生存率の測定に用いる。例えば、コラーゲンをスキャフォールドに用いている場合はコラゲナーゼで消化を行い、アガロースの場合はプロナーゼ、アルギン酸の場合はパパインで消化を行う。 ・スキャフォールドから細胞を分離して細胞を計数することが困難な場合には、細胞の DNA 量を測定する方法や、MTT アッセイによりミトコンドリアの酵素活性を指標に生細胞数を算出する方法がある。 	1) - 4)
確認試験		
形態学的指標	<ul style="list-style-type: none"> ・間葉系幹細胞は骨芽細胞、脂肪細胞、筋細胞、軟骨細胞等、間葉系に属する細胞への分化能をもつ細胞である。一般的な培養条件下で培養皿に接着する性質を利用して血球系細胞と分離でき、細胞形態を観察することができる。 ・顕微鏡観察において線維芽細胞に似た形態をとり、一般には紡錘形である。しかし、実際に培養された細胞の形態は多様で、典型的な紡錘形のもの、神経細胞様に突起を伸ばしたものの、細胞が広がり扁平になったもの等様々である。 ・細胞をスキャフォールドに播種した場合の細胞形態の観察は困難であることが多い。 	19)
重要中間体	<p>加工に伴う変化を調べるために、重要中間体に特徴的な、例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、その他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行う。重要中間体に明らかに由来する各種サイトカイン、成長因子等の生理活性物質、及び細胞外マトリックスの定性及び定量を行うことができる。</p>	
遺伝型	<p>同種由来細胞・組織を加工した医薬品又は医療機器の場合、ドナーとなるヒトの主要組織適合性抗原型である HLA（ヒト白血球抗原）のタイプを特定する。</p> <p>又、細胞に遺伝子工学的改変を加える工程がある場合、導入遺伝子によって改変された形態学的及び生理学的な性質を特定し評価する。</p>	

<p>遺伝子工学的改変を加える場合</p>	<p>細胞に遺伝子を導入する場合は、次に掲げる事項に関する詳細を示すこと。</p> <p>① 目的遺伝子の構造、由来、入手方法、クローニング方法並びにセルバンクの調製方法、管理方法及び更新方法等に関する情報</p> <p>② 導入遺伝子の性質</p> <p>③ 目的遺伝子産物の構造、生物活性及び性質</p> <p>④ 遺伝子導入構成体を作製するために必要なすべての原材料、性質及び手順(遺伝子導入法並びに遺伝子導入用ベクターの由来、性質及び入手方法等)</p> <p>⑤ 遺伝子導入構成体の構造や特性</p> <p>⑥ ベクターや遺伝子導入構成体を作製するための細胞やウイルスのバンク化及びバンクの管理方法</p>	<p>20)</p>
<p>免疫学的指標</p>	<p>細胞表面マーカーによる骨髄間葉系幹細胞の定義として、CD105、CD73、CD90 (Thy-1) 陽性細胞が95%以上であること、CD45、CD34、CD14 又は CD11b、CD79α 又は CD19、HLA-DR の陽性細胞が2%以下であることが報告されているが、報告によって指標に用いられる表面抗原が異なる場合もあるので、製品の特性を示すのに適切な表面抗原を選択することが重要である。また、原材料となる細胞、工程内重要中間体、最終製品等、製造工程を通じて管理するのに適切な表面抗原を選択すべきである。</p>	<p>21)</p>
<p>細胞の純度試験</p>	<p>細胞の純度は品質管理における重要な要素である。原材料として間葉系幹細胞を使用し、軟骨細胞に分化誘導せず適用する場合、最終製品に含まれる細胞には、以下のものが考えられる。</p> <p>① 間葉系幹細胞</p> <p>② 混入細胞（原材料あるいは培養工程に由来）</p> <p>③ 異常増殖細胞、形質転換細胞</p> <p>間葉系幹細胞については、上記の形態学的指標、生化学的指標、遺伝子発現、免疫学的指標といった、間葉系幹細胞を特異的に識別するマーカーを用いて測定する。混入が想定される細胞については、適切な指標を用いて特定すること。移植後に重篤な有害事象をひきおこす造腫瘍性細胞については、出荷試験として実施するのは困難であるため、試験的検体を用いた非臨床試験において、例えば核型分析、軟寒天コロニー形成試験、免疫不全動物における腫瘍形成能試験等で腫瘍形成について検討すること。</p>	<p>14)</p>
<p>効能試験</p>	<p>幹細胞、リンパ球、遺伝子改変細胞その他の細胞等、臨床使用目的又は特性に応じて、<i>in vitro</i> 試験又は実験動物を用いた <i>in vivo</i> 試験から適切な効能試験の実施を考慮すべき場合もある。例えば、最終製品が産生する各種サイトカイン、成長因子等の生理活性物質及び細胞外マトリックスの評価等が考えられる。</p>	

製品安定性	<p>再生医療製品は生きた細胞を含むため、その性能を発揮するために以下の点に留意して製品安定性を検討する必要がある。細胞を凍結状態で輸送する場合には、凍結時に使用する培地又は凍結保存液、凍結保護剤等について、製造工程で使用する原材料と同様に適切に選択すること。また、非凍結状態で輸送する場合の輸送液等も同様である。製品形態あるいは細胞種によって、製品安定性を保つための適切な保存形態、温度条件又は輸送液等が異なる可能性があるため、製品毎に適切な組み合わせを検討し、有効性を担保すること。</p>	
非生体材料及び最終製品の生体適合性	<p>非細胞材料の生体適合性については、以下のガイドライン等を参考にすること。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ ISO10993-1 ・ JIS T 0993-1 又は ASTM F 748-04 ・ 医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について（医薬審発第 0213001 号、平成 15 年 2 月 13 日） ・ 生物学的安全性試験の基本的考え方に関する参考資料について（医療機器審査 No.36、平成 15 年 3 月 19 日） <p>→現在、改訂が進んでいるので引用にあたっては最新版とする</p>	

- 19) 勝部好裕ら、再生医療に用いられる細胞・再生組織の評価と安全性、第 10 章、p209-217、シーエムシー出版 (2007)
- 20) ヒト（同種）体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安定性の確保に関する指針（案）
- 21) Dominici M. et. al., Cytotherapy, 8, 315-317 (2006)

■ 品質管理の評価方法バリデーションについて

品質管理に用いる評価方法は、「分析法バリデーションに関するテキスト（実施項目）について」及び「分析法バリデーションに関するテキスト（実施方法）について」（平成9年10月28日、医薬審第338号）、又は Guidance for Industry・Bioanalytical Method Validation (FDA、2001)等を参考に、評価方法の妥当性を担保することが重要であるが、細胞を用いた製品の場合は、バリデートできない項目もあることに留意すべきである。例えば、細胞数の測定において、既知の細胞密度で調整された標準品というものは存在しないため、真値を知ることはできない。特異性の検討においては、不純物（混入細胞）の測定にあたって目的細胞又は混入が想定される細胞に特異的な指標を適切に選択する必要がある。軟骨細胞の場合、いわゆる脱分化により軟骨細胞と線維芽細胞との中間的な表現型を示すこともあり、脱分化軟骨細胞と混入細胞を明確に分けることは困難である。遺伝子発現においては、定量PCR法で mRNA の定量が可能ではあるが、細胞からの mRNA の抽出や逆転写反応の効率を評価することが難しいため、定量性に言及する際は注意が必要である。細胞が産生する細胞外マトリックスやサイトカイン等の生理活性物質について ELISA 等の測定法が確立されている場合は、可能な範囲で測定方法のバリデーションを行うことが重要である。

【参考】 分析法バリデーションの実施項目

真度 (Accuracy)

精度 (Precision)

併行精度 (Repeatability)

室内再現精度 (Intermediate Precision)

特異性 (Specificity)

検出限界 (Detection Limit)

定量限界 (Quantitation Limit)

直線性 (Linearity)

範囲 (Range)

※開発ガイドライン（品質管理）素案についての補足説明

(1) 「品質管理」の scope について

現在、ガイドライン化できる技術として、

- ① 軟骨細胞を用いて培養軟骨を製造するもの（自家）
- ② 間葉系幹細胞を培養によって軟骨細胞に分化誘導するもの（自家）
- ③ 間葉系幹細胞を軟骨細胞に分化誘導せずに適用するもの（自家・同種）

を想定した（③については遺伝子導入による改変についても想定）。この scope には入らない技術として、同種軟骨細胞移植や ES、iPS 細胞を用いた方法が考えられる。同種軟骨細胞移植については①と「ヒト（同種）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について」（薬食発第 0912006 号）を照らし合わせることで理解は可能と考えられるが、本ガイドラインに盛り込む必要があるれば、今後の検討課題とする。

ES、iPS 細胞については本ガイドラインの対象外と考える。

(2) 他のガイドラインとの整合性について

項目については、「次世代医療機器評価指標（関節軟骨）」、「ヒト（自己）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について」、「ヒト（同種）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について」等のガイドラインを参照して設定した。評価指標、測定方法については、「製品の本質を表す指標で、なおかつ高コストにならず簡便に測定できる方法」を念頭に置いた。

(3) 今後（次年度）への課題について

- ① 「品質管理」の scope について、他の細胞ソースの可能性。
- ② 「品質管理」の中では、具体的な測定方法・参考資料・文献等を充実させる必要がある。
- ③ 非臨床試験、臨床試験とのリンクという観点から、どのような指標を用いると品質管理、非臨床試験、臨床試験の間で一貫した評価が可能となるかという議論が重要である。
- ④ 最終的に「使いやすいガイドライン」にするために、細胞種や製品形態に応じて、どのような試験を実施する必要があるか、いわゆる「星取表」にまとめることができれば理想的である。

1. 肉眼的評価

最終製品自体、動物試験で移植後に適切な期間を経た製品と周囲組織、あるいはその両方において評価すること。記録方法の1つとして、デジタルカメラ等による写真記録を推奨する。

評価項目（最終製品自体の場合）：

最終製品のサイズ

最終製品の表面形態（Fissure・Fibrillationの程度と範囲）

最終製品の色調

評価項目（移植後の製品と周囲組織の場合）：

移植後の製品と周囲組織の表面形態（Fissure・Fibrillationの程度と範囲）

移植後の製品と周囲組織の色調

移植後の製品と周囲組織との連続性

プロービング等による移植後の製品の硬さと周囲組織への結合性

※関節軟骨表面の損傷に対して、Indian inkによる染色手法を用いれば、損傷軟骨部分にIndian inkが着色し、非損傷の軟骨との境界が明らかとなる。さらに、Indian inkは軟骨下骨には着色しないため、損傷深度も明瞭となる。以上より、肉眼的評価を行う上で、Indian inkによる染色手法は有効である。しかし、分子生物学的解析や免疫染色解析等に影響を与える可能性もあり、さらなる検査を行う場合は、Indian inkによる染色手法を避けることが望ましい。

肉眼的評価のスコアとして、International Cartilage Repair Society Macroscopic Assessment Score等を利用して、半定量的に評価することが考えられるが妥当性について検討を行うこと。

2. 組織学的評価

最終製品自体、動物試験で移植後に適切な期間を経た製品と周囲組織、あるいはその両方において評価すること。

組織固定法は、よく使用されている10%リン酸緩衝ホルマリンを推奨する。

（※ 10～20%酸性ホルマリン、中性ホルマリン、Lillieの緩衝ホルマリン（ホルマリン原液 100ml+第一リン酸ナトリウム 4.4g+第二リン酸ナトリウム 25.8g に蒸留水を加えて 1000ml とする）等は？）

（組織固定の期間を明示するかどうか？）

（その他パラフォルムアルデヒド、グルタルアルデヒド等は？）

脱灰が必要な場合、10%EDTA（ethylenediaminetetraacetic acid）もしくは5%ギ酸を使用することが

望ましい。脱灰溶液は1週間に1回程度交換すること。

(他の方法 プランクリクロ迅速脱灰法や5%トリクロリール酢酸水溶液等)

(脱灰の期間を明示するかどうか?)

包埋にはパラフィンを用いること。脱水剤としてアルコールを使用し、置換剤としてクロロフォルム、キシレン、低毒性のキシレン代替品等を使用すること。

薄切面の方向は、最終製品の関節軟骨表面に相応する面に対して垂直方向になるように選択すること。

(矢状面、前頭面については?記述不要か?)

滑走式マイクロームまたは回転式マイクロームを用いて、包埋した試料の薄切を行うこと。薄切切片の厚みは1~2 μm (主に細胞単位の観察)から5~6 μm (結合織の観察)が望ましい。

組織染色法には、細胞・組織の分布や形態の観察に用いられる Hematoxylin-eosin 染色法が、軟骨基質の観察に用いられる SafraninO・Alcian blue・Toluidine blue・Ruthenium red・Acridine Orange・The carbocyanine dye (Stains-all)・Cuprolinic (cupromeronic) blue 染色法が、コラーゲン線維を染める Picrosirius red や Goldner's Trichrome 染色法が、標的とする分子を抗体と結合させて染色する免疫染色法がある。また、偏光顕微鏡を用いて非染色切片からコラーゲン線維の走行を観察することができる。これらの染色法から複数の方法を選択して、評価することが望ましい。

半定量的な評価方法として、O'Driscoll score (1986)・Pineda score・Wakitani score・ICRS II Visual Histological Assessment Scale・Os Score・O'Driscoll score (2001)・Bern score 等の使用も考慮されるが、その妥当性について十分検討すること。

(もう少し染色法を限定すべきか?)

(凍結切片については?)

評価のための観察として、

最終製品の色調・表面性状・サイズ等について、また移植後の製品と周囲組織との連続性や結合性について記録すること。記録方法の1つとして、デジタルカメラ等による写真記録を推奨する。組織切片のプレパラートもしくはそれをデジタルスキャニングした画像をブラインド条件で準備すること。

関節軟骨組織評価の経験を有する2~3名の評価者によりブラインド条件で評価すること。

半定量的な評価方法として、ICRS Macroscopic Cartilage Assessment Score や Outerbridge Classification 等の使用も、その妥当性について考慮しながら、検討すること。

評価項目(最終製品自体の場合)(移植後の製品と周囲組織の場合):

細胞の密度

細胞の形態(例 軟骨細胞様 線維芽細胞様等)

軟骨各層における軟骨基質の構造・形態

軟骨基質のⅠ型・Ⅱ型コラーゲン分布状況（免疫染色等による）

軟骨基質のプロテオグリカンの分布状況

コラーゲン以外の蛋白質の分布状況（ファイブロネクチン・テネイシン等）

炎症反応

組織評価のスコアとして ICRS-II スコア・O'Driscoll スコア・Wakitani スコア等を利用することが考えられる。

評価項目（移植後の製品と周囲組織の場合）：

組織形態学的評価

移植後の製品と周囲組織の表面の平滑性（smooth and intact）

移植後の製品と周囲組織との統合度（or 連続性）

修復組織の厚さ

軟部組織のボリューム

基質中のプロテオグリカン染色領域の割合

基質中のⅠ型コラーゲン染色領域の割合

基質中のⅡ型コラーゲン染色領域の割合

基質中のコラーゲンの分布状況（偏光顕微鏡による）

軟骨下骨の構造

軟骨下骨嚢胞の存在

関節軟骨

ICRS-II

組織形態

軟骨基質の染色性

細胞形態

軟骨細胞のクラスター形成

表層の構造

基底部の連続性

Tidemark の形成

軟骨下骨の異常（骨髄の線維化等）

炎症反応

異常石灰化（骨化）

修復組織の血管新生

関節軟骨表層評価

関節軟骨中間層評価

関節軟骨深層評価

総合評価

3. 生化学的評価

ジメチレンブルー(DMB)法によるグリコサミノグリカン(GAG)量の定量が推奨される(具体的な方法に関しては2009年頃開催された再生医療技術実用化促進委員会での報告書を参照のこと)。また、同じく比色定量法を用いたコラーゲン量の定量も適宜、実施することが望ましい。ただし再生軟骨の採取は侵襲を伴うものであり、生化学的評価は必須ではなく、参考にとどめるべきと考える。

4. 分子生物学的評価

軟骨特異的な転写因子 SOX9 と、軟骨細胞の細胞外基質をコードする COL2A1 と Aggrecan が重要となる。また骨分化や線維化の指標となる COL1A1 や、肥大軟骨細胞の指標となる Col10A1 の発現がない(低い)ことを示すことが望ましい。評価法は定量的 real-time PCR 法が推奨される。ただし再生軟骨の採取は侵襲を伴うものであり、分子生物学的評価は必須ではなく、参考にとどめるべきと考える。

5. 力学的評価

軟骨組織は骨端部を覆うように存在し、日常生活において荷重支持・衝撃吸収・潤滑といった優れた力学機能を有する組織である。したがって、再生軟骨が生体軟骨と同等の力学特性を獲得したかを評価することは重要である。しかしながら、力学試験より得られる再生軟骨の物性は、対象となる再生組織の大きさ、培養担体、試験方法や試験条件に依存するため絶対的な基準値を設定することは難しい。

各施設によって細胞、培養担体、培養期間等が異なるため、それぞれの施設において可能ならば力学試験を施行し、作製した再生軟骨の力学的特性を把握し記録しておくとともに、安定した品質での移植時期の検討等に用いることが望ましい。

非臨床的な段階での力学試験ではあるが、その評価試験には移植を考慮して非破壊的であることが求められるが、ここでは直接的に再生軟骨に荷重もしくは変位を与えることでその力学的特性を評価する方法について記述する。

軟骨特有の粘弾性特性を評価するためには、測定方法としては動的粘弾性測定が適している。粘弾性体の弾性としての特性を反映する動的弾性率 E' 、粘性としての特性を反映する損失弾性率 E'' 、衝撃吸収性を表す損失正接 $\tan\delta$ によって、再生軟骨の粘弾性特性の評価が可能である。力学試験より得られる再生軟骨の物性は、対象となる再生軟骨の大きさ、培養担体、試験条件等に依存するため絶対的な基準値を設定することは難しいことを考慮すべきである。

5.1 関節軟骨の粘弾性特性

骨端を覆うように存在している関節軟骨は、運動による負荷を分散させ、同時に滑らかな関節運動を可能としている。軟骨組織において軟骨細胞の占める割合は数%以下にすぎず、大部分はコラーゲン線維とプロテオグリカンとで構成されている細胞外基質である。プロテオグリカンは基質内水分の一部を保持した状態でコラーゲン線維のネットワーク内に存在し、プロテオグリカ

ン-コラーゲンネットワークを形成している。プロテオグリカンは非常に親水性が高く、軟骨組織の約 70%は水分である。また、親水性の高いプロテオグリカンの膨張がコラーゲン線維の網目構造によって制限され、関節軟骨は高い剛性を実現している。関節軟骨に荷重が負荷されると水分の組織内部での移動や表面からの滲出が生じ、関節軟骨は特徴的な粘弾性挙動を示す。また、内部の水分の流動によって応力緩和挙動を示すような関節軟骨に正弦的なひずみを与えた場合、その応力の応答はひずみ速度に対して変化するような周波数依存性を示す。このような周波数依存性を持った関節軟骨の粘弾性特性を評価するには動的粘弾性測定が有効であると考えられる。

5.2 動的粘弾性測定の原理

動的粘弾性測定の特徴は、微小な変形下において粘弾性測定ができることである。したがって再生軟骨の力学的機能の評価において、動的粘弾性測定は組織を破壊することなく測定が可能であると考えられる。また、振動の周波数範囲を容易に変更することができ、短時間で再生軟骨の動的粘弾性挙動の評価が可能である。

関節軟骨は日常生活において繰り返し圧縮方向の荷重を受け、荷重支持や衝撃吸収といった役割を担っている。したがって、再生軟骨の荷重支持性および衝撃吸収性を評価するために、圧縮方向の動的粘弾性特性を評価する。粘弾性体に正弦波振動を与えた場合、応力振幅を σ_0 、ひずみ振幅を ε_0 、位相差を δ とすると、応力振幅とひずみ振幅との関係は図 1 のようになる。理想弾性体の場合、応力とひずみが比例し、与えた応力に対してひずみが遅れなし（位相差 δ が 0 度）に測定される。理想粘性体の場合、応力とひずみ速度が比例し、応力に対し 90 度遅れてひずみが測定される。関節軟骨のような粘弾性体に正弦波として応力を与えると、応力に対してひずみには 0~90 度の範囲で位相差 δ が生じる。

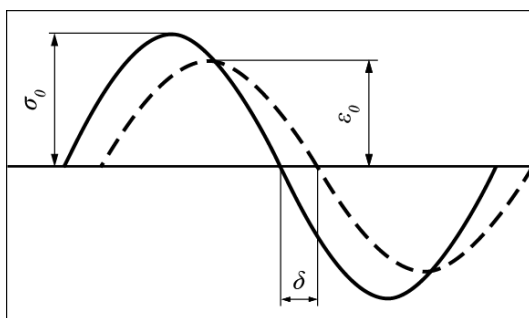


図 1 応力とひずみの時間波形

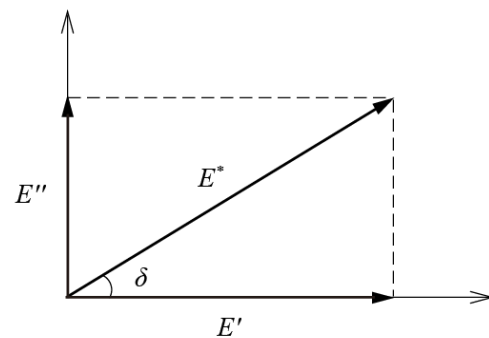


図 2 複素平面上における複素弾性率

粘弾性体は弾性と粘性を併せ持ち、応力とひずみの関係は図 2 のように複素弾性率によって表現される。これらの関係は次式のように表される。

$$E^* = E' + iE'' = \sigma_0 / \varepsilon_0 \text{ [Pa]} \cdots (1)$$

$$E' = E^* \cos \delta \text{ [Pa]} \cdots (2)$$

$$E'' = E^* \sin \delta \text{ [Pa]} \cdots (3)$$

$$\tan \delta = E'' / E' \cdots (4)$$

E^* は複素弾性率 (complex modulus) と呼ばれ、応力とひずみの振幅比に相当する。 δ は位相差であり、 i は虚数単位($i^2 = -1$)である。 E' は動的弾性率 (dynamic modulus) または貯蔵弾性率 (storage modulus) と呼ばれ、粘弾性体の弾性としての特性を反映する。 E'' は損失弾性率 (loss modulus) と呼ばれ、粘弾性体の粘性としての特性を反映する。 $\tan\delta$ は損失正接 (loss tangent) と呼ばれ、動的弾性率と損失弾性率の比として表される。 $\tan\delta$ は負荷された力学的エネルギーに対して熱として損失されたエネルギーの割合を示すもので、粘弾性体の振動 (衝撃) 吸収性を表している。

5.3 動的粘弾性測定

準備した再生軟骨の断面形状および厚さを測定する。再生軟骨の厚さは、直径よりも小さいことが望ましい。再生軟骨を図3のように、試験機の圧縮治具に設置し、一定のひずみをプレロードしておく。その後、試験片厚さの数%から10%程度のひずみを、周波数を変化させながら試験片に与え、荷重と変位の応答を測定する。周波数域は0.1から数十Hz程度とする。得られた応力とひずみから動的弾性率・損失弾性率を、また応力とひずみの位相差から損失正接を算出する。

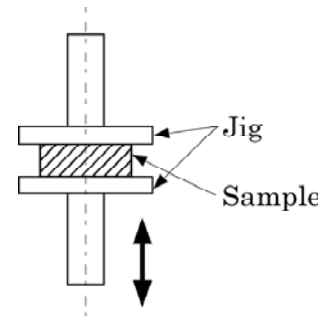


図3 試験片取り付け

動的弾性率、損失弾性率および損失正接はいずれも負荷されたひずみの周波数に依存して変化する。各施設で作製された再生軟骨によりひずみの周波数に対する各値の挙動に違いが現れるが、組織の成熟に従って顕著な変化を示す適切な周波数においてその値を比較することで再生軟骨の状態を定量的に評価可能となる。

試験機との安定した接触が得られなかった場合、測定誤差が大きくなることがある。さらにバラツキの原因として初期ひずみやひずみ振幅といった試験条件にも注意する必要がある。ひずみ振幅の値や周波数の条件によっては、再生軟骨の変形が圧縮治具の動作に追従しないために、測定誤差が生じる場合がある。また、再生軟骨は圧縮荷重によりクリープ変形するため、試験を通して再生軟骨の変形が圧縮治具の動作に追従できるだけの初期ひずみを加えておく必要がある。特に比較する再生軟骨によってその力学的特性が大きく異なる可能性がある場合には、試験条件をよく検討しておく必要があると思われる。

さらに、臨床において再生軟骨の力学的機能の評価手法として実用化していくためには、いかに無菌的に測定するかが大きな課題となる。

5.4 静的な力学試験について

・圧縮試験 : Compressive modulus

再生軟骨の力学的特性を評価する最も簡便な手法として圧縮試験が挙げられる。PBS中に静置した試験片を、万能試験機を用いて圧子を介して変位速度一定で圧縮する。得られた荷重—変位曲線を近似することにより Compressive modulus を算出する。再生軟骨の変形し難さをあらわすパラメータとして Compressive modulus は計算される。

・応力緩和試験 : Equilibrium modulus

応力緩和とは、再生軟骨に一定ひずみを与えたとき、発生した応力が時間とともに減少していく

現象である。軟骨組織内部の水分の移動によって、軟骨組織が弾性のみでなく粘性を有しているために現れる挙動である。試験片に一定歪を与えることで時間-応力曲線を求め、応力が平衡に達したときの値を Equilibrium modulus として求める。

6. 動物試験

実験動物の種類については、齧歯動物・ウサギ・ウマ・ヒツジ・ヤギ・ブタ等、原理検証、毒性試験、安全性等の評価に適合するものをそれぞれ用いることが重要である。また次の3つの条件を考慮する必要がある。

- ・骨格が未成熟なモデルは初期研究または概念研究に用いる。
- ・重要な研究には、完全に成熟した軟骨構造を有するものを用いる。
- ・欠損のサイズの作製（手術的操作）、作製部位、程度等を検討する。

その他の検討事項としては、急性か慢性か、片側性か両側性か、術後のケア（鎮痛剤、疼痛モニタリング、免荷等）を検討すべきである。耐久性は長期にわたる動物研究から評価するが、ヒトでの臨床応用がより重要である。様々な動物を用いて関節軟骨の修復・再生の研究が広く行われているが、過去に報告されている実験動物・疾患モデルがどういう根拠で選択され、実施されたのかを検証し、計画している臨床試験を鑑みて、適切な実験動物、疾患モデルを選択し、意味のある研究結果を蓄積することが必要である。

(1) 種類：

- ・齧歯動物： 原理の立証、クリアランス、毒性試験、安全性等の評価
- ・ウサギ： 原理の立証、スクリーニング
- ・ウマ・ヒツジ・ヤギ・ブタ： 重要な研究

(2) 具体的な動物モデルの必要条件：

- ・骨格が未成熟なモデルは初期の研究または、概念研究に利用する。
- ・重要な研究には、完全に成熟した軟骨構造のみを利用する。
- ・欠損のサイズ、位置、程度、修復に要する時間等は調整する。
- ・エンドポイントは研究に先立って事前に計画を立てる。

(3) 片側性か両側性か：

- ・両側性に関する倫理的な承認は、施設内倫理委員会（施設内治験審査委員会）に基づく。
- ・片側性のモデルは患側の初期荷重をできる限り減らすことが可能であり、術後、部分的にあるいは完全に、関節を固定することができる。

(4) 急性と慢性：

- ・急性期のモデルでは、モデルを作製したのち、すぐに扱うことが可能であるが、結果を過大評価する可能性がある。
- ・慢性期のモデルでは、遅発性の修復効果をより予測することができる。

(5) 術後のケア：

- ・鎮痛剤、疼痛モニタリング、荷重コントロール等

(6) 耐久性：

- ・長期にわたる動物研究から評価するが、ヒトでの臨床応用がより重要である。

様々な動物を用いて関節軟骨の修復・再生の研究が広く行われているが、過去に報告されている実験動物・疾患モデルがどういう根拠で選択され、実施されたのかを検証し、実施を計画している臨床試験を鑑みて、適切な実験動物・疾患モデルを選択し、意味のある研究結果を蓄積する必要がある。

【動物種の観点から】

齧歯類はコストの面からも*in vitro*の研究と前臨床試験としてのトランスレーショナルリサーチに適していると報告しているが、小動物では関節は極めて小さく、手術手技（細胞移植や組織工学的組織等の移植手術を含む）が影響を及ぼすような治療法の評価として、適しているとは言えない。また変形性関節症や関節リウマチ等、多因子性の疾患を忠実に再現可能な疾患モデル動物はない。

以下に各動物種の利点と欠点を示す。

マウス

胸腺欠損マウス、遺伝子組み換えマウス、ノックアウトマウス等の研究が可能であり、飼育が簡便である。また、免疫不全マウスの使用は、同種異系、もしくは異種の細胞および組織を含む研究が実施可能である。またマウスには自然発症する関節炎系、老齢系等、豊富な種類の遺伝子改変マウスがあり、特定の遺伝子またはタンパク質の過剰発現や欠損が軟骨修復・再生に影響を与える研究にとって大きなメリットがある。しかしながら、一方で関節が極めて小さく、関節軟骨も薄いため、手術手技が影響を与えるような治療法の実験としては実際的ではない。

ラット

マウスより関節が大きく、飼育が簡便であり、コストの面からも適している。免疫不全および遺伝子組み換えモデルにも使用できるため魅力的なモデルである。また、ラットは疼痛の転機を立証するのに大変、好ましい動物種である。ラットはドリルで作製した欠損モデルにおいて、軟骨修復のスクリーニングのモデルとして、あるいは治療やデバイスのモデルとしても価値あるものである。しかし、ラットの軟骨は非常に薄く、作製する欠損自体も非常に小さいため、実用性に欠ける可能性がある。さらに成長板は成熟しても開存したままである。これは高度な血管新生を骨端部に引き起こし、内在性の軟骨修復にも関与している可能性がある。以上のようなラットの動物特性から、齧歯類の動物モデルにおける結果を裏付けるには、他の動物モデルも動員する必要がある。また軟骨下骨の修復モデルとして役立つ種であると考えられているが、人工物を移植するには薄すぎるため、実践的ではない。しかし、ラットには高度に血管が侵入している成長板が生涯残存するため、種特異的な内因性の影響を受ける可能性を考慮する必要がある。この特徴により関節の修復、再生が容易に行われている可能性がある。

ウサギ

ウサギは軟骨再生の研究に広く用いられてきた。それは取り扱いやすさとコストの安さに基づいている。また多くの小動物と同じように、遺伝子型が同様の動物による研究が可能である。軟骨修復の研究が行われるようになった当初、ウサギは3-4mmの欠損が作製できるため、広く用いられていた。移植による修復と内因性の修復限界の研究の両方が可能であると考えられていた。軟骨修復が残存、隣接する軟骨細胞からではなく、骨髄からの間葉系細胞の増殖と分化によってもたらされることを示したのもウサギの実験である。以上より、ウサギはコスト面や関節の大きさ等から軟骨欠損の研究には適しているかもしれない。ウサギの軟骨修復の研究における共通の限界点は、ヒトの成人では典型的ではない、内在性の強い修復反応をもつ未熟なウサギを利用するという点である。ウサギの骨格系と軟骨の成熟は7~8か月であり、8か月の成熟したウサギの全層欠損モデルにおける修復は、5ヶ月や3ヶ月のウサギと比較し、同程度までに修復されるのに質が落ちることに加え、修復の時間がかかる。つまり、大腿内側顆における未治療の軟骨の全層欠損の修復を3か月、5か月、8か月のウサギでそれぞれ比較検討したところ、3か月と5か月のモデルはすべて欠損が完全に組織再生により被われた。しかし、8か月のモデルでは多くの場合、欠損が埋まらないままの状態であった。また、全ての修復状態を形態学的に評価すると、欠損部は徐々に線維性の組織から硝子様の軟骨に改善されていくが、より若いウサギの修復組織はより硝子様に変化していた。加えて、修復組織と隣接軟骨との結合は3か月と5か月のモデルのほうが8か月のモデルと比較して良好であった。軟骨下骨に関しては12週目で、3か月、5か月のモデルで形成されているのが認められたが、8か月のモデルでは形成されているものはなかった。修復された後の変性組織の力学的な質は正常よりも劣ったままであったが、若いモデルにおいてより早く修復される。以上より、若年成人のモデルとして使用するのは8か月以上のウサギが好ましい。8か月に満たないウサギのモデルを使用することは、ヒトを含めほかの動物の修復過程を過大評価する可能性がある。

イヌ

イヌは変形性関節症・関節損傷・半月板損傷・軟骨修復のモデルとして広く利用されている。ヒトと同様に自己修復能に乏しく、変形性関節症や離断性骨軟骨炎を生じる。イヌはマウス・ラット・ウサギに比べ、よりヒトに近いモデルとしての可能性がある。軟骨の厚さも十分であり、部分欠損の検討も可能である。また、大きな関節腔を有し、関節鏡も可能であり、リハビリテーションプロトコルを義務付けているような研究に適している。イヌはトレーニングが容易であり、荷重のコントロールが可能で、水中でのリハビリや水中トレッドミル等のより効果的なものを利用することができる動物種である。しかし、イヌはヒトとの結びつきが強い動物であり、倫理的観点からの問題がある。またイヌは関節鏡を用いた再鏡視や生検等を施行することが可能であるが、大腿脛骨関節が小さく関節へのアプローチには限界がある。イヌのなかでもビーグル等の犬種は足が短いという特徴から、関節の手術は難しく、より大きいイヌが推奨されているが、その場合大量入手が難しい。

ヤギ・ヒツジ

ヤギやヒツジは、軟骨修復のモデルとしてよく利用される。膝がヒトと同等の欠損を作製するのに十分なサイズ(0.5-1 cm²)であることが理由である。また、ヤギやヒツジは骨軟骨のグラフトや半月板修復のモデルとしてもよく利用される。ヤギは、関節の大きさ、軟骨・軟骨下骨の硬さが十分あり、関節鏡も可能である。欠損サイズを大きくすることも容易であり、軟骨下骨と軟骨の比率や軟骨下骨の硬さがイヌやヒツジに比べヒトに近い。一方で生物学的試験に基づくと、ヤギやヒツジの軟骨下骨の骨プレートはよく成長し、ヒトと比べると非常に硬いという特徴がある。また、ヒツジに比べるとヤギは軟骨がやや厚い。海外にはヤギやヒツジの大規模な施設がある。その理由として、他の大型動物より比較的安価かつ飼育が容易であること、また、ヤギやヒツジは元々群れを成して生育しており、飼育のスペースや環境の条件があまり厳しくないことが挙げられる。しかし、リハビリテーションで決められた荷重や運動を研究するには不向きである。ヤギはコストの面から考えても実用的ではないとする報告もある。ヤギやヒツジは従来型の MRI にも適合するが、膝関節自体は小さすぎる。ヤギやヒツジの麻酔と鎮痛の方法に関しては、飼育方法と同様によく確立している。また、ヤギやヒツジは2~4 週の術後の期間であれば、後脚荷重のみ許容した荷重制限をしたり、身体全体をつるして免荷して飼育したりすることも可能である。

ブタ・ミニブタ

飼育豚やミニブタは厚い軟骨をもち、とりわけ飼育豚は軟骨のモデルとしてよく利用される。また、成長が早く、軟骨下骨の異常や変性、離断性骨軟骨炎や、通常では認めない病変を示すことが可能な動物種である。関節の大きさ、荷重、関節軟骨の厚さ等はイヌや他の小動物に比べヒトに近い。にもかかわらず、今まであまり使用されていない。なぜなら、ブタが大きく比較的攻撃的であり、研究施設で扱うことが困難なためである。さらに、急激な体重増加の時期があり、離断性骨軟骨炎を高率に生じやすい。骨格的に成熟するには24 カ月以上とも言われ、種類にもよるが体重200kg 近くになるものもあり、性成熟をもって実験に用いるのが現実的であろう。多くの場合、飼育ブタは完全に成熟する前に短期間の研究に利用されている。その理由としては2才以上のブタは非常に身体が大きくなり、扱うのが困難なためである。よって、2才までの飼育ブタを利用するのが好ましい。しかし、ミニブタの使用はこれらの問題を克服するかもしれない。研究用に育てられたミニブタは通常従順で、体重も成人男性と同等位にまで育てることも可能である。軟骨修復には内因性の影響を受ける可能性があり、性成熟に達したミニブタを用いることが重要であるが、ミニブタの種類によっては、生後12 カ月程度で成長板が閉鎖し骨格的に成熟するものもある。大きな欠損が作製可能であり、軟骨が約1.5mm 程度はあり、部分損傷、全層欠損いずれも作製可能であり、関節鏡も可能であろう。また血清生化学等におけるパラメータがヒトと同様である。しかし、コストが高く、飼育可能な施設は限定される。ミニブタは飼育ブタよりさらに扱いやすく、臨床的なサイズの関節軟骨の欠損モデルとしては最も報告が多い。そして、軟骨の欠損の作製は失敗が少なく、作製しやすいという利点があり、ヒトに近いモデルを作製することができる。

ウマ

軟骨修復、軟骨の厚みがヒトに近く、全層欠損、部分欠損の研究に適している。15~20mmの骨軟骨欠損も作製でき、内因性の影響を受けにくいとされている。またウマの膝関節はヒトとほぼ同様の構造であるが、軟骨下骨が非常に硬い。また、飼育施設が極めて限定されるため、一般的な研究には向かないかもしれない。ウマは臨床における軟骨修復モデルとして、特に大腿の遠位関節や中手指節関節（※）が利用できる。ウマの思春期は18カ月頃とされており、ウマの遠位大腿関節の軟骨の成熟は24カ月頃と認識されている。2才以上のウマを使用する際は、軟骨損傷等を含め検査してから利用するほうがよい。ウマのモデルにおける最大の利点は関節が大きいことである。そのため関節鏡でアプローチすることが容易である。ヒトと異なる点は、ウマ科の関節は3つの滑膜腔より成り、ヒトに比べて、大腿脛骨関節や半月板にアプローチすることには制限があるが、大腿膝蓋関節にはむしろ小さい侵襲の関節切開または、関節鏡でアプローチすることができる。ウマの大腿膝蓋関節と大腿脛骨関節はヒトと似ているが、大腿骨内側顆の軟骨下骨の骨プレートは大変厚く、最大でヒトの2~3倍ある。ウマの大きく厚い軟骨の特徴（1.5~3mm）により修復組織の採取や分析が可能であり、生物学的、組織学的、生体力学的等、多くの分野における結果を得ることができる。手術手技を伴う実験にはウマは適している。しかし、ウマでは後ろ脚が邪魔して従来のMRIでは撮像に制限がある。ウマでは再鏡視や生検は修復過程を評価するのに重要となる。また術後、免荷でのリハビリもコントロールすることが可能である。軟骨下骨の嚢腫が自然発生する疾患のモデルとしてウマを応用することは、修復過程を観察するのに有用であるが、大腿骨顆部はヒトと位置が根本的に異なるということを念頭に置く必要がある。

※中手指節関節に関してウマの場合、第三中手骨は特に管骨とよばれ、よく発達し強靱であり、前脚にかかる全体重を支える役割をもつ。またこの関節はウマの駐立時に正常な位置を保持する役目があり、中手指節関節（球節とも呼ばれる）はショックアブソーバーとして重要なものでoveruseにより球節炎とよばれる関節炎をおこす、ウマにおいては特徴的な関節である。

以上より、マウス・ラット・ウサギ・イヌはコスト、飼育の簡便さの点から、アカデミアでの研究に適している。適切な疾患モデルを選べば、ウサギ・イヌ・ヤギ・ブタ・ミニブタ・ウマ等は関節の大きさ、軟骨の厚さ等が十分であり、研究に適している。大型動物(ヤギ・ヒツジ・ブタ・ミニブタ・ウマ)は飼育施設が限定され、コストの面からもアカデミアでの研究に用いることは難しいが、将来製品化を目指す場合は、前臨床試験として、実施することが望ましい。ヤギ・ヒツジ・ウマ等の動物の行動制限を行うことは軟骨修復の研究をより価値あるものにするために重要である。手術的効果の判定に齧歯類の関節では評価するには小さすぎる。コスト、飼育、施設、倫理的観点等を考慮すると、日本では、ウサギまたはミニブタが軟骨損傷モデルとしては最適であると考えられる。寿命が短い（1~3年程度）実験動物はヒトの寿命と、正確にスケールアップすることは難しい。しかし、短期間の研究や発展的な研究、スクリーニング等への応用はかなり幅広いものである。一方、寿命が8~10年の大型動物やより長生きするミニブタ・ヒツジ・ヤギ・ウマは実用性があり、スケールアップ材料としても応用されているが、研究の妥当性に関しては示すことができない場合がある。耐久性に関しては、今のところ動物モデルでヒトのそれを予測するこ

とは不可能であり、ヒトの臨床研究においてのみ、適切な結果を得ることができる。軟骨修復に関する臨床応用を新たに施行する場合、ウマ・ヒツジ・ヤギで行われる重要な研究に先行して、小動物やウサギによる初期の探索的な研究が先行して行われる必要がある。あらゆる発展的かつ重要な研究には細胞外マトリックスと連続する石灰化軟骨の層と tidemark の層状構造によって定義される成熟軟骨をもつ動物種を利用すべきである。軟骨の厚さだけに関して述べるとブタはヒトの関節によく似ている。各動物モデルの利点、欠点は様々であり、疾患モデルとして適切な動物モデルを選択することが最も重要である。

添付資料① 次世代医療機器評価指標（別添 1）

薬食機発1215第1号
平成22年12月15日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省医薬食品局審査管理課
医療機器審査管理室長

次世代医療機器評価指標の公表について

厚生労働省では、医療ニーズが高く実用可能性のある次世代医療機器について、審査時に用いる技術評価指標等をあらかじめ作成し、公表することにより、製品開発の効率化及び承認審査の迅速化を図る目的で、検討分野を選定して評価指標を検討してきたところです。

今般、関節軟骨再生、神経機能修復装置及び整形外科用骨接合材料カスタムメイドインプラントの評価を行うに当たって必要と考えられる資料、評価のポイント等を評価指標としてとりまとめましたので、下記に留意の上、製造販売承認申請に当たって参考とするよう、貴管下関係業者に対しご周知いただきますよう御配慮願います。

なお、本通知の写しを独立行政法人医薬品医療機器総合機構理事長、日本医療機器産業連合会会長、米国医療機器・IVD工業会会長及び欧州ビジネス協会医療機器委員会委員長あて送付することを申し添えます。

記

1. 評価指標とは、承認申請資料の収集やその審査の迅速化等の観点から、製品の評価において着目すべき事項（評価項目）を示すものである。評価指標は、法的な基準という位置付けではなく、技術開発の著しい次世代医療機器を対象として現時点で考えられる評価項目を示したものであり、製品の特性に応じて、評価指標に示すもの以外の評価が必要である場合や評価指標に示す評価項目のうち適用しなくてもよい項目があり得ることに留意すること。
2. 個々の製品の承認申請に当たって必要な資料・データを収集する際は、評価指標に示す事項について予め検討するほか、可能な限り早期に独立行政法人医薬品医療機器総合機構の対面助言を活用することが望ましい。

関節軟骨再生に関する評価指標

1. はじめに

関節軟骨は荷重衝撃の緩衝や関節滑動性の獲得に重要な役割を担っているが、血行に乏しく難治性の組織である。一旦損傷すると十分に修復されることは無く、損傷部の放置は軟骨下骨病変を合併し二次性の関節症変化へと進展することも多い。変形性膝関節症の患者数について、自覚症状を有する者は約1,000万人、潜在的な患者(X線診断による患者数)は約3,000万人と推定され、本症による中高年者の日常生活動作(ADL)低下の問題は大きな社会問題となりつつある。従って有効な軟骨の治療法の開発は急務である。近年、軟骨組織を対象として再生医療的手法(軟骨細胞や軟骨細胞への分化能を有する間葉系幹細胞移植)を用いた新規治療法が研究されている。しかし、わが国においてこれらの革新的な医療機器の開発研究は盛んに行われているが、臨床応用への展開は諸外国に比べて遅れていると言える。その理由として次世代医療機器の臨床応用にあたり、明確な評価指標がないことが一因と考えられる。このような状況を踏まえ、関節軟骨再生について科学的根拠を基盤にした品質、有効性及び安全性の評価を適性かつ迅速に進めるために本評価指標を作成した。

ヒト由来の細胞・組織を加工した医薬品又は医療機器(以下「細胞・組織加工医薬品等」という。)の品質及び安全性を確保するための基本的な技術要件は、平成20年2月8日付け薬食発第0208003号厚生労働省医薬食品局長通知(以下「ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の指針」という。)及び平成20年9月12日付け薬食発第0912006号厚生労働省医薬食品局長通知(以下「ヒト(同種)由来細胞・組織加工医薬品等の指針」という。)に定められているところである。本評価指標は、ヒト由来細胞・組織加工医薬品等のうち特に損傷関節軟骨等の治療を目的として軟骨に適用される、ヒト軟骨細胞加工医薬品若しくは医療機器(以下「ヒト軟骨細胞加工医薬品等」という。)又はヒト間葉系幹細胞加工医薬品若しくは医療機器(以下「ヒト間葉系幹細胞加工医薬品等」という。)について、上述の基本的な技術要件に加えて留意すべき事項を示すものである。

2. 本評価指標の対象

本評価指標は、損傷関節軟骨等の治療を目的として適用されるヒト軟骨細胞加工医薬品等又はヒト間葉系幹細胞加工医薬品等について、基本的な技術要件に加えて品質、有効性及び安全性の評価にあたって留意すべき事項を示したものである。現時点ではヒトES細胞、iPS細胞等の多能性幹細胞由来の製品及び異種細胞・組織由来の製品は本評価指標の対象とはしない。

なお、開発する製品が医療機器に該当するか判断し難い場合は、必要に応じ、厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室に相談すること。

3. 本評価指標の位置づけ

細胞・組織加工医薬品等の種類や特性、臨床上の適用法は多種多様であり、また本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩であることから、本評価指標が必要事項すべてを包含しているとみなすことが必ずしも適切でない場合もある。

従って、本評価指標は申請内容に関して拘束力を有するものではなく、個々の細胞・組織加工医薬品等についての試験の実施や評価に際しては、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースで柔軟に対応することが必要である。

なお、本評価指標の他、ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の指針、ヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品等の指針及び国内外のその他の関連ガイドラインを参考にすることも考慮すべきである。

4. 用語の定義

本評価指標における用語の定義は、ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の指針及びヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品等の指針の定義による他、以下のとおりとする。

- (1) 軟骨細胞：軟骨の細胞外基質中に存在し、主にコラーゲン(II、IX、XI型等)とプロテオグリカン（アグリカンを主とする）を分泌し軟骨基質を形成することを特徴とする細胞を一般的には指すが、本評価指標で原材料とする細胞はその前駆細胞（軟骨芽細胞）、軟骨細胞ないし軟骨芽細胞を豊富に含む細胞集団及び体外でこれらの細胞を培養して得られた細胞を含む。
- (2) 間葉系幹細胞：間葉系組織中に存在し、多分化能を有しかつ自己複製能力を維持しているもの又はそれに類することが推定されるもの及びこれを豊富に含む細胞集団をいうが、本評価指標では骨髄間質細胞も含む。また、体外でこれらの細胞を培養して得られた細胞を含む。
- (3) 粘弾性：粘性と弾性とを併せ持つ性質。軟骨組織の力学的特性において重要なファクターである。特に粘性は、歩行や運動といった時間的に変化する荷重に対して関節軟骨が応答する際に、重要な働きをする。
- (4) 中間製品：製造の中間工程で造られたものであって、以後の製造工程を経ることによって製品となるもの。

5. 評価にあたって留意すべき事項

損傷関節軟骨等の治療を目的とした細胞・組織加工医薬品等には、原材料と適用との関係性から、1) 原材料として採取されるドナーの細胞・組織が患者の適用部位の細胞・組織と同様の基本機能をもつ場合（相同使用 Homologous Use）と、2) そうでない場合（非相同使用 Non-homologous Use）とに分けられる。本評価指標においては昨今の国内外の研究開発状況を鑑み、前者の場合には主にヒト軟骨細胞加工医薬品等を、後者の場合には主に軟骨以外の組織に由来するヒト間葉系幹細胞を原材料とす

る細胞・組織加工医薬品等を対象とする。両者の安全性・有効性上の大きな差異として考えられるのは、前者の場合には適用部位における細胞組織の既知の生理学的機能からその有効性の機序を理解することが比較的容易と想定される可能性があるのに対し、後者の場合には移植段階で軟骨細胞様の表現型を呈さないこと及び有効性を裏付ける機序が複数である可能性があることに加えて、それらの確認が困難である可能性が考えられる。従って、間葉系幹細胞加工医薬品等と軟骨細胞の相同使用による軟骨細胞加工製品とでは、有効性の評価、その機序の理解及び製品中の細胞の適用部位における機能に基づくリスクの評価について留意点が異なる可能性があることに注意が必要である。

製品評価については、以下に挙げた試験項目が考えられる。しかしながら、製品によっては例示した試験項目又はマーカーが必要十分とは限らず、逆に不必要な場合もある。さらに必要かつ適切であれば、別の試験項目若しくはマーカーを採用又は追加して設定を検討し、使用する妥当性を説明すること。

(1) 細胞数及び生存率

出発原料となる軟骨細胞又は間葉系幹細胞は採取組織に由来する量的な制約がある。軟骨細胞は体外培養すると脱分化する傾向を持ち、また間葉系幹細胞も体外培養によりその表現型を変化させる傾向を持つ。いずれの体細胞種も、ドナーの年齢又は長期の培養等の条件により増殖速度が低下する場合もあるため、体外での増殖にも限度があり、最終製品に使用可能な細胞数は、出発原料として得られた細胞の数に応じて量的な制約を持つ。従って、意図する治療部位のサイズに見合った量の最終製品を製造するために十分な量の細胞を確保するためには、原材料又は中間製品中に存在する細胞の数及び生存率について判定基準を設定しておく必要がある。また、最終製品における細胞の生存率についても基準を設定すること。

(2) 細胞の培養期間の妥当性

培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において脱分化ないし多分化能の減弱、もしくは増殖速度の異常変動等の目的外の変化がないことを適切な細胞指標を用いて示すこと。適用後に体内での増殖及び分化等を期待する場合には、設定された基準による継代数又は分裂回数で期待された機能を発揮することを明らかにすること。

(3) 確認試験

目的とする体内での有効性（軟骨形成能、軟骨機能等）を達成し、かつ安全性上の問題（意図しない分化、過形成、異常増殖等）を可能な限り回避するとともに、一定の品質及び安定性を保持するために必要な最終製品中の細胞の重要細胞特性指標を定め、これらを用いて最終製品中の細胞が目的の細胞であることを確認すること。確認試験には目的細胞に対する特異性が求められるため、試験に用いる細胞特

性指標は、混入する可能性のある他の細胞では発現していない分子であることが望ましい。組織工学的手法により製造された製品については、マトリックス中、スキャフォールド上等に播種されて製造された最終製品の細胞の生存率・密度・形態学的特徴等を確認すること。なお、最終製品の規格を最も良く実現するために必要な、原材料及び中間製品の重要細胞特性指標を設定することも必要である。量的制約や複雑な品質特性のために、最終製品において細胞の特性を必要十分に評価できない場合は、中間製品（又は原材料）で評価することが選択肢となる場合もある。そのためには、中間製品（又は原材料）の特性が最終製品の品質に関する適正な道標となるという合理性を示すことが必要である。

（４）細胞の純度試験

細胞の純度は品質管理における重要な要素であり、他の品質試験と同様、工程の性能、非臨床及び臨床試験結果等に基づき、規格を設定すべきものである。原材料、中間製品、最終製品の各段階における目的細胞については、確認試験で定めた重要細胞特性指標に基づいて定義すること。混入細胞（例えば骨芽細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞、その他の採取時に混入する可能性のある細胞）又は原材料・製造工程における幹細胞の意図しない分化により生じた体細胞（様）細胞、未分化細胞又は脱分化細胞、異常増殖細胞、形質転換細胞といった目的細胞以外の細胞の検出及びその混入率の定量法、並びにその安全性を確認する試験方法及び判断基準を設定すること。

（５）力学的適合試験

最終製品の段階で軟骨組織と類似した力学特性を持つ等、最終製品の態様によっては最終製品自体に耐荷重性、摺動特性、粘弾性等における適合性が要求される。これらの製品については、各製品の適用方法を考慮した上で必要に応じて力学的適合性を確認するための規格を設定すること。

（６）効能を裏付ける品質試験

軟骨再生を目的とした細胞・組織加工医薬品等の最終製品の有効性を担保するためには、最終製品に対する適切な効能試験の設定を検討する必要がある。例えば、最終製品の段階で軟骨組織と類似した力学特性を持つことを期待する組織工学的手法により製造された製品の場合には、直接的に粘弾性特性等の力学的特性を測定することにより、製品の体内における効能を投与前に予測ないし評価することが可能かもしれない。

一方、組織工学的手法によらず軟骨組織とは類似しない力学特性を持つ製品については、体内における有効性の代替指標（Surrogate Marker）を同定し、効能試験に応用することが考えられる。例えば、タイプ II コラーゲン／タイプ I コラーゲンの遺伝子発現比は軟骨細胞の分化の指標とされることがある。ただし、代替指標

の使用に際しては、患者における有効性と代替指標との相関性を予め明らかにすることが必要となる。適用後に体内での増殖及び分化等を期待する場合には、設定された基準による継代数又は分裂回数で期待された機能を発揮することを明らかにすること。

(7) 製品の安定性試験

ヒト軟骨細胞加工医薬品等及びヒト間葉系幹細胞加工医薬品等の最終製品又は重要なそれらの中間製品について、保存・流通期間及び保存形態を十分考慮して、細胞の生存率及び機能を裏付ける代替指標等を指標に実保存条件での安定性試験を実施し、貯法及び有効期限を設定し、その妥当性を明らかにすること。特に凍結保管及び解凍を行う場合には、凍結及び解凍操作により製品の解凍後の培養可能期間や品質への影響がないかを確認すること。また、必要に応じて標準的な製造期間を超える場合や標準的な保存期間を超える長期保存についても検討し、安定性の限界を可能な範囲で確認すること。ただし、製品化後直ちに使用するような場合はこの限りではない。

また、原材料・中間製品及び最終製品を運搬する場合には、それぞれの条件と手順(容器、輸送液、温度管理等を含む)等を定め、その妥当性について明らかにすること。

(8) 非細胞材料及び最終製品の生体適合性

製品に関係する非細胞材料については、細胞とともに最終製品の一部を構成するもの(マトリックス、医療材料、スキャフォールド、支持膜、ファイバー、ビーズ等)だけでなく、製造工程中で細胞と接触するもの及び適用時に使用されるもの(局所封入用の膜、フィブリン糊等)に関しても、材料自体の品質・安全性に関する知見について明らかにするとともに、生体適合性等、患者及び製品中の細胞との相互作用に関する知見について明らかにすること。また、最終製品総体についても患者の細胞組織、特に適用部位周辺組織との相互作用について評価すること。また、最終製品の一部を構成する非細胞材料の、製造工程中(培地中)及び体内での分解特性、体内での再吸収特性、分解物の安全性に関して適切な情報を提供すること。特に、生体吸収生材料を用いる場合には、分解生成物に関して必要な試験を実施すること。非細胞材料の生体適合性については、ISO10993-1、JIS T 0993-1 又は ASTM F 748-04 等を参考にすること。

(9) 細胞の造腫瘍性・過形成

製品中の細胞に由来する腫瘍は適用部位における物理的障害となる恐れがあること、宿主の正常な生理機能に対し悪影響を及ぼす可能性があること等から、悪性腫瘍のみならず、良性腫瘍を含む腫瘍形成及び過形成の可能性を検討すること。

試験により造腫瘍性を評価する方法としては、例えば核型分析、軟寒天コロニー

形成試験、免疫不全動物における腫瘍形成能試験等が挙げられる。また、既定の培養期間を超えて培養した細胞について、目的外の形質転換や増殖速度の異常亢進がないことを明らかにすることも重要である。なお、免疫不全動物における腫瘍形成能試験においては、移植した細胞が体内で軟骨を形成した場合も腫瘍のように見えることがあるので、形態的特徴だけでなく組織病理学的特徴による評価も検討すること。

間葉系幹細胞等、軟骨細胞へと分化しうる細胞又は分化した軟骨細胞を含んだ細胞・組織加工医薬品等の造腫瘍性については、複数の試験法による評価の必要性を検討すること。核型分析、免疫不全動物における腫瘍形成能試験については、それぞれ An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN2005)、WHO Expert Committee on Biological Standardization, Forty-seventh Report (1998)等を参考にすることが考えられるが、試験法の妥当性については、製品の特性やその時点での技術レベル等に応じて検討を行うこと。なお、核型分析において細胞・組織を採取したドナーの年齢や原疾患によっては、ある頻度で染色体異常が生じている場合があるので、染色体異常が認められた場合にそれがドナー背景に起因するのか、あるいは培養に起因するのかを明らかにできるような試験計画の立案を検討すること。なお、造腫瘍性が疑われた場合の他、使用する原材料や製造方法によっては、がん原性の検討が必要な場合もあるかもしれない。

6. 効力又は性能を裏付ける試験について

一次薬力学試験 (Primary Pharmacodynamics / Proof-of-Concept Study) として、ヒト軟骨細胞加工医薬品等又はヒト間葉系幹細胞加工医薬品等の機能発現、作用持続性及び医薬品等として期待される臨床効果の実現可能性 (Proof of Concept) を示すこと。また、適当な動物由来細胞・組織製品モデル又は関節疾患モデルがある場合には、それを用いて治療効果を検討すること。治療効果の評価方法には例えば ICRS スコア、O' Driscoll スコア、Wakitani スコア等を利用することが考えられるが、妥当性については検討を行うこと。

7. 体内動態について

いかなる細胞・組織加工医薬品等においても製品に由来する細胞が意図しない生体内分布を示すかどうかは安全上の懸念となる。従って、ヒト軟骨細胞加工医薬品等又はヒト間葉系幹細胞加工医薬品等を構成する細胞・組織についても、技術的に可能で科学的合理性のある範囲で、実験動物での分布、吸収、遊走、生着等の体内動態に関する試験を実施すること。試験を実施しない場合には、その妥当性を示すこと。

8. 臨床試験 (治験)

臨床データパッケージ及び治験実施計画書は、対象疾患、目的とする効能及び効果、当該治療法に期待される臨床上の位置づけ等に応じて、非臨床データ等も踏まえて適

切に計画されるべきである。必要に応じて、医薬品医療機器総合機構の対面助言を利用すること。

添付資料② International Cartilage Repair Society (ICRS) Recommended Guideline for Histological Endpoints for Cartilage Repair Studies in Animal Models and Clinical Trials

Table 3. Guidelines for Histological Processing and Analyses of Repair

1. Lesion size and location

- Human: 2-mm diameter, ~1-cm deep biopsy from estimated geometric center of initial lesion, perpendicular to surface. Sample includes bone, full-thickness repair.
- Animal: sample block includes entire defect, flanking articular cartilage, subchondral bone encompassing potential regions of bone resorption.

2. Timing of biopsy and sample recovery

- Human biopsy: 12-month or 24-month outcome, one biopsy per lesion. Macroscopic ICRS score. Video document and detailed description of biopsy site.
- Animal: acute defect (0-3 days) and long-term repair: ≥ 2 months (rabbit) or ≥ 6 months (large animal), with and without treatment. Exact endpoints can be tailored to individual studies and should provide information on the rate of implant incorporation or degradation in the joint. Macroscopic score (whole joint). Take any biochemistry or biomechanics samples prior to tissue fixation.

3. Histoprocessing (for cartilage-bone analysis)

- Fixation in 10% normal buffered formalin or buffered 4% paraformaldehyde.
- Human: decalcify biopsies with bone for ~30 hours in 0.5 N HCl/0.1% glutaraldehyde¹⁵ or formic acid¹⁰⁵ or ~2 weeks in 0.5 M EDTA at 4 °C.
- Animal: decalcify ~10 days (rabbit distal femur) or weeks (large animal samples) in 0.5 N HCl (with or without 0.1% glutaraldehyde)⁴³ or longer in 10% EDTA/0.1% paraformaldehyde at 4 °C. Postdecalcification trimming step facilitates collecting at least 2 section levels per defect to take into account potential heterogeneity of repair. Postfixation after long periods of decalcification. Trim before embed.
- For each specimen, collect serial sections from at least 2 predetermined levels (fixed distance to each other in the repair tissue). 5- μ m paraffin sections (human, sheep, horse) or 8- to 10- μ m cryosections (rabbit) for collagen typing. Stain 2 serial sections from each level (for each stain).
 - Tissue sections processed separately for electron microscopic analysis of matrix (optional).

4. Staining

- H&E (cartilage-bone interface, cell morphology, tidemark, abnormal calcification).
- Safranin O or toluidine blue (glycosaminoglycan content).
- Collagen immunostaining for collagen type I and type II.
- Unstained sections (for polarized light microscopy [PLM]).
- Recut and stain any torn, folded, or poorly stained sections. Verify complete set of sections (use the best section free of folds, tears).
- Blind sections or digital scans prior to scoring.

5. Evaluation methods^a

- Must be performed by 2 or 3 trained and blinded observers. Blinded consensus for outlier scores.
- Determine implant presence/absence.
- **Histological scoring:** ICRS-II (human, animal) or O'Driscoll (animal) that also assesses adjacent cartilage and cartilage-repair integration. Can use other scoring systems or evaluate predominant tissue type if want to compare results to literature.
- **Histomorphometry:** repair tissue thickness, total soft tissue volume above bone (for human biopsies where bone occupies $\geq 50\%$ of section width) or above the projected tidemark (for animal sections with flanking cartilage). Analysis for area % glycosaminoglycan, % collagen type I, and % collagen type II staining. Optional: line measurements for defect width and % cartilage-subchondral bone integration (animal).
- **PLM** for collagen fibril orientation (semiquantitative scoring system).²²
- **Optional:** immunostain for specific markers of interest. Electron microscopy for cell morphology and collagen fibril diameter, orientation. Subchondral bone structure and repair (bone volume fraction). Subchondral cyst presence/absence (animal repair). Assess synovial histology.

^aAs our understanding of cartilage repair and chondrocyte biology improves, these recommendations may have to be modified.

添付資料③ Guidelines for the Design and Conduct of Clinical Studies in Knee Articular Cartilage Repair

International Cartilage Repair Society Recommendations Based on Current Scientific Evidence and Standards of Clinical Care

Table 1. International Cartilage Repair Society Macroscopic Cartilage Assessment Score

Criteria	Appearance	Points	
I.A	Level with surrounding cartilage	4	
	75% repair of defect	3	
	50% repair of defect	2	
	25% repair of defect	1	
	0% repair of defect	0	
I. B	100% survival if initially grafted surface	4	
	75% survival if initially grafted surface	3	
	50% survival if initially grafted surface	2	
	25% survival if initially grafted surface	1	
	0% survival if initially grafted surface	0	
II. Integration	Complete integration with surrounding cartilage	4	
	Demarcation border <1 mm	3	
	75% integrated, 25% with notable border >1 mm	2	
	50% integrated, 50% with notable border >1 mm	1	
	0%-25% integrated	0	
III. Appearance	Intact smooth surface	4	
	Fibrillated surface	3	
	Small, scattered fissures and cracks	2	
	Small and large fissures	1	
	Complete degeneration of graft area	0	
Overall assessment and score:	Grade 1	Normal	12 points
	Grade 2	Nearly normal	8-11 points
	Grade 3	Abnormal	4-7 points
	Grade 4	Severely abnormal	0-3 points

Table 2. International Cartilage Repair Society II Visual Histological Assessment Scale

Histological Parameter	Visual Analog Scale Score
1. Tissue morphology (polarized light)	0-100
2. Matrix staining (metachromasia)	0-100
3. Cell morphology	0-100
4. Chondrocyte clustering	0-100
5. Surface architecture	0-100
6. Basal integration	0-100
7. Tidemark formation	0-100
8. Subchondral bone abnormalities/marrow fibrosis	0-100
9. Inflammation	0-100
10. Abnormal calcification/ossification	0-100
11. Vascularization in repair tissue	0-100
12. Surface/superficial assessment	0-100
13. Midzone/deep zone assessment	0-100
14. Overall assessment	0-100

Note: From Mainil-Varlet et al.⁴³

Table 3. Cartilage Defect Description

Chondral Defects	
Grade 0	Normal
Grade 1	Superficial lesions
Grade 1A	Soft indentation
Grade 1B	Superficial fissures and cracks
Grade 2	Cartilage lesions <50% of cartilage depth
Grade 3	Cartilage defects >50% of cartilage depth
Grade 3A	Not extending down to calcified cartilage
Grade 3B	Down to calcified cartilage layer
Grade 3C	Down to but not through subchondral bone
Grade 3D	Down to subchondral bone with cartilage blisters
Grade 4	Defects penetrating subchondral bone
Grade 4A	Penetration of subchondral bone in part of the defect
Grade 4B	Subchondral bone penetration involving complete defect
Osteochondral Defects	
Type 1	Stable continuity, softened area covered by intact cartilage
Type 2	Partial discontinuity, stable on probing
Type 3	Complete discontinuity, "dead in situ," not dislocated
Type 4A	Dislocated fragment, loose within the bed or empty defect
Type 4B	Loose and dislocated fragment >10 mm in depth

添付資料④ Review Evaluation of histological scoring systems for tissue-engineered, repaired and osteoarthritic cartilage, Osteoarthritis and Cartilage (2010) 18, 12e23

Table IV
Parameters assessed by some major cartilage repair scores

Parameters of the different grading systems	O'Driscoll <i>et al.</i> ⁶	Pineda <i>et al.</i> ³⁶	Wakitani <i>et al.</i> ³⁷	Modified Mankin (Uhl <i>et al.</i>) ⁶⁶	OsScore ²⁰	ICRS I (VHS) ⁸	Knutsen <i>et al.</i> ²	ICRS II (VAS) ⁴⁸
Cell morphology	×	×	×	×	×	×	×	×
Matrix staining	×	×	×	×	×			×
Surface regularity	×		×	×	×	×		×
Structural integrity	×							×
Thickness/defect filling	×	×	×					
Osteochondral junction	×	×						×
Adjacent bonding	×		×	×				
Basal integration					×			×
Cellularity	×							
Clustering/distribution	×				×	×		×
Adjacent cartilage degeneration	×							
Mineral					×	×		×
Blood vessels				×	×			×
Subchondral bone						×		×
Viability cell population				×		×		
Inflammation								×
Cartilage plug quality				×				

PINEDA et al

TABLE I. CARTILAGE REPAIR SCORE

Characteristics	Score
Filling of defect	
125%	1
100%	0
75%	1
50%	2
25%	3
0%	4
Reconstruction of osteochondral junction	
Yes	0
Almost	1
Not close	2
Matrix staining	
Normal	0
Reduced staining	1
Significantly reduced staining	2
Faint staining	3
No stain	4
Cell morphology	
Normal	0
Most hyaline and fibrocartilage	1
Mostly fibrocartilage	2
Some fibrocartilage, but mostly nonchondrocytic cells	3
Nonchondrocytic cells only	4

From Pineda et al.¹

O'DRISCOLL et al. (in vivo animal)

TABLE I
HISTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL GRADING SCALE

	Score
Nature of the predominant tissue	
Cellular morphology	
Hyaline articular cartilage	4
Incompletely differentiated mesenchyme	2
Fibrous tissue or bone	0
Safranin-O staining of the matrix	
Normal or nearly normal	3
Moderate	2
Slight	1
None	0
Structural characteristics	
Surface regularity	
Smooth and intact	3
Superficial horizontal lamination	2
Fissures — 25 to 100 per cent of the thickness	1
Severe disruption, including fibrillation	0
Structural integrity	
Normal	2
Slight disruption, including cysts	1
Severe disintegration	0
Thickness	
100 per cent of normal adjacent cartilage	2
50-100 per cent of normal cartilage	1
0-50 per cent of normal cartilage	0
Bonding to the adjacent cartilage	
Bonded at both ends of graft	2
Bonded at one end, or partially at both ends	1
Not bonded	0
Freedom from cellular changes of degeneration	
Hypocellularity	
Normal cellularity	3
Slight hypocellularity	2
Moderate hypocellularity	1
Severe hypocellularity	0
Chondrocyte clustering	
No clusters	2
<25 per cent of the cells	1
25-100 per cent of the cells	0
Freedom from degenerative changes in adjacent cartilage	
Normal cellularity, no clusters, normal staining	3
Normal cellularity, mild clusters, moderate staining	2
Mild or moderate hypocellularity, slight staining	1
Severe hypocellularity, poor or no staining	0

TABLE I
HISTOLOGICAL-HISTOCHEMICAL GRADING *

	Grade		Grade
I. Structure		III. Safranin-O staining	
a. Normal	0	a. Normal	0
b. Surface irregularities	1	b. Slight reduction	1
c. Pannus and surface irregularities	2	c. Moderate reduction	2
d. Clefts to transitional zone	3	d. Severe reduction	3
e. Clefts to radial zone	4	e. No dye noted	4
f. Clefts to calcified zone	5		
g. Complete disorganization	6		
II. Cells		IV. Tidemark integrity	
a. Normal	0	a. Intact	0
b. Diffuse hypercellularity	1	b. Crossed by blood vessels	1
c. Cloning	2		
d. Hypocellularity	3		

* Serial histological sections, cut at five micrometers and stained with hematoxylin and eosin and safranin-O-fast green-iron hematoxylin, were analyzed for abnormalities in structure, cell population, safranin-O stain distribution, and tidemark integrity and scores assigned as the histologic-histochemical grade.

Histological evaluation was performed by a pathologist in Tromsø (V.I.) and a clinical scientist (S.R.) who specializes in histological analysis of cartilage. Both were blinded to the type of treatment that the patient had received. Concentrating particularly on the lower region of the biopsy specimen, they arbitrarily ranked the repair cartilage as hyaline (Group 1), fibrocartilage-hyaline mixture (Group 2), or fibrocartilage (Group 3), or they recorded that there was no repair tissue (Group 4).

TABLE I. HISTOLOGIC GRADING SCALE FOR DEFECT CARTILAGE

Parameter	Points	Observation
A. Cell morphology	0	Hyaline cartilage
	1	Mostly hyaline cartilage
	2	Mostly fibrocartilage
	3	Mostly noncartilage
	4	Noncartilage only
B. Matrix staining (metachromasia)	0	Normal (compared to host)
	1	Slightly reduced
	2	Significantly reduced
	3	No metachromatic stain
C. Surface regularity	0	Smooth (>3/4*)
	1	Moderate (1/2 << 3/4*)
	2	Irregular (1/4 << 1/2*)
	3	Severely irregular (1/4<*)
D. Thickness of cartilage	0	>2/3**
	1	1/3 << 2/3**
	2	<1/3**
E. Integration of donor to host adjacent cartilage	0	Both edges integrated
	1	One edge integrated
	2	Both edges not integrated
Total maximum (A-E)	14	

*Total smooth area of reparative cartilage compared to the whole area of the cartilage defect.

**Average thickness of reparative cartilage compared with that of surrounding cartilage.

Table 2. International Cartilage Repair Society II Visual Histological Assessment Scale

Histological Parameter	Visual Analog Scale Score
1. Tissue morphology (polarized light)	0-100
2. Matrix staining (metachromasia)	0-100
3. Cell morphology	0-100
4. Chondrocyte clustering	0-100
5. Surface architecture	0-100
6. Basal integration	0-100
7. Tidemark formation	0-100
8. Subchondral bone abnormalities/marrow fibrosis	0-100
9. Inflammation	0-100
10. Abnormal calcification/ossification	0-100
11. Vascularization in repair tissue	0-100
12. Surface/superficial assessment	0-100
13. Midzone/deep zone assessment	0-100
14. Overall assessment	0-100

Note: From Mainil-Varlet *et al.*⁴³

ICRS I Score

TABLE I ICRS Visual Histological Assessment Scale*	
Feature	Score
I. Surface	
Smooth/continuous	3
Discontinuities/irregularities	0
II. Matrix	
Hyaline	3
Mixture: hyaline/fibrocartilage	2
Fibrocartilage	1
Fibrous tissue	0
III. Cell distribution	
Columnar	3
Mixed/columnar-clusters	2
Clusters	1
Individual cells/disorganized	0
IV. Cell population viability	
Predominantly viable	3
Partially viable	1
<10% viable	0
V. Subchondral Bone	
Normal	3
Increased remodeling	2
Bone necrosis/granulation tissue	1
Detached/fracture/callus at base	0
VI. Cartilage mineralization (calcified cartilage)	
Normal	3
Abnormal/inappropriate location	0

*The observer attempts to evaluate one feature at a time. The most prominent feature on each specimen is matched to a graded panel of images that it most closely resembles. The highest score (3) is applied to the ideal repair result (i.e., truly regenerated tissue), and the lowest score (0) is applied to the poorest repair result. The scores should not be summed; rather, each score should be reported separately (i.e., I:3/II:3/III:2/IV:1/V:1/VI:3).

OsScore

Table 3

Histological features measured for OsScore

Feature	Score
Tissue morphology	Hyaline = 3 Hyaline/fibrocartilage =2 Fibrocartilage =1 Fibrous tissue =0
Matrix staining	Near normal =1 Abnormal =0
Surface architecture	Near normal =2 Moderately irregular =1 Very irregular =0
Chondrocyte clusters	None =1 ≤25% cells = 0.5 >25% cells = 0
Mineral	Absent =1 Present = 0
Blood vessels	Absent = 1 Present = 0
Basal integration	Good = 1 Poor = 0
Maximum total possible	10

O'DRISCOLL et al. (2001)

TABLE 1. HISTOLOGICAL-HISTOCHEMICAL SCORING SYSTEM

Score	Histological-Histochemical Findings	
	Chondrocytes	Safranin O Staining
0	None (or almost none)	None (or almost none)
1	<50%	Slight
2	>50%	Moderate
3	All (or almost all)	Normal (or nearly normal)

The Bern Score: For the Evaluation of Safranin O-Fast Green Stained Cartilagenous Pellet Cultures
(Minimum Score: 0; Maximum Score: 9)

Scoring categories	Score
Category A: Uniformity and darkness of Safranin O-Fast green stain (10X objective)	
No stain	0
Weak staining of poorly formed matrix	1
Moderately even staining	2
Even dark stain	3
Category B: Distance between cells/amount of matrix accumulated (20X objective)	
High cell densities with no matrix in between (no spacing between cells)	0
High cell densities with little matrix in between (cells <1 cell-size apart)	1
Moderate cell density with matrix (cells approx. 1 cell-size apart)	2
Low cell density with moderate distance between cells (>1 cell) and an extensive matrix	3
Category C: Cellular morphologies represented (40X objective)	
Condensed/necrotic/pycnotic bodies	0
Spindle/fibrous	1
Mixed spindle/fibrous with rounded chondrogenic morphology	2
Majority rounded/chondrogenic	3

Source: ²⁷Grogan SP. *et al.*, Tissue Eng 2006; 12(8):2141–9.

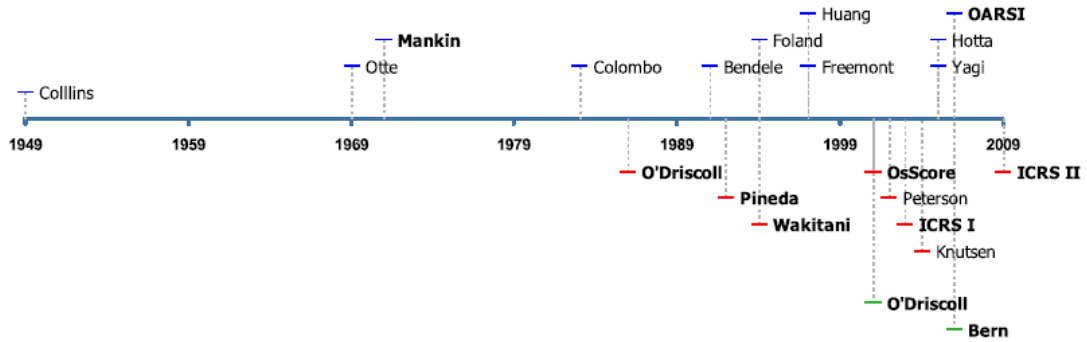


Fig. 1. Chronological development of cartilage histological scores after the first macroscopical score in 1949 (Collins). OA scores are presented in blue, *in vivo* cartilage repair scores in red, and *in vitro* tissue engineering scores in green.

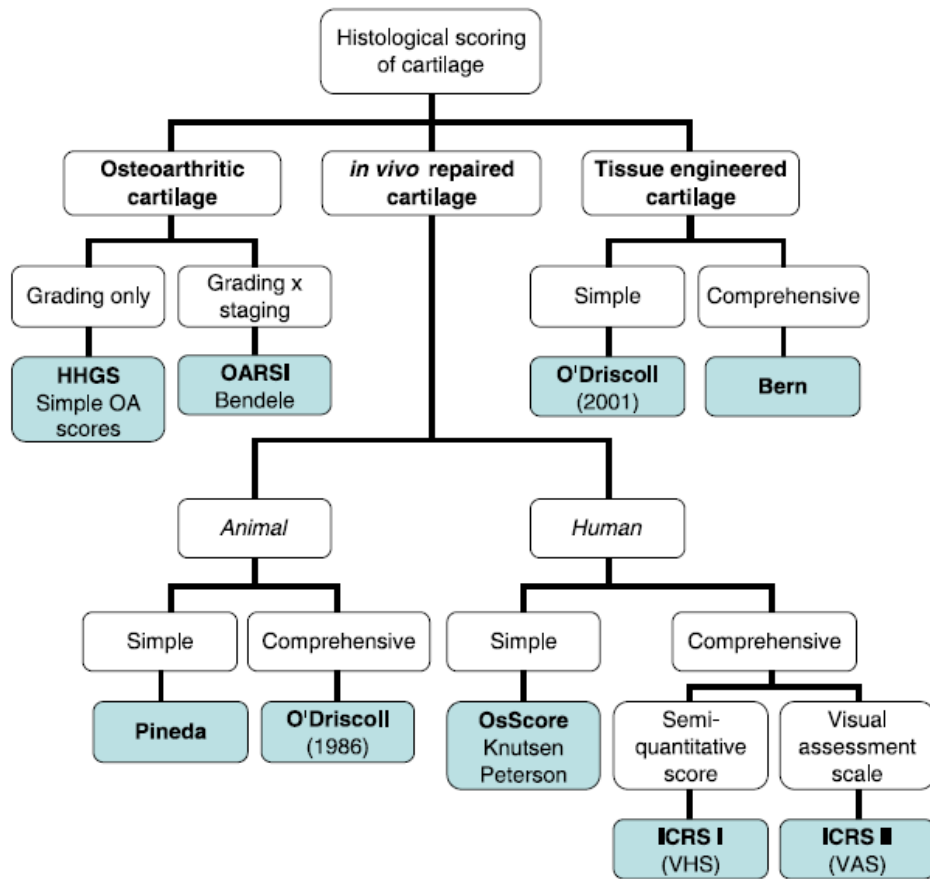


Fig. 5. Choice of an appropriate scoring system may be aided by a flow diagram. Validated scores are presented in bold.

4. 平成 23 年度の総括と今後の展望

今年度は、分担班（品質管理・非臨床評価）毎に素案を作成したので、次年度は海外のガイドライン（FDA ガイドライン等）との整合性も意識しつつ、この素案を基に策定作業を本格化する予定である。

また、軟骨再生に機能する間葉系幹細胞は、体外で分化誘導を行わず、そのまま最終製品として、移植治療に用いられることも多い。この場合、体内で軟骨に分化することから、最終製品としての性能を移植後も保持し続けるわけではなく、治療に適用される前に製品として完成形をとる他の一般的な医療機器とは一線を画するものである。こうした再生医療製品に特有な評価技術としての画像診断技術等の評価技術に関しては、臨床医学関連委員の協力を得ながら、今後も抽出していきたい。

参考資料

1. 開発ガイドライン（臨床評価）素案（第2回委員会配布資料3）
2. FDA ガイダンス(2007年度版)

開発ガイドライン（臨床評価）素案（第2回委員会配布資料3）

作成担当：画像診断評価（渡辺委員）、他（中村委員・北村委員・安達委員）

1. 臨床試験における評価技術に関する基本的考え方

限局した軟骨欠損を有する患者に対する軟骨再生医療の最終目標は、疼痛および関節機能改善によるQOLの改善である。臨床試験は試験に伴うリスクを最小限とし治療による利益を最大限に得られるように計画されるべきである。ヒト（自己）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について（平成20年2月8日薬食発第0208003号）、ヒト（同種）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について（平成20年9月12日薬食発第0912006号）は、目的とする細胞・組織の由来、対象疾患及び適用方法等を踏まえて適切な試験デザイン及びエンドポイントを設定して実施することを求めている。

再生軟骨製品の産業化には指標の国際標準化への取り組みも重要であり、国際的に理解される評価技術を導入する必要がある。

軟骨再生治療においては、臨床評価が主要評価項目（1次エンドポイント）であり、有効性評価に含まれるべきである。また副次的評価項目（2次エンドポイント）には、MRIや関節鏡等から得られる情報による修復組織の構造的改善の評価が含まれる。

2. 臨床有効性評価

臨床評価においては、関節の状態、疼痛と機能までの評価を含有した評価方法を用いることが推奨されるが、修復組織の構造的改善の評価等の副次的評価項目とあわせて評価すべきであろう。

臨床評価法として、Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS)は関節の状態、痛み、機能、QOLを総合的に評価できるもので、また臨床評価スコアとして国際的に評価の高いWestern Ontario and McMaster Universities Index (WOMAC)をそのまま一部として含有していることから、軟骨細胞治療の評価法として国際的に最も広く用いられている。昨年、authorizeされた日本版KOOS(J-KOOS)が完成し、わが国においても使用可能となった。また、国際膝評価委員会 International Knee Documentation Committee (IKDC) Subjective Knee Evaluation Form-2000も膝関節軟骨治療の臨床評価として国際的に使用されている。日本版もauthorizeされており、使用可能である。

【関係法規・規準・指針等】

- ・ ヒト（自己）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について（平成20年2月8日薬食発第0208003号）
- ・ ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針に係るQ&Aについて（平成20年3月12日事務連絡）
- ・ ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の製造管理・品質管理の考え方について（平成20年3月27日薬食監麻発第0327025号）
- ・ ヒト（同種）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について（平成20年9月12日薬食発第0912006号）

- ・ ヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針に係る Q&A について（平成 20 年 10 月 3 日事務連絡）
- ・ Guidance for Industry, Preparation of IDEs and INDs for Products Intended to Repair or Replace Knee Cartilage. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research, Center for Devices and Radiological Health, December 2011 (<http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/UCM288011.pdf>)
- ・ GUIDELINE ON HUMAN CELL-BASED MEDICINAL PRODUCTS. COMMITTEE FOR HUMAN MEDICINAL PRODUCT (CHMP), London, 11 January 2007 (EMA/CHMP/410869/2006)
- ・ Reflection paper on *in-vitro* cultured chondrocyte containing products for cartilage repair of the knee. Committee For Advanced Therapies (CAT), London, 08 April 2010 (EMA/CAT/CPWP/568181/2009)

【参考文献】

- ・ Bekkers JE, de Windt TS, Raijmakers NJ, Dhert WJ, Saris DB. Validation of the Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) for the treatment of focal cartilage lesions. *Osteoarthritis Cartilage*. 2009;17:1434-1439.
- ・ Greco NJ, Anderson AF, Mann BJ, Cole BJ, Farr J, Nissen CW, Irrgang JJ. Responsiveness of the International Knee Documentation Committee Subjective Knee Form on comparison to the Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index, Modified Cincinnati Knee Rating System, and Short Form 36 in patients with focal articular cartilage defects. *Am J Sports Med*. 2010;38:891-902.
- ・ Nakamura N., Takeuchi R., Sawaguchi T., Ishikawa H., Saito T., Goldhahn, S. Cross-cultural adaptation and validation of the Japanese Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS). *J Orthop. Sci*. 2011; 16:516-23
- ・ Hambly K, Griva K. IKDC or KOOS? Which measures symptoms and disabilities most important to postoperative articular cartilage repair patients? *Am J Sports Med*. 2008;36:1695-1704.
- ・ International Cartilage Repair Society. ICRS Cartilage Injury Evaluation Package. Available from: www.cartilage.org/files/contentmanagement/ICRS_evaluation.pdf
- ・ Mithoefer K, Saris DBF, Farr J, Kon E, Zaslav K, Cole BJ, Ranstam J, Yao J, Shive M, Levine D, Dalemans W, Brittberg M. Guidelines for the Design and Conduct of Clinical Studies in Knee Articular Cartilage Repair: International Cartilage Repair Society Recommendations Based on Current Scientific Evidence and Standards of Clinical Care. *Cartilage*. 2011;2:100-121.
- ・ Sprague S, Matta JM, Bhandari M. Multicenter collaboration in observational research: improving generalizability and efficiency. *J Bone Joint Surg Am*. 2009;91 Suppl 3:80-86.
- ・ Tanner SM, Dainty KN, Marx RG, Kirkley A. Knee-specific quality-of-life instruments: which ones measure symptoms and disabilities most important to patients? *Am J Sports Med*. 2007;35:1450-1458.
- ・ Irrgang JJ, Anderson AF, Boland AL, Harner CD, Neyret P, Richmond JC, Shelbourne KD; International Knee Documentation Committee. Responsiveness of the International Knee Documentation Committee Subjective Knee Form. *Am J Sports Med*. 2006;34:1567-1573.

・画像診断評価

(単純 X 線)

単純 X 線は再生軟骨を含む軟部組織の直接的な評価はできないが、関節症性変化等、骨組織の評価法として簡便で有用であり、経時的に評価を行うことが望ましい。

(MRI)

MRI は再生軟骨の臨床的画像診断法として、現在最も有用な評価法である。

MRI による評価は、再生軟骨や周囲組織の評価を含む包括的 MRI 評価法と、再生軟骨の質的 MRI 評価法に分けられる。

包括的 MRI 評価法では、MOCART(magnetic resonance observation of cartilage repair tissue)¹⁾等、客観的な評価基準を用いて、多施設間で統一した評価を行うことが望ましい。再生軟骨の評価には、高い空間分解能と信号雑音比を有する撮像が必要であり、3.0 tesla MRI を用いた評価が推奨される。MRI 撮像法は、fast spin-echo 法を用いたプロトン密度強調像、脂肪抑制プロトン密度強調像、及び三次元 等方性ボクセル撮像を基本として、再生軟骨の位置に合せた撮像断面で評価を行う。関節軟骨の質的 MRI 評価法としては、プロテオグリカン濃度の評価に有用な delayed gadolinium-enhanced MRI of cartilage (dGEMRIC)、水分含有量やコラーゲン配列の評価に有用な T2 mapping、及びプロテオグリカン濃度や水分含有量の評価に有用な T1ρ mapping 等が挙げられる。しかし、これらの質的 MRI 評価法の再生軟骨における有用性に関しては未だコンセンサスが得られていない²⁾。またこれらの評価法の評価能は、細胞源、足場素材の有無や特性の違い等によっても変化する可能性があり、結果の解釈には注意を要する。したがって質的 MRI 評価は、包括的 MRI 評価の補助的な評価として用いられるべきである。

【文献】

- 1) Welsch GH, Zak L, Mamisch TC, Paul D, Lauer L, Mauerer A, Marlovits S, Trattnig S. Advanced morphological 3D magnetic resonance observation of cartilage repair tissue (MOCART) scoring using a new isotropic 3D proton-density, turbo spin echo sequence with variable flip angle distribution (PD-SPACE) compared to an isotropic 3D steady-state free precession sequence (True-FISP) and standard 2D sequences. J Magn Reson Imaging. 33:180-8. 2011
- 2) Trattnig S, Winalski CS, Marlovits S, Jurvelin JS, Welsch GH, Potter HG. Magnetic Resonance Imaging of Cartilage Repair: A Review Cartilage 2: 5-26. 2011

2. FDA ガイダンス(2007 年度版)

Guidance for Industry

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

Additional copies of this guidance are available from the Office of Communication, Outreach and Development (OCOD), (HFM-40), 1401 Rockville Pike, Suite 200N, Rockville, MD 20852-1448, or by calling 1-800-835-4709 or 301-827-1800, or e-mail ocod@fda.hhs.gov, or from the Internet at <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>.

For questions on the content of this guidance, contact OCOD at the phone numbers or e-mail address listed above.

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

Contains Nonbinding Recommendations

Table of Contents

I. INTRODUCTION..... 1

II. BACKGROUND 2

III. PRODUCT DESCRIPTION 2

IV. MANUFACTURING AND CMC INFORMATION..... 3

A. Device Component 3

B. Cellular or Gene Therapy Product or Cellular Component of Combination Product..... 3

V. NONCLINICAL DATA CONSIDERATIONS 4

A. Animal Data and Testing Considerations..... 4

 1. Suitability of Animal Model(s)..... 5

 2. Animal Report(s) to be Submitted 7

B. Mechanical Data and Testing Considerations..... 8

 1. Suitability of Mechanical Testing..... 8

 2. Mechanical Testing Report(s) to be Submitted 9

VI. BIOCOMPATIBILITY TESTING 10

VII. CLINICAL STUDY PROTOCOLS..... 10

A. Design..... 10

 1. Early Phase Clinical Studies 10

 2. Phase 3 or Pivotal Clinical Studies 11

B. Control Group..... 12

C. Study Population..... 13

D. Study Efficacy Endpoints..... 14

E. Investigational Product Implantation Procedures..... 15

F. Follow-Up..... 16

G. Adverse Experience (Risk) Reporting..... 16

VIII. REFERENCES..... 18

Contains Nonbinding Recommendations

Guidance for Industry

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

This guidance represents the Food and Drug Administration's (FDA's) current thinking on this topic. It does not create or confer any rights for or on any person and does not operate to bind FDA or the public. You can use an alternative approach if the approach satisfies the requirements of the applicable statutes and regulations. If you want to discuss an alternative approach, contact the appropriate FDA staff. If you cannot identify the appropriate FDA staff, call the appropriate number listed on the title page of this guidance.

I. INTRODUCTION

This guidance document provides to you, sponsors of an investigational device exemption application (IDE) or an investigational new drug application (IND), recommendations about certain information that should be included in a submission describing a product intended to repair or replace knee cartilage. For the purposes of this document, a product intended to repair or replace knee cartilage, as with other cartilage repair or replacement products,¹ may include a biologic, device, or combination product² whose components would individually be regulated by the Center for Devices and Radiological Health (CDRH) or the Center for Biologics Evaluation and Research (CBER).^{3,4} This guidance finalizes the draft guidance of the same title dated July 2007.

This guidance supplements recommendations regarding IDE and IND submissions contained in other FDA publications (e.g., “Guidance on Applications for Products Comprised of Living Autologous Cells Manipulated ex vivo and Intended for Structural Repair or Reconstruction” dated May 1996, (Ref. 1)). For general information on IDEs and INDs, see <http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/HowtoMarketYourDevice/InvestigationalDeviceExemptionIDE/default.htm> and

¹ Prostheses such as unicondylar or total knee implants are beyond the scope of this guidance. Meniscus replacement products—which are being studied for use in preventing cartilage damage—are also beyond the scope of this guidance unless manufacturers propose new indications related to cartilage repair, replacement, or preservation.

² A combination product is a product composed of any combination of a drug and a device; a biological product and a device; a drug and a biological product; or a drug, device and a biological product. For the definition of the term “combination product,” see Title 21 Code of Federal Regulations, Part 3 (21 CFR Part 3) at 21 CFR 3.2(e).

³ Forward specific questions regarding product jurisdiction with respect to a combination product to the Office of Combination Products (OCP). You may call OCP at 301-796-8930 or email OCP at combination@fda.gov. Information about the Request for Designation (RFD) program and guidance related to the regulation of combination products are available at the OCP website at <http://www.fda.gov/CombinationProducts>. Forward questions regarding the applicability of specific regulations for articular cartilage repair or replacement products, for which jurisdiction has already been determined, to the Center with jurisdiction.

⁴ Human cells, tissues, and cellular and tissue-based products (HCT/Ps) regulated solely under section 361 of the Public Health Service Act (PHS Act) (42 U.S.C. 264) and 21 CFR Part 1271 are beyond the scope of this guidance.

Contains Nonbinding Recommendations

<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/DevelopmentApprovalProcess/InvestigationalNewDrugINDorDeviceExemptionIDEProcess/default.htm>, respectively.

We, FDA, typically regard investigational devices for articular cartilage repair or replacement to be significant risk devices (see 21 CFR 812.3(m)(1)) (§ 812.3(m)(1)). Therefore, if you intend to conduct clinical studies of these devices in the United States, you will likely need to submit to FDA an application for an IDE (21 CFR 812.20). All investigational studies for cellular therapy products, except for HCT/Ps that meet the criteria specified in 21 CFR 1271.10(a), including products for articular cartilage repair or replacement, require submission of an IND (21 CFR 312.20) (§ 312.20). When an IND or IDE is required, you must comply with FDA's IND regulations (21 CFR Part 312) or IDE regulations (21 CFR Part 812), as appropriate, to proceed with clinical investigations of these products. Institutional review board (IRB) approval alone is not sufficient to commence a clinical study in human subjects involving articular cartilage repair or replacement products (21 CFR 56.103).

FDA's guidance documents, including this guidance, do not establish legally enforceable responsibilities. Instead, guidances describe the FDA's current thinking on a topic and should be viewed only as recommendations, unless specific regulatory or statutory requirements are cited. The use of the word *should* in FDA's guidances means that something is suggested or recommended, but not required.

II. BACKGROUND

We prepared this guidance to address issues that may arise in the development of articular cartilage repair or replacement products. This guidance also reflects input received from the public and the Cellular, Tissue, and Gene Therapies Advisory Committee (CTGTAC) at the March 3 to 4, 2005 CTGTAC meeting (Ref. 2) and May 15, 2009 CTGTAC meeting (Ref. 9).

III. PRODUCT DESCRIPTION

For products subject to the IDE submission requirements in 21 CFR Part 812, you should, and in some cases are required to, provide in an IDE the following information to describe the investigational device:

- A complete written description of the individual components and how any components interact either mechanically or chemically. See §§ 812.25(d) and 812.20(b)(2).
- A description of the material(s) and any voluntary material standard(s) to which the material(s) conform. See §§ 812.25(d) and 812.20(b)(2). Depending on the material, we may recommend biocompatibility testing, as described in section VI. of this document.
- A description of anticipated changes to the device. See §§ 812.25(d) and 812.20(b)(2).
- A list and description of all instruments (including trial components) unique to the implantation of the product, the material or voluntary material standard(s) to which they conform, and supporting engineering drawings or photographs of them. See

Contains Nonbinding Recommendations

§§ 812.25(d) and 812.20(b)(2). You should provide evidence that the instrument materials are safe for limited contact with a breached surface, any instructions for assembly/disassembly (if applicable), and a statement regarding whether the instruments are re-usable or for single use only, and if re-usable, adequate instructions on cleaning and sterilizing the instruments.

Depending on the particular design of the product, additional information may be appropriate:

- For any concurrent control product or treatment, we recommend that you provide a written description, any available drawings and photographs, and information regarding materials from which the control product is manufactured.
- Products regulated under an IND must include a description of the product into the Chemistry, Manufacturing, and Controls (CMC) section of the IND submission per § 312.23(a)(7). Recommendations for application of these regulations to cellular and gene therapy products are provided in the CMC guidances listed below in section IV.B. of this document.

IV. MANUFACTURING AND CMC INFORMATION

A. Device Component

Under § 812.20(b)(3), you must provide a description of the methods, facilities, and controls used for the manufacture, processing, packing, storage, and, where appropriate, installation of the device, in sufficient detail so that a person generally familiar with good manufacturing practices can make a knowledgeable judgment about the quality control used in the manufacture of the device.

As part of that information, you should provide the following:

- basic manufacturing information regarding product design issues; and
- sterilization information for the finished device, as described in the FDA guidance entitled, “Updated 510(k) Sterility Review Guidance K90-1; Final Guidance for Industry and FDA” dated August 2002 (Ref. 3).

B. Cellular or Gene Therapy Product or Cellular Component of Combination Product

Section 312.23(a)(7) directs the sponsor to provide manufacturing and CMC information commensurate with the phase of the investigation. In addition, the current good tissue practice requirements in 21 CFR Part 1271 establish processing requirements applicable to all HCT/Ps, including those under IND.

For a cellular or gene therapy product or cellular constituents of a combination product, we recommend that you refer to the following FDA guidances:

Contains Nonbinding Recommendations

- “Guidance for Industry: Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy” dated March 1998 (Ref. 4);
- “Guidance for FDA Reviewers and Sponsors: Content and Review of Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Somatic Cell Therapy Investigational New Drug Applications (INDs)” dated April 2008 (Ref. 5); and
- “Guidance for FDA Reviewers and Sponsors: Content and Review of Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs)” dated April 2008 (Ref. 6).

V. NONCLINICAL DATA CONSIDERATIONS

You should provide nonclinical data sufficient to establish scientific support for clinical investigation of your product, and to demonstrate an acceptable safety profile of your product prior to initiating a human clinical study (see § 312.23(a)(8) for IND-specific requirements relating to the submission of pharmacology and toxicology information). These data can be derived from animal studies, mechanical testing, or a combination of both. You should choose the most appropriate testing to demonstrate the anticipated performance and address the safety issues raised by your product. The type of studies will be dependent on the exact constituents of your product. We encourage you to contact us about general and nonclinical testing to further define specific test recommendations. We recommend you design testing strategies that combine animal and mechanical testing in single studies if such a strategy does not compromise the validity of the measurements, or the usefulness of the data.

While a description and analysis of the individual components of a product consisting of multiple components is necessary, it is not sufficient as it does not provide information on how the final product functions and the interactions in vivo. Because of this, the key nonclinical studies should ideally evaluate a version of the product that is identical to the product that is intended to be used in the clinical evaluations. If this is not possible, you should provide a rationale that addresses the differences between the various versions of the product and why the nonclinical data resulting from an analysis of a different product is applicable in support of initiation of clinical studies. In order to facilitate an appropriate review of the investigational application, we suggest that you provide information on the various versions of your product in tabular form that includes which nonclinical studies were conducted on each version, and where the study results are located in the IND or IDE submission.

A. Animal Data and Testing Considerations

Generally, animal studies are used to assess the following issues:

- **Biological response** to the product and the biological activity (proof of concept and safety data) of each component of a combination product. You can use animal studies to demonstrate that a product’s components have the potential to contribute to the clinical efficacy of the final product.

Contains Nonbinding Recommendations

- **Durability** (length of time needed to assess repair of the cartilage lesion and the ability of the product to resist wear, degradation, withstand physiological relevant loads over time, etc.). You can assess durability of the response in large animal studies. Generally, studies that are a minimum of one year in length are recommended to provide an adequate period for completion of healing. This duration is also generally sufficient to allow assessment of durability of the therapeutic response, and of the integrity of the product. The study duration may vary depending on the product characteristics, type, and amount of data available. For example a product that takes longer to degrade may require longer follow-up for adequate characterization of the degradation profile.
- **Toxicology** (potential for local and systemic toxicities due to a component of the product). Local toxicities may be due to interactions of the product with the components of the joint, or degradation of the product in the joint. Systemic toxicities may be due to cell or particle migration outside of the articular space. Potential for tumorigenicity or inappropriate differentiation of cellular products exists within or outside of the articular space.
- **Dose response** (e.g., material constituents, cell number, and other characteristics, which may affect lesion repair). Dose response can often best be assessed in large animal studies⁵ as a result of anatomic and biomechanical considerations.
- **Lesion size and location** evaluated in the animal study should be scaled appropriately to mimic what will be studied clinically. If multiple devices will be used clinically, this should be considered in the animal study design. In addition, the lesion should be located in an analogous location in the animal study as intended for implantation in humans.
- **Appropriate endpoints** should be used to design your animal study to mirror your clinical study; please consider incorporating secondary clinical endpoints from section VII.D. of this document into your study design (e.g., histology).
- **Use of arthroscopic and/or magnetic resonance imaging (MRI) evaluations.** To reduce the number of animal sacrifices at each timepoint, it may be appropriate to provide interim arthroscopic assessments and/or MRI evaluations in the animal studies. At the time of each sacrifice, the mechanical integrity of the cartilage should be assessed along with gross examination.

Other important considerations for the animal study include:

1. Suitability of Animal Model(s)

We recognize that choosing and determining the suitability of animal model(s) for evaluation of any specific product is difficult because there is no perfect animal model of articular cartilage injury. As discussed at the March 2005 CTGTAC meeting (Ref. 2):

⁵ See ASTM standard F2451-05 (Reapproved 2010) “Standard Guide for in vivo Assessment of Implantable Devices Intended to Repair or Regenerate Articular Cartilage.” <http://www.astm.org/Standards/F2451.htm>.

Contains Nonbinding Recommendations

- the scientific literature contains descriptions of numerous methods for evaluating the nonclinical behavior of native cartilage and, consequently, articular cartilage repair or replacement products;
- not all of these methods may apply to a specific articular cartilage repair or replacement product; and
- goats, sheep, and horses are the most frequently used large animal models for cartilage repair.

Because a recommendation for a set of specific evaluations is not possible without detailed description of the articular cartilage repair, or replacement product, reference is made to the ASTM F2451-05, “Standard Guide for in vivo Assessment of Implantable Devices Intended to Repair or Regenerate Articular Cartilage,” reapproved by ASTM in 2010.⁶ This standard provides guidelines related to the development of animal models and mechanical testing. We recommend that you consult this standard or the applicable scientific literature when designing animal studies. Specifically, the standard contains a:

- comparison of animal models (joint size and load, age, skeletal maturity);
- articular cartilage defect types (location, size, type, depth, etc.); and articular cartilage defect locations;
- discussion of articular cartilage defect preparation; description of gross and histological assessments; and
- description of various mechanical evaluations and their applicability.

Any of the large animal species referenced above may be appropriate in studies designed to support the activity and safety of your cartilage repair or replacement product. However, we recommend that you choose the species after carefully considering the model’s ability to reflect the intended clinical use and provide a rationale for the animal model selected for your nonclinical study(ies) within your original IDE or IND application submission.

We further recommend the use of pilot studies designed to confirm the suitability of testing a particular product in a specific animal species. Several different animal studies and/or species may be necessary to adequately model functional aspects and potential toxicities of a single product. However, the number of studies needed should be determined by relevant structural and biological characteristics of the product, not by the number of components of the product. It may be possible to utilize a combination of small and large animal studies to evaluate degradation, durability, safety, and efficacy.

In the case of a product containing human cells, studies performed in animals often require the use of either immunosuppressive agents to avoid rejection of the product, or the use of analogous cellular products in animals. Analogous cellular

⁶ The standard is available at <http://www.astm.org/Standards/F2451.htm> or contact ASTM Customer Service at service@astm.org.

Contains Nonbinding Recommendations

products are cellular products derived from the animal species used for testing that are analogs of the ultimate clinical product in cellular characteristics and biologic activity. You should characterize the level of analogy with the human product in preliminary studies prior to conducting a pivotal toxicology study with the analogous cellular product.

We recommend that you design nonclinical testing of cartilage repair and replacement products that contain a cellular or gene therapy component following the principles provided in section VIII. of the FDA guidance entitled, “Guidance for Industry: Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy” dated March 1998 (Ref. 4), and if applicable, the recommendations provided in section IV. of the FDA guidance entitled, “Guidance for Industry, Gene Therapy Clinical Trials – Observing Subjects for Delayed Adverse Events” dated November 2006 (Ref. 10).

2. Animal Report(s) to be Submitted

You should provide complete reports of any animal studies conducted using the investigational product⁷, whether adverse or supportive, relevant to the evaluation of the safety or effectiveness of the investigational product. At a minimum, the following information should be included in the animal report:

- the purpose of the study;
- the rationale for the animal model used;
- a detailed methods section, to include the creation, size, and location of the cartilage defect;
- period of immobilization;
- reports on gait analysis;
- all tested parameters listed in section V. of this document, as applicable; and
- pathological, histological, and radiological evaluations.

In addition, you should explicitly describe any differences between the product used in the animal studies and the product proposed for clinical use in the IDE or IND.

For each nonclinical laboratory study subject to the good laboratory practice (GLP) regulations under 21 CFR Part 58, you must include a statement that the study was conducted in compliance with the GLP regulations, or, if the study was not conducted in compliance with those regulations, a brief statement of the reason for the noncompliance (§ 312.23(a)(8)(iii) for INDs and § 812.27(b)(3) for IDEs). For

⁷ Note that for IDE studies, sponsors must “include reports of all prior clinical, animal, and laboratory testing of the device” (21 CFR 812.27(a)). Note that for IND studies, sponsors must provide adequate information to support the basis for concluding that it is reasonably safe to conduct clinical investigations (21 CFR 312.23(a)(8)).

Contains Nonbinding Recommendations

INDs, you must provide a full tabulation of data suitable for detailed review for each toxicology study that is intended primarily to support the safety of the proposed clinical investigation (§ 312.23(a)(8)(ii)(b)).

B. Mechanical Data and Testing Considerations

1. Suitability of Mechanical Testing

You should provide mechanical data for all articular cartilage repair or replacement products or a rationale addressing why limited mechanical testing coupled with complete animal study data are appropriate to establish an acceptable safety profile of the investigational product.

The mechanical testing appropriate for your product may depend on the design, material, method of attachment to the subchondral bone and/or surrounding intact cartilage, and indication for use.

Generally, the mechanical testing results should address the following:

- ability of the implant to withstand expected in vivo static and dynamic loading (e.g., compression, shear, and tension);
- analysis of fixation method (e.g., strength of integration between the product and surrounding native tissue); and
- propensity to generate wear debris.

Specifically, we recommend that you assess both the static mechanical behavior of the product by measuring the maximum recoverable compressive strain, the aggregate modulus (H_A), the shear modulus (μ), and permeability (κ) as well as the dynamic mechanical behavior of the product including an assessment of the complex shear modulus G^* . These assessments of the mechanical properties should include a determination of any relevant anisotropies and nonlinearities in your product. In addition, you should determine the failure properties of your product. For products that contain a degradable scaffold component(s), it will be important to assess the failure properties as a function of time. Many mechanical testing methods may be used to measure the mechanical properties of your product, including, but not limited to, confined or unconfined compression and indentation. We recommend that you consult with FDA to discuss the appropriate mechanical testing methodology for your product as well as refer to ASTM F2451-05 (reapproved 2010) for additional information regarding test methods.

Contains Nonbinding Recommendations

2. Mechanical Testing Report(s) to be Submitted

You should provide complete reports of any mechanical testing conducted on the investigational product⁸, whether adverse or supportive, that is relevant to the evaluation of the safety or effectiveness of the investigational product. Each test report should include, but need not be limited to, the following elements:

- identification of the components that comprised the product tested;
- description of the apparatus used;
- description of the procedures;
- rationale supporting the testing environment as being a worst case condition;
- rationale for the loading modes chosen;
- study results; and
- discussion of the results in terms of the expected in vivo and clinical performance of the system.

You should also provide a comprehensive summary of all mechanical testing in addition to complete reports for each test, and include an assessment of the degree of cartilage breakdown. This may be done visually after staining with India ink.

We realize that some types of products are not capable of fully withstanding applied loads at the time of implantation (e.g., a cellular product held in place by a periosteal flap or a flexible scaffold that will eventually be populated by cells and ultimately form a load-bearing tissue). For these products, it would be appropriate to characterize various mechanical properties at discrete time points following maturation in a suitable animal model. You should initially assess the product's ability to maintain its location within the loaded joint (analysis of fixation or interfacial strength), and subsequently continue to assess this characteristic while adding assessments of the newly-formed tissue aimed to determine its ability to bear applied loads. Samples for these tests may consist of explanted regenerated tissue from the animal model or other appropriate samples as justified by the sponsor. When there are differences between the proposed clinical product and the product tested, you should explain how or why the results are relevant in establishing the relative safety of the proposed product.

Regardless of the evaluations which are performed, you should compare the properties of the repaired or regenerated tissue to control tissue (e.g., the cartilage collected from an unoperated control joint). While it is understood that the repair tissue might have properties that differ from those of normal cartilage, you should describe why these differences might not be relevant to the in vivo and clinical behavior of the product.

⁸As previously noted, for IDE studies, sponsors must “include reports of all prior clinical, animal, and laboratory testing of the device” (21 CFR 812.27(a)). Note that for IND studies, sponsors must provide adequate information to support the basis for concluding that it is reasonably safe to conduct clinical investigations (21 CFR 312.23(a)(8)).

Contains Nonbinding Recommendations

VI. BIOCOMPATIBILITY TESTING

Depending on the material(s) used in the product, we may recommend biocompatibility testing. According to ISO-10993, “Use of International Standard ISO-10993-1:2009, ‘Biological Evaluation of Medical Devices Part-1: Evaluation and Testing’” (Ref. 7) and/or ASTM F748-06, “Standard Practice for Selecting Generic Biological Test Methods for Materials and Devices”⁹ may provide acceptable approaches for conducting biocompatibility testing. You should include in the IND or IDE a complete test report describing the tests performed, the specific methods utilized, and the results.

VII. CLINICAL STUDY PROTOCOLS

Clinical studies of articular cartilage repair or replacement products must be conducted in compliance with the IDE regulations, which include requirements to obtain FDA approval for studies of significant risk devices (21 CFR Part 812) or the IND regulations (21 CFR Part 312), as appropriate, as well as with the regulations as to informed consent (21 CFR Part 50) and the regulations as to IRBs (21 CFR Part 56) and other applicable regulatory requirements.

A. Design

In general, the clinical development program for an investigational knee cartilage repair or replacement product should proceed through an orderly series of early phase and phase 3 or pivotal clinical studies¹⁰. The number of clinical studies as well as the specific design requirements is contingent upon multiple factors, including the characteristics of the investigational product, the route of product administration (e.g., implantation), the characteristics of the target population, and the proposed product indication. This guidance provides only a broad outline of the major features to consider in designing a clinical study.

1. Early Phase Clinical Studies

You should design early phase clinical studies that are conducted early in clinical development to obtain, in addition to any other features, the following information:

- safety data (e.g., adverse experience reports, explant analyses where appropriate, revision procedure details);

⁹ <http://www.astm.org/Standards/F748.htm>.

¹⁰ “Exploratory”, “feasibility”, “phase 1”, and “phase 2”, are all terms that have been used to modify “clinical trials” in various situations to describe “early phase” clinical trials. Likewise “phase 3” and “pivotal” have been used to refer to “late phase” clinical trials. In an effort to increase simplicity, clarity, and readability, we will use “early phase” to denote all early phase clinical studies or trials, and we will use the phrase “phase 3 or pivotal” in this guidance to denote all late phase clinical studies or trials.

Contains Nonbinding Recommendations

- data assessing the ability to properly implant the product, including identification of any study procedures (including surgical procedure) that should be modified to optimize product administration/implantation;
- bioactivity data, such as assessments of cartilage integrity based upon imaging results and/or biopsy findings;
- data assessing the appropriateness of the target population; and
- data providing information concerning the activity of the product in vivo or other information related to product activity that may be informative for future development, such as:
 - product dose-response relationships; and
 - product design-response characteristics.

You should comprehensively evaluate early phase clinical study data to facilitate the design of phase 3 or pivotal studies. At the conclusion of early phase clinical studies, you should be able to provide clinical data explaining the important aspects of the phase 3 or pivotal clinical studies that apply to the investigational product, such as:

- data that support the product dose and design characteristics;
- route of administration, including surgical implantation technique in the use of the product;
- extent and nature of follow-up evaluations;
- study subject sample size;
- eligibility and ineligibility criteria;
- choice of the major study endpoints; and
- statistical assessments of the major study endpoints.

An important consideration for an early phase clinical study of knee cartilage repair or replacement products is the potential use of a control group(s) to optimize the interpretation of the early phase findings. In general, the most important clinical outcomes associated with use of these products are relief of pain and restoration of knee function, outcomes we believe are highly susceptible to bias due to assessment subjectivity. The use of control groups in early phase studies may greatly facilitate the interpretation of the clinical study findings, even if – because of the nature of the studies – the statistical assessments lack the robustness or power to support phase 3 or pivotal clinical studies (for a more general discussion of controls groups in clinical studies of the products described in this guidance see section VII.B. of this document below).

2. Phase 3 or Pivotal Clinical Studies

Phase 3 or pivotal clinical studies are designed to obtain hypothesis-testing data (i.e., to test a primary efficacy hypothesis and provide sufficient supportive data for that hypothesis as well as corresponding safety data). Depending upon the characteristics of the investigational product, safety concerns may require sample sizes larger than one might estimate based solely upon the projected primary

Contains Nonbinding Recommendations

efficacy endpoint treatment effect. Consequently, we recommend that you consider both efficacy and safety considerations in designing phase 3 or pivotal clinical studies.

Typically, phase 3 or pivotal clinical studies use a randomized, controlled design. Whenever possible, we recommend that you use such a study design with endpoints ascertained in a blinded manner (e.g., subjects are blinded to treatment group, primary endpoints should be assessed in either a completely blinded manner or with the use of major endpoint evaluators who are blinded to the study treatment assignments). However, alternative phase 3 or pivotal study designs may be considered.¹¹ You should provide FDA with data (from your studies and applicable literature) and a rationale to support your phase 3 or pivotal study design prior to initiation of a phase 3 or pivotal study for any cartilage repair product.

We believe that the clinical knowledge base generated for current potential active concurrent controls (such as microfracture) has not established a treatment effect size with precision sufficient to employ a non-inferiority trial design. Therefore, we think that phase 3 or pivotal trials for these products should be designed and powered as superiority trials.

Listed below in sections VII.B through G of this document, are important considerations for the design of both early phase and phase 3 or pivotal clinical studies.

B. Control Group

Multiple options exist for the choice of a study's control group(s), and we recommend that you review the FDA guidance entitled, "Guidance for Industry: E 10 Choice of Control Group and Related Issues in Clinical Trials" dated May 2001 (Ref. 8). This guidance, while intended for biological products and drugs, contains concepts we believe may also be relevant to the clinical study of an investigational device intended for the repair or replacement of knee articular cartilage.

In general, control groups may be broadly classified as either concurrent or historical. Rapid advances in surgical techniques and the medical care of damaged knees over the past several years suggest that you should generally use a concurrent control group to obtain the most informative clinical data. We believe historical controls are insufficient for phase 3 or pivotal clinical studies of knee cartilage repair or replacement products.

The most common types of concurrent control groups include placebo controls, sham-surgery controls, active-comparator controls, or standard care controls. If you choose an active comparator control, we recommend that you use one that is well accepted as

¹¹ For cellular and gene therapy, and combination products regulated under section 351 of the PHS Act (42 U.S.C. 262), please refer to the discussion of surrogate endpoints in the FDA guidance entitled, "Guidance for Industry on Fast Track Drug Development Programs: Designation, Development, and Application Review" dated January 2006 <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM079736.pdf>.

Contains Nonbinding Recommendations

standard treatment for the indication. For example, the comparator may be an approved or licensed product or a well-accepted surgical procedure for the indicated condition. Comparator procedures may include the following: microfracture, debridement, osteochondral autograft transplantation (e.g., mosaicplasty), autologous chondrocyte implantation, autogenous perichondral or periosteal grafts, and osteochondral allografts, depending on the standard treatment for the indication. You should provide a rationale for the selected comparator(s). This rationale should include the comparability of the investigational and control treatments with respect to the extent of the surgical procedures involved as well as the duration and extent of rehabilitation.

A study could also include more than one comparator study arm. For example, a controlled study could compare treatment effects across a range of investigational product dosages or compare treatment effects among a group of alternative procedures/products.

We recommend that, for most studies, randomized controls be used such that the control group populations have lesions that are similar to the experimental group in terms of depth, size, and extent of cartilage/bone damage.

C. Study Population

We recommend you pre-specify the following subject selection characteristics within a study protocol's eligibility criteria:

- age;
- degree of pain;
- presence or absence of osteoarthritis and method of diagnosis of osteoarthritis;
- chronicity of lesion;
- minimum and/or maximum degree of physical function;
- location of articular lesion (e.g., medial femoral condyle, lateral femoral condyle);
- depth of lesion;
- size area of lesion (i.e., in cm²);
- concomitant joint pathology (e.g., meniscal tear, ligament tear); and
- whether there has been prior treatment for the lesion; and an assessment of general health status.

In defining each of these characteristics, you should select unambiguous definitions, preferably based upon well-accepted evaluation techniques. One acceptable way for determining subject eligibility by size and extent of the cartilage lesion is through use of the International Cartilage Rating System (ICRS), as described in the International Knee Documentation Committee (IKDC) Knee Examination Form-2000.¹² You should provide a scientific rationale in your study protocol or supportive documents for selecting minimum values, maximal values, lesion depth, lesion size, and number of product(s) to

¹² This form is contained in the ICRS Cartilage Injury Evaluation Package, available at http://www.cartilage.org/files/contentmanagement/ICRS_evaluation.pdf.

Contains Nonbinding Recommendations

be implanted. To determine subject eligibility by clinical parameters such as pain and clinical function, we recommend that you use an established, validated clinical measurement instrument such as those described in section VII.D.

D. Study Efficacy Endpoints

We recommend that clinical studies assess the endpoints described in this section. However, the applicability of these endpoints depends on the characteristics of the investigational product and its method of administration (e.g., implantation).

We believe that clinically meaningful endpoints, such as improvement in pain and physical function, provide the most persuasive evidence of efficacy. Consequently, you should identify changes in pain and physical functioning as the primary endpoint for phase 3 or pivotal clinical studies. Examples of measures that may be used to assess these endpoints include the:

- Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS)¹³;
- IKDC Subjective Knee Evaluation Form-2000;
- Cincinnati Knee Rating System;
- Symptom Rating Form; and
- Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC).

However, none of the above single validated instruments can be used to measure both joint pain and function. Therefore, separate validated instruments are recommended for measurement of both joint pain and function (Ref. 10). If you use a co-primary endpoint approach, then statistical success should be met by both endpoints in a manner that preserves the overall type 1 error.

Secondary endpoints that may be studied include:

- arthroscopic evaluation to assess:
 - changes in the size, location, and grade of cartilage lesions both before and after debridement, if debridement is intended. One acceptable method for assessing these endpoints is through use of the ICRS, as described previously in section VII.C above.
 - the integrity of repaired tissue; and
 - the binding of implanted investigational product to adjacent tissue, including assessments of stiffness/firmness based upon tissue probing.
- assessment of the physical findings from examination of the knee joint, including:
 - both passive and active range of motion;
 - quadriceps muscle strength;
 - alignment;
 - degree of patellar subluxation;

¹³ This form is available from <http://www.koos.nu/>.

Contains Nonbinding Recommendations

- degree of effusion;
- degree of crepitus; and
- degree of ligament laxity.
- histologic evaluation at both short (e.g., six months) and long term (e.g., two years) follow-up in a subset of subjects to assess:
 - matrix zonal organization;
 - cell density;
 - cell morphology (i.e., chondrocytic vs. fibroblastic);
 - collagen types and concentration;
 - aggrecan concentration, size, and composition;
 - other proteoglycan concentrations;
 - noncollagenous protein concentrations; and
 - inflammatory response.
- serological assessments for antibody formation and evidence of inflammation.
- assessment of synovial fluid samples for cell count, sterility, and, as applicable, markers of inflammation and antibody formation.
- joint/cartilage structure as assessed by MRI, for:
 - articular surface integrity;
 - thickness and volume of chondral surface;
 - subchondral bone plate contour;
 - thickness and volume of synovial membrane; and
 - volume of synovial fluid.

We recommend that the protocol specify which MRI techniques and views will be taken, and that the images be interpreted by at least two independent (blinded) readers with a third available for adjudication, if necessary. A core facility to interpret images independently could also be considered. The protocol or study supportive documents should include a clear, prospectively stated description of the plan for review of these images, and plans for resolving conflicting readings.

E. Investigational Product Implantation Procedures

The clinical protocol and supportive documents must provide a detailed description of the procedures to be used in implantation of the investigational product (§§ 312.23(a)(6) and 812.25(b)). This description is especially critical in multi-center studies. We acknowledge that many surgical procedures use techniques common to standard surgical practice and these procedures can be briefly summarized in the description of the investigational product implantation procedures. Any unique procedures for implantation of the investigational product should be described in detail.

For plans related to any surgical procedures, the clinical protocol should identify and provide details on the:

Contains Nonbinding Recommendations

- **Surgical technique** for both the investigational and control treatments, including the type of anesthesia, the size of the incision, the use of antibiotics and pain medications, and the maximum number of product(s) that may be implanted, as applicable. We recommend that the surgical procedures be comparable, as much as possible, between treatment groups.
- **Plans for post-operative care.** Supportive documents should address the use of continuous passive motion; the duration, method, and frequency of weight bearing; the type, dose, and frequency of pain medication used; and the type and frequency of rehabilitation. These factors should be standardized between/among treatment groups when possible. If it is not possible to standardize the surgical technique or post-operative care regimen, all attempts to mitigate the potential introduction of bias and influence on the outcomes should be taken.

F. Follow-Up

You should include sufficient follow-up information from your clinical study for all investigational products within a premarket approval application (PMA) or biologics license application (BLA). For investigational products which are resorbed, degraded, or remodeled, the study subject follow-up duration should be based on information gathered from in vivo and in vitro nonclinical studies, and the natural history of the underlying target clinical condition. We recommend a minimum of two-year follow-up clinical information (subject to the degradation profile of the product) be submitted with the PMA or BLA. Data from an extended follow-up period provides an important component of the information to be contained within product labeling. Therefore, the subjects enrolled in initial or early phase studies should continue to be followed during the period of phase 3 or pivotal studies or longer to provide some long-term follow-up information, which may be required as part of post-market surveillance, with a minimum of five years of follow-up.¹⁴

G. Adverse Experience (Risk) Reporting

This section concerns adverse experience (AE) reporting by the investigator(s) to the sponsor (§§ 312.64 and 812.150(a)(1)).¹⁵ When an investigator reports AEs to the sponsor, the investigator should stratify the AEs by those general to any surgery, those related to knee surgeries (open vs. arthroscopic), and those specific to the investigational product. We recommend that you incorporate definitions or descriptions of known or anticipated AEs into the case report forms (CRFs) to ensure uniform reporting. You should also state in the protocol and CRFs that all subsequent surgical intervention, investigational product-related or not, should be reported and recorded.

¹⁴ Characteristics of individual products may result in the need for longer than typical follow-up, such as gene therapy products as described in Reference 10.

¹⁵ For requirements regarding AE reporting by a sponsor to FDA, see §§ 312.32 and 812.150(b)(1).

Contains Nonbinding Recommendations

For the purpose of this guidance, we define subsequent surgical interventions as follows:

- Revision - a procedure that adjusts or in any way modifies or removes part of the original investigational product, with or without replacement of a component; it may include adjusting the position of the original investigational product. If the investigational product is used/implanted in conjunction with an FDA approved product/component, a revision to any component, even to the approved component, should be reported as a revision.
- Removal - a procedure where all or part of the original investigational product is removed with or without replacement.
- Reoperation - any subsequent surgical procedure at the involved surgery site that does not involve removal, revision, modification, or addition of any component(s) to the product.

Contains Nonbinding Recommendations

VIII. REFERENCES

1. Guidance on Applications for Products Comprised of Living Autologous Cells Manipulated ex vivo and Intended for Structural Repair or Reconstruction, May 1996
<http://www.federalregister.gov/articles/1996/05/28/96-13386/guidance-on-applications-for-products-comprised-of-living-autologous-cells-manipulated-ex-vivo-and>.
2. Cellular, Tissue, and Gene Therapies Advisory Committee Meeting, March 3, 2005
<http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/05/transcripts/2005-4093T1.htm>; March 4, 2005
http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/05/transcripts/2005-4093T2_01.htm.
3. Updated 510(k) Sterility Review Guidance K90-1; Final Guidance for Industry and FDA, August 2002
<http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm072783.htm>.
4. Guidance for Industry: Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy, March 1998
<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/ucm072987.htm>.
5. Guidance for FDA Reviewers and Sponsors: Content and Review of Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Somatic Cell Therapy Investigational New Drug Applications (INDs), April 2008
<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Xenotransplantation/ucm074131.htm>.
6. Guidance for FDA Reviewers and Sponsors: Content and Review of Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs), April 2008
<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/ucm072587.htm>.
7. Use of International Standard ISO-10993-1:2009, “Biological Evaluation of Medical Devices Part 1: Evaluation and Testing Within a Risk Management Process,” October 2010
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfStandards/detail.cfm?standard_identification_no=28430.
8. Guidance for Industry: E 10 Choice of Control Group and Related Issues in Clinical Trials, May 2001 <http://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/ucm125802.htm>.
9. Cellular, Tissue, and Gene Therapies Advisory Committee Meeting, May 15, 2009
<http://www.fda.gov/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/BloodVaccinesandOtherBiologics/CellularTissueandGeneTherapiesAdvisoryCommittee/ucm155430.htm>.
10. Guidance for Industry: Gene Therapy Clinical Trials – Observing Subjects for Delayed Adverse Events, November 2006
<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/ucm072957.htm>.

この報告書は、平成 23 年度に独立行政法人 産業技術総合研究所が、経済産業省からの委託を受けて実施した成果を取りまとめたものです。

－ 禁無断転載 －

平成 23 年度 戦略的技術開発委託費
医療機器等の開発・実用化促進のためのガイドライン策定事業
(医療機器に関する開発ガイドライン作成のための支援事業)
再生医療分野(組織[軟骨]再生における性能評価技術)
開発 WG 報告書

連絡先

〒100-8901
東京都千代田区霞が関 1-3-1
経済産業省商務情報政策局 ヘルスケア産業課
医療・福祉機器産業室
TEL : 03-3501-1562
FAX : 03-3501-0315
URL : <http://www.meti.go.jp/>

発行

〒305-8564
茨城県つくば市東 1-1-1
独立行政法人 産業技術総合研究所ヒューマンライフテクノロジー研究部門
医療機器開発ガイドライン検討実務委員会
TEL/FAX : 029-861-7840
E-Mail : human-ws-ml@aist.go.jp