

日本医療研究開発機構 医療分野研究成果展開事業  
産学連携医療イノベーション創出プログラム セットアップスキーム (ACT-MS)  
事後評価報告書

公開

## I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) ヘルニア・変性椎間板組織再生を促す新規コラーゲンゲル充填剤  
(英語) Development of a novel collagen gel for tissue regeneration of degenerative disc disease

研究開発実施期間: 令和2年8月21日～令和4年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 森本 康一  
(英語) Koichi Morimoto

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:  
(日本語) 近畿大学・生物理工学部・教授  
(英語) Biology-Oriented Science and Technology, Kindai University, Professor

## II 研究開発の概要

### 【目標】

本課題の最終目標は、変性椎間板の組織修復と変性抑止を目指して従来にないコラーゲンゲル（第3世代コラーゲン）を医療機器として研究開発し、臨床応用に発展させることである。そのため、製造と品質評価、動物モデルの作出と有効性評価、PMDA 相談を計画実行し、次ステージの非臨床 POC に進むための実績を得ることを目的とした。

### 【背景】

本邦の椎間板ヘルニアの手術数は23,640件/年、潜在患者数は5,000～125,000名と集計される（令和2年社会医療診療行為別統計（令和2年6月）審査分 第7表から試算（日本総研））。椎間板ヘルニアは軽度であれば保存療法（薬物療法など）、進行すれば酵素注入療法もしくは髄核摘出術となる。しかし、このような既存法では椎間板の再生は望めず、さらに時間経過とともに組織変性が進むことで脊柱管狭窄症やすべり症が発症する。既存法は根本治療ではないために術後疼痛率や再発率が高くなり、労働生産性が低下して大きな経済損失となっている。よって治療効果を上げるために超高純度アルギン酸や MMP-7 などの新規治療材料が開発されている。しかし、椎間板組織の修復・変性抑止を実現する材料ではないので、新しいコンセプトの今までにない治療材料が求められている。

## 【シーズ】

我々は、ブタ I 型コラーゲンをアクチニジン・プロテアーゼで限定加水分解した第 3 世代コラーゲンが従来の第 2 世代コラーゲン（アテロコラーゲン）と異なり、第 3 世代コラーゲン上で培養した線維芽細胞がスフェロイド形成し、成長因子の遺伝子発現量が増大することを示した (Morimoto & Kunii, 2019, doi.org/10.1016/j.mtla.2019.100450)。さらに第 3 世代コラーゲンの変性温度は第 2 世代コラーゲンより約 2℃ほど低く、生体内（体温）での高次構造の不安定性が示唆された (Morimoto et al., 2021, doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.061)。研究開発代表者らは、第 3 世代コラーゲンが *in vitro* で細胞との接着が低くなることから、Low Adhesive Scaffold Collagen（以後、LASCo1 と略）と名付けた。その後、神戸大学整形外科教室との共同研究において、LASCo1 上で培養したヒト髄核細胞がスフェロイドを形成し、髄核細胞に特有の分化マーカーが長期間維持され、大量の軟骨基質を分泌することを明らかにした (Takeoka et al., 2020, doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.119781)。さらに LASCo1 ゲルをラット尾椎の椎間板変性モデルに注入した結果、椎間板組織の変性進行が抑制され、損傷部位の軟骨基質が著しく増加することが示された。つまり、椎間板ヘルニア等の医療機器として LASCo1 が治療効果を示す可能性が示唆された。また研究期間内に、本課題のシーズである「LASCo1 を用いた変性椎間板の治療」の用途特許が国内（第 6984829 号）と中国（第 5190129 号）で成立した。現在、米国で継続して特許申請中である。

## 【研究開発体制】

近畿大学の分子機能再生工学研究室とバイオメカニクス研究室、神戸医療産業都市推進機構 医療イノベーション推進センターが LASCo1 ゲルの製造・品質試験評価（技術移管）と仕様開発、大阪公立大学獣医外科教室がウサギとイヌの椎間板変性モデルの作出と損傷部位への LASCo1 の注入と画像診断、神戸大学整形外科教室が LASCo1 注入椎間板の組織標本作製と臨床評価、神戸医療産業都市推進機構 医療イノベーション推進センターが薬事戦略を担当した。

## 【研究成果と今後の課題】

- 1) 製造と品質評価：これまでは研究用試薬グレードでの試作を重ねて LASCo1 の製造プロセスを確立させてきた。本課題では、医療用材料として LASCo1 を製造できること（GMP 遵守製造）を念頭にセットアップ企業と共同研究契約を締結し、製造プロセスを綿密に再検討してラボスケールでの試作を繰り返し、大きな目的である基本技術の移管を完了させた。さらに製造プロセスの一部を改良することにより、ヒト臨床治療に適する LASCo1 の高純度化に成功した。それと並行して、品質試験の基本項目をセットアップ企業と仮決定した。本格製造にはまだ課題が残っているが、解決可能な範囲内であり、研究期間終了後も製造開発を継続している。
- 2) 仕様開発：医療機器としてのハンドリングを重要視して、保管時にはゲル化せずゾル状態の物性を示す一方、変性椎間板に注入すると体温でゲル化する仕様を開発した。短期間での仕様開発は容易ではなかったが、LASCo1 を室温付近から体温まで温度上昇させることにより貯蔵弾性率は約 100 倍高くなる条件を見いだすことができた。また、LASCo1 ゲルの貯蔵弾性率の周波数依存を測定し、注入する LASCo1 濃度を決定した。次に品質試験項目の一つとして、LASCo1 の線維化速度を分光光度計にて定量化した。採択時の課題であった「2 足歩行動物」での LASCo1 ゲル注入時の有効性を数値シミュレーションで検証した。すなわち、画像処理ソフトウェアを用いて「4 足歩行動物」のウサギ変性椎間板をシミュレーションで構築し、LASCo1 ゲルの物性値を入力した条件での力学特性を示すことができた。さらに「2 足歩行動物（ヒト）」の椎間板変性モデルを作製し、LASCo1 ゲルを注入した変性椎間板の力学的安定性が著しく改善することをシミュレーションで明示した。
- 3) 動物実験：ウサギの椎間板を穿刺することで、穿刺 4 週後に椎間板高 (disc height index: DHI) が約 30% 程度減少するウサギモデルを確立し、椎間板変性部位に LASCo1 ゲルを注入する術式を開発した。注入後、経時的に椎間板高の低減率 (CT 検査)、水分含量変化 (MRI 検査)、組織の修復・破壊 (H-E・Safranin-

0 染色) を調べた結果、LASCo1 ゲル投与群で椎間板変性の抑止効果が示された。次にイヌの椎間板変性モデルを作出したが、ウサギと同等な変性進行モデルには至らなかった。しかし、LASCo1 ゲル注入群で椎間板髄核の変性に伴う間隙が減少し、再生組織が充実することを組織標本で確認した。

4) 薬事戦略：PMDA で「LASCo1 ゲルを成分とした変性椎間板治療用の医療機器開発 (仮)」に関する RS 総合相談、RS 事前面談、対面助言を実施した。「新医療機器 (クラス IV)」として LASCo1 ゲルを開発することが提言された。さらに PMDA の助言で、LASCo1 の物理的特性、安定性、生体吸収性に関するデータを収集して整理した。また、腰椎椎間板ヘルニア 診断・治療フローチャートを作成した。

今までにない組織変性抑止効果を有する第 3 世代の高純度コラーゲン (LASCo1) 材料をシーズとし、保管時はゾル状で体内に注入すると数分で高濃度ゲルになる画期的な仕様を開発し、ウサギ椎間板変性モデルで変性を抑止する有効性を示した。さらに AMED アクセラレーションに採択され、(株)日本総研が「LASCo1 を用いた椎間板ヘルニア治療」に対して 3 名の臨床医 (無記名) へのインタビューを実施した結果、再発を抑止する可能性に期待が集まった。有効性、安全性、さらにハンドリングの 3 項目を満たす LASCo1 ゲルの開発を継続する価値が益々高まった。今後も当初目標の臨床応用を目指し、LASCo1 のゲル強度を高めるなどの物性改良や椎間板の変性度が高いイヌモデルを作出して LASCo1 ゲルの有効性を示し、製造販売承認申請に発展させたい。

[Goal of Research and Development] The goal of this project is to research and develop an unconventional collagen gel (3rd generation collagen) as a medical device for tissue repair and degeneration inhibition of degenerated intervertebral discs, and to develop it into a clinical application. Therefore, the objective was to plan and execute manufacturing and quality evaluation, animal model generation and efficacy evaluation, and PMDA consultation to obtain results to proceed to the next stage of non-clinical POC.

[Material] We have shown that 3rd-generation collagen, a limited hydrolysis of porcine type I collagen with actinidain protease, differs from conventional 2nd-generation collagen (atelocollagen) in promoting cell spheroid formation. The 3rd-generation collagen was named Low Adhesive Scaffold Collagen (hereinafter referred to as LASCo1) because of its low adhesion to cells in vitro. Subsequently, in collaboration with Kobe University Orthopaedic Surgery, we showed that LASCo1 could be used as a medical device for herniated discs and other conditions in which LASCo1 is injected into degenerated discs.

[Research and Development Organization] Kindai University was in charge of manufacturing, quality test evaluation of LASCo1 (technology transfer), and material development, Department of Veterinary Surgery, Osaka Metropolitan University was in charge of creation of rabbit and canine intervertebral disc degeneration models and injection of LASCo1 into the injured area and image diagnosis, Kobe University Orthopaedic Surgery was in charge of clinical evaluation of LASCo1-injected discs, and Translational Research Center for Medical Innovation was in charge of pharmaceutical affairs.

[Results and future strategy]

- 1) Manufacturing and quality evaluation: In this project, a joint research agreement was signed with a Set-up company that intended to manufacture LASCo1 as a medical material. The manufacturing process was then considered in detail and prototypes were repeated to complete the transfer of basic technology. In addition, we succeeded in increasing the purity of LASCo1 by improving the manufacturing process. In parallel, we tentatively determined the basic quality test items with the Set-up company.
- (2) Specification development: With an emphasis on handling as a medical device, we were able to develop a specification in which the product does not gel during storage and exhibits physical properties of a sol

state, while it gels at body temperature when injected into a degenerated intervertebral disc. Next, using image processing software, a "biped (human)" degenerative intervertebral disc model was created, and it was shown that the mechanical stability was significantly increased in the simulation with LASCgel injected.

(3) Animal Experiments: We established a rabbit model in which disc height index (DHI) was reduced. In the LASCgel-treated group, the results of the reduction rate of disc height, water content change, and tissue repair and destruction showed that the gel had a deterrent effect on lumbar disc degeneration. A canine intervertebral disc degeneration model was created, but the degenerative model was not equivalent to the rabbit model. However, in the LASCgel-injected group, the gap associated with degeneration of the nucleus pulposus of the intervertebral disc was reduced and regenerated tissue was enhanced.

(4) Regulatory affairs: General RS consultation, preliminary RS interview, and face-to-face advice regarding "Development of a medical device for treatment of degenerative intervertebral discs with LASCgel" were conducted at the PMDA.

We developed in a short period of time an innovative LASCgel material that is a sol when stored, but becomes a highly concentrated gel in a few minutes when injected into the body. Aiming for clinical application, which was our goal, we will continue to improve the physical properties of LASCgel, such as increasing its gel strength, and create a canine model with highly degenerated intervertebral discs to demonstrate the efficacy of LASCgel, which will be developed into an application for manufacturing and marketing approval.

### III 事後評価総合所見

椎間板再生に特化した LASCgel の製造開発と性能評価、ゲルの物性の最適化、ウサギ椎間板変性モデルを用いた性能試験等、当初目標はほぼ達成している。期間中セットアップ企業の変更を行ったが、製造、品質面などにおいて貢献が認められる。

一方、二足歩行モデルは評価が難しいため四足歩行モデルで評価を行い、ウサギ椎間板変性モデルでは有効性を実証したが、イヌでは椎間板変性モデルの確立が不十分で有効性実証には至っていない。また、LASCgel の修復再生メカニズムが不明で、開発が進められている多様な療法に対する LASCgel の優位性が明確ではない。

更なる課題は多いが、椎間板ヘルニア・変性椎間板疾患の新たな治療法としての社会的な意義は大きく、生体への安全性と臨床的優位性の明確化を進め、産学連携により円滑な事業化の展開に期待する。