

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 基本スキーム (ACT-M)  
事後評価報告書

公開

## I 基本情報

研究開発課題名： (日本語) 半月板損傷根治を目指す革新的治療技術の創生研究  
(英語) Development of an innovative approach for total solution of meniscus injury

研究開発実施期間：令和2年9月2日～令和5年3月31日

研究開発代表者 氏名：(日本語) 安達 伸生  
(英語) Nobuo ADACHI

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：  
(日本語) 国立大学法人 広島大学大学院 医系科学研究科 整形外科学 教授  
(英語) Professor Department of Orthopedic Surgery, Graduate School of Biomedical and Health Sciences,  
Hiroshima University, Hiroshima

## II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

本研究開発の目的は、1) 半月板細切組織片とシルクエラスチンのハイブリッドコンポジットの移植による半月板欠損部の修復・再生を検証し、新たな半月板修復療法の可能性を示す。また、2) これまでの前臨床試験のデータを元に、医療機器としてシルクエラスチンの整形外科領域への実装を試みる。すなわち、半月板縫合の癒合率を高めるべく、医師主導治験にて半月板縫合部へのシルクエラスチン充填療法を行うための治験プロコル作成及びその実施を目指す、の2点である。

### 1) 半月板細切組織片とシルクエラスチンのハイブリッドコンポジットの移植

ACT-MSにて得た経験及び技術から、非臨床試験として、細切断半月板組織と新規基材であるシルクエラスチンを用いて家兎、ブタを用いた動物実験を行い、移植基材の至適化及び組織学的評価から半月板修復効果の証明及びその修復機序の解明を行った。

まず、家兎における細切半月板組織の調整とシルクエラスチンハイブリッドコンポジットの作製を行った。実際に臨床の現場で使用するシェーバーシステムを用いて細切半月板組織の調整が可能であり、アテロコラーゲンゲルおよびシルクエラスチンゲル包埋後に3次元培養を行った。その結果、興味深いことにシルクエラスチンで細胞遊走がゲル内で起こることが確認できた。このことから、臨床使用を考慮した際、

移植後に体内でシルクエラスチンがゲル化した場合でも、細胞遊走してきた細胞の足場としてゲルが機能することが考えられる。

一方、動物モデルでは、家兎パンチアウトモデルにおいてシルクエラスチンスポンジは1型コラーゲンスポンジに比較してより高い半月板修復能を有することが明らかとなった。欠損部にシルクエラスチンを縫合固定することを目指しているが、細切半月板組織の縫合を可能とする基材としての物理特性がシルクエラスチンスポンジでは十分に担保できないため、縫合可能なシルクエラスチンの単体としての探索を行った。そこで、競合製品の一つの吸収性素材ポリグリコール酸 (PGA) を包含材として選択し、PGA 包含シルクエラスチンスポンジを作製し、その有効性および優位性を検討した。結果として、PGA 包含シルクエラスチンは強度が担保され且つ組織修復能が PGA 単独よりも高いことを確認した。しかし、PGA の関節内投与は炎症反応が懸念されるため、より炎症反応が少なく、シルクエラスチン基材の力学的強度を高める素材として人工クモ糸素材に着目し、シルクエラスチンと配合した基材を作製し、その半月板修復・再生能力の検討を行った。結果としてシルクエラスチン単体と同様の半月板組織修復能を示すことが明らかとなった。

ブタモデルに関しては内側半月板縦断裂モデルを作製し、医師主導治験を見据えて、シルクエラスチンゲルの局所注入を行い、その組織修復・再生効果を検討した。肉眼的所見、組織学的評価および力学的評価からシルクエラスチンゲルの局所注入でも修復効果が期待できることを確認でき、臨床使用と同じ方法を採用してもシルクエラスチンの有効性は十分期待できることが分かった。また、医師主導治験では術後3ヶ月で関節鏡検査を行い、縫合部の癒合確認することとした。できるだけ低侵襲な検査となるように、細径関節鏡による縫合部の観察を行う予定であり、それらを想定して、ブタ内側半月板縫合モデルを作製し、術後4週における細径関節鏡による観察を行った。通常関節鏡との比較においても遜色なく、縫合部の状態が観察可能であることが明らかとなった。加えて、ブタ屍体膝の内側半月板縦断裂・縫合モデルを作製し、関節鏡視下シルクエラスチンゲル局所注入の手技の確認と共に、免疫染色から関節鏡下の投与でも損傷部に残存し、その治療効果が期待できることを確認できた。

作用機序の解明に関しては、家兎およびブタ半月板細胞、滑膜細胞を用いたシルクエラスチンの遊走能および増殖能への影響を検討した。結果としてシルクエラスチンは家兎滑膜細胞特異的に遊走能を有するが、増殖能へは影響がないことが示された。このことから半月板修復・再生の重要な細胞成分である滑膜にシルクエラスチンが作用していることが推測される。

以上の非臨床試験と並行して、医師主導治験に向けて、治験機器と治験機器概要書の準備を行った。

縫合術向けの材型設計について、これまで、臨床使用上での必要要件をハンドリング性も含めて考慮し材型を検討した結果、凍結乾燥品を術場で溶解液により無菌的に用事溶解させる形態とし、同様の形態の既存医療機器や医薬品等を参考にし、そのメーカーからの情報入手を行って詳細設計をさらに進めた。その結果、容器をゴム栓付きガラスバイアルに、包装形態をアルミ袋と滅菌袋に決定し、溶解液および使用時の詳細な使用方法を決定した。また、1製品あたりのシルクエラスチンの重量について、臨床で見られる（考えられ得る）、縫合術を行う断裂部の最大の大きさ(体積)を見積ることにより決定した。治験機器概要書の作成については、規格設定を行い、Lot 差がないことを確認し、治験機器概要書を発行した。また、安全性評価は、PMDA 対面助言にて、実施済の安全性試験とのギャップ分析から、計画していた追加の埋植試験（骨内）のみで問題ないことを確認した。その後骨内埋植試験を実施し、埋植部位に認められた炎症反応は陰性対照試料と同程度であることを確認し、陰性であることが判明した。

## 2) 医師主導治験の実施

これら非臨床 POC データを踏まえて医師主導治験を実施するべく、広島大学病院広島臨床研究開発支援センター、三洋化成工業株式会社と共に PMDA の全般相談を受け、開発前準備面談を行った。相談の結果、治験プロトコルの概要を作成した上で、22年1月21日に治験前相談（準備面談）、3月29日に対面助言を行

った。治験開始前の非臨床安全性評価の妥当性に関しては、計画した骨内埋植試験で特に問題ないとのコメントを得た。治験プロトコルの概要については「検証的治験に向けた有効性評価の見積りが困難とならないよう対象集団を限定することが望ましい」との助言を受け、対面助言後に対象集団を修正し、メールにてPMDA側の了承を得て、治験プロトコルの大枠を確定させた。また、有効性評価時期に関しては術後3ヶ月の関節鏡検査は受け入れ可能とのことであった。治験後の長期フォローアップを行い、その結果を踏まえて将来的な検証的治験を検討することを助言いただいた。その後2022年6月に治験届を提出し、2022年9月から医師主導治験を開始した。本品適応例として目標症例数8例のうち、2023年2月末時点で8例全ての手術を完了しており、うち4例で12週後の関節鏡検査において断裂部の状態を確認している。術後関節鏡検査を施行した4例では断裂部の癒合を2例に、部分癒合を2例に認めている。術後経過も問題なく、残り4例の関節鏡検査も23年5月中までに終了の予定である。

事業化構想については、本品の臨床的位置づけを整理し、海外については半月板再生に関する競合品情報を調査するとともに、特許網を構築すべくこれまで得てきた非臨床データを基に、特許出願の可能性を検討した。また、半月板再生用途での材型に合わせた製造体制を構築し、生産設備増強を実施した。

これまで得てきた非臨床データを基に、特許出願の可能性を検討している。具体的には①材型設計、②切除術向けに検討を行ってきた他材料（PGAや人工クモ糸）とシルクエラスチンの組み合わせ、より得られたデータから、機能を制御するパラメーターにて、特許出願出来ないか検討中である。特に、PGAシートとの組み合わせによる強度の向上は臨床応用する際の、手技向上における一つの選択肢となることが予想されるため、権利化出来る可能性が高いと考える。今後は上述の医師主導治験を完了させ、企業治験に向けた準備に着手すると共に、医師主導治験にて適応した患者のフォローアップを観察研究にて追っていく予定である。

本支援により、シルクエラスチンの探索的治験（医師主導治験）において、これまでにない治験プロトコルを組むことができたと考える。通常、新規マテリアルを組織埋植する治験を組む場合、安全性に主眼を置いた探索的治験を組むことが多いが、今回の治験は安全性を主目的にかつ、副次項目として有効性をしっかり組み込むことができた。また、術後3ヶ月における関節鏡検査を導入している点で新しい試みと考えている。本支援が医師主導治験後の開発を見据えた伴走をして頂いたことで、本治験でのシルクエラスチンのポテンシャル（有効性の幅）を押し量ることができる革新的な治験プロトコルを立案、実施できたものと考えている。

The purpose of this research and development is twofold: 1) to investigate the repair and regeneration of meniscal defects through transplantation of a hybrid composite of meniscal tissue and silk-elastin, demonstrating the potential of a new meniscal repair therapy, and 2) to attempt implementation of silk-elastin as a medical device in the orthopedic field based on data from previous preclinical trials. Specifically, this includes the development and implementation of a clinical trial protocol for physician-led treatment of meniscal suture sites using silk-elastin fillers to improve suture healing rates.

### **1) Transplantation of a hybrid composite of meniscal tissue and silk-elastin with minced meniscal tissue pieces.**

We conducted animal experiments using rabbits and pigs to demonstrate the effectiveness of meniscal repair and clarify the repair mechanism through optimization and histological evaluation of the transplantation materials consisting of minced meniscal tissue and a novel material, silk-elastin, in non-clinical trials. Firstly, we adjusted the minced meniscal tissue and created the silk-elastin hybrid composite using rabbits. We were able to adjust the minced meniscal tissue using a shaver system that is used in clinical settings and performed 3D culture after embedding in atelocollagen gel and silk-elastin gel. Interestingly, we confirmed that cell migration occurs only in the silk-elastin composite. Therefore, even if silk-elastin gels in the body after transplantation, it is expected that the gel will function

as a scaffold for the migrated cells.

On the other hand, in animal models, it has been shown that silk-elastin sponge has a higher meniscus repair ability compared to the type I collagen sponge in the rabbit medial meniscus punch-out model. Although the aim is to suture-fix silk-elastin to the defect site, the physical properties of silk-elastin sponge as a substrate that allows suturing of finely cut meniscus tissue cannot be fully guaranteed. Therefore, a search was conducted for a suture-compatible silk-elastin as a standalone material, selecting polyglycolic acid (PGA) as one of the competing absorbable materials for inclusion, and creating a PGA-containing silk-elastin sponge to investigate its effectiveness and superiority. As a result, it was confirmed that PGA-containing silk-elastin has both strength and tissue repair ability higher than PGA alone. Additionally, we focused on artificial spider silk material as a material that reduces inflammation and enhances the mechanical strength of silk-elastin substrate. A material was created by blending silk-elastin with artificial spider silk, and its meniscus repair and regeneration abilities were examined. As a result, it was revealed that it exhibits similar meniscus tissue repair ability to silk-elastin alone. Moreover, silk-elastin sponge combining spider silk demonstrated higher type I collagen formation at defect site compared to silk-elastin sponge.

Regarding the pig model, an medial meniscus longitudinal tear model was created, and local application of silk-elastin gel was performed in anticipation of physician-led clinical trials to evaluate its tissue repair and regeneration effects. Based on macroscopic, histological, and mechanical evaluations, it was confirmed that even with local injection of silk-elastin gel, a repair effect can be expected, and the effectiveness of silk-elastin can be fully expected even when adopting the same methods as clinical use. In investigator-initiated clinical trials, arthroscopic examination was performed three months after surgery to confirm healing at the suture site. In order to perform a minimally invasive examination, observation of the suture site was performed using a small-diameter arthroscope, and a pig medial meniscus suture model was created in anticipation of these procedures. Observation using the small-diameter arthroscope was comparable to that using a regular arthroscope, and it was confirmed that the suture site can be observed. Additionally, an medial meniscus longitudinal tear and suture model was created using pig cadaver knees, and with the confirmation of the technique for local injection of silk-elastin gel under arthroscopic guidance, it was confirmed that it remains in the sutured site even when administered under arthroscopic guidance, and that therapeutic effects can be expected. In parallel with the above non-clinical studies, we prepared the clinical trial equipment and clinical trial equipment brochure for the investigator-initiated clinical trial.

## **2) Implementation of investigator-initiated clinical trials**

Based on these non-clinical POC data, we created an outline of a investigator-initiated clinical trial protocol. We received advice that it is desirable to limit the study population so that estimation of effectiveness for a confirmatory trial does not become difficult. It was also acceptable to conduct an arthroscopic examination 3 months after surgery for assessing efficacy. We were advised to conduct long-term follow-up after the trial and consider future confirmatory trials based on the results. Subsequently, we started an investigator-initiated clinical trial in September 2022. Of the target 8 cases for this indication, surgeries have been completed for all 8 cases, and in 4 cases, the condition of the repaired site was evaluated by arthroscopy 12 weeks after surgery. So far, we performed 2<sup>nd</sup> look arthroscopy for 4 cases, it was confirmed that healing of the repaired site without critical complication.

Regarding the business plan, we organized the clinical positioning of this product and investigated competitive product information on meniscus regeneration overseas, as well as considered the possibility of patent applications based on non-clinical data obtained so far in order to construct a patent network. We also established a production system tailored to the material type for meniscus regeneration and carried out production facility reinforcement. In the future, we plan to complete the aforementioned physician-led clinical trial and start preparing for corporate trials,

as well as follow up with patients who were treated in the physician-led clinical trial through observational studies.

We believe that with this support, we were able to create an unprecedented clinical trial protocol in the exploratory trial of silk-elastin. By having this support accompany us in the development after the physician-led clinical trial, we were able to create and implement an innovative trial protocol that could estimate the therapeutic potential of silk-elastin in this trial.

### III 事後評価総合所見

シルクエラスチン素材を用いて半月板損傷を修復する治療技術研究が、ほぼ計画通り進行した。

特に、シルクエラスチン単独の開発で、臨床使用を見据えた関節鏡視下での投与方法確立や安全性試験の完了、疾患モデルで有効性を示す成果取得が達成され、PMDA 相談や治験プロトコル作成を経て医師主導治験実施に至ったことは高く評価できる。

また、患者さんや社会のニーズ及び医療上や経済上のニーズに応える可能性を示し、産学連携も緊密に実行されている。

今後、具体的事業化構想に基づく事業化の展開が期待されると共に、医療ニーズの観点から、縫合術治療に加え他材料との組合せによる切除術治療の検討継続も期待したい。