

平成 26 年 7 月 18 日

大阪市立大学大学院医学研究科から申請のあった
ヒト幹細胞臨床研究実施計画に係る意見について

ヒト幹細胞臨床研究に関する
審査委員会

委員長 永井良三

大阪市立大学大学院医学研究科から申請のあった下記のヒト幹細胞臨床研究
実施計画について、本審査委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりとり
まとめたので報告いたします。

記

1. 新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞療法
申請者：大阪市立大学大学院医学研究科
医学研究科長 荒川 哲男
申請日：平成 25 年 10 月 25 日

1. ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞療法
新規申請年月日	平成 25 年 10 月 25 日
実施施設及び 研究責任者	大阪市立大学 新宅 治夫
対象疾患	新生児低酸素性虚血性脳症
ヒト幹細胞の種類	ヒト臍帯血幹細胞
実施期間及び 対象症例数	厚生労働大臣意見発出日から 3年6ヵ月間 平成 年 月 日 まで 6 症例 (被験者群 症例 対照群 症例)
治療研究の概要	<p>有効な治療法の乏しい新生児低酸素性虚血性脳症に対し、幹細胞を多く含む自己臍帯血を生後1-3日後に静脈内投与することにより、脳性麻痺などの後遺症を減少・軽減させることを目的とし、安全性・実施可能性を検証する。</p> <p>対象症例は1施設では多くないため、淀川キリスト教病院、埼玉医科大学、名古屋大学、大阪市立総合医療センター、倉敷中央病院との多施設研究として実施する。</p>
その他 (外国での状況等)	<p>米国Duke大学における満期出生の低酸素性虚血性脳症の新生児に対し自己臍帯血を生後3日までに点滴静注するという第1相試験と、メキシコのホセ・ゴンザレス大学病院における低酸素性虚血性脳症の新生児に生後48時間以内に自己臍帯血CD34陽性細胞(造血幹細胞を多く含む細胞分画)を投与する第1相試験がある。なお、この米国Duke大学の試験は同大のCotten医師主導による試験であるが、同医師は申請者グループのアドバイザーである。</p>
新規性	新生児低酸素性虚血性脳症に対して自己臍帯血幹細胞療法を試みるところ。

2. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会における審議概要 (○) と主な変更内容 (●)

0) 審査回数

2回 (平成25年11月、平成26年5月)

1) 第1回審議

開催日：平成25年11月27日

第30回ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会

概要：

説明文書について

- 有効性よりも安全性の確認が主要な目的となるはずですが、安全性試験であることを明確にしてください。
- 安全性試験であることを強調した内容に変更された。

臍帯血から分離される細胞について

- 72時間保存した細胞の生細胞率やCD34陽性細胞数などは確認しているのでしょうか。72時間後ではどの程度の減少か確認されているのかお示してください。
- 実際の投与を想定した試験におけるデータが示された。

2) 第2回審議

開催日：平成26年5月29日

第33回ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会

概要：

搬送時の温度管理について

- 温度管理について作業手順書に詳細に記載してください。
- 作業手順書に追記がなされた。

上記の審議を行った結果、当該ヒト幹細胞臨床研究実施計画を了承した。

3. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会の検討結果

大阪市立大学大学院医学研究科からのヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：新生児低酸素性虚血性脳症）に関して、ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会は、主として倫理的および安全性等にかかる観点から以上の通り論点整理を進め、本実施計画の内容が倫理的・科学的に妥当であると判断した。

次回以降の科学技術部会に報告する。

新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞療法

低酸素性虚血性脳症とは；出生前後の問題により新生児が仮死状態となり、意識障害等の症状を呈する状態。半数の児は死亡か脳性麻痺等の重度神経後遺症を残す。

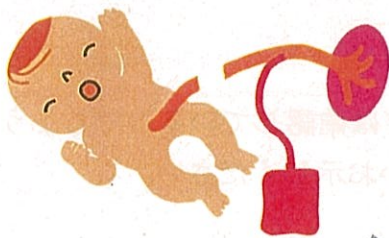
臨床試験の目的； 安全性と実施可能性の検証

症例数； 6例

適格基準； 新生児低酸素性虚血性脳症に対する低体温療法の導入基準（世界的に標準化されている）と同じ = 正期産で中等症から重症の低酸素性虚血性脳症児

重症仮死（低酸素性虚血性脳症）で出生したら、

(1) 出生後すぐに臍帯血を採取



臍帯血は造血幹細胞/血管内皮前駆細胞等の幹細胞を多く含む。血管再生、神経栄養因子分泌、抗炎症作用等の効果がある。



(2) 遠心分離



供血用遠心器
Sepax

(3) 臍帯血を3回に分けて24、48、72時間後に点滴



幹細胞調整方法； 臍帯血に赤血球沈降剤 HES を加え、供血用遠心器 Sepax で赤血球と血漿を除き、幹細胞を多く含む富白血球液を得る。冷蔵保存する。全て閉鎖回路内で行われ、培養などの操作は加えない。
→ 簡便で極めて危険性の少ない手法。

主要評価項目； 生後1ヶ月時点で下記3項目のいずれかを有する率をヒストリカルコントロールと比較。

- ① 生存か死亡か
- ② 呼吸状態（持続的呼吸管理の有無）
- ③ 循環状態（持続的昇圧剤使用の有無）

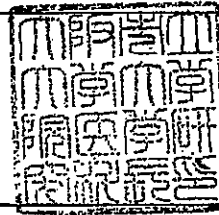
副次項目； 1歳6ヶ月まで追跡し、後遺症の率、頭部MRI、発達指数を調べる。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成 25 年 10 月 25 日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	〒545-8585 大阪市阿倍野区旭町 1-4-3
	名称	大阪市立大学大学院医学研究科
	研究機関の長 役職名・氏名	医学研究科長 荒川哲男



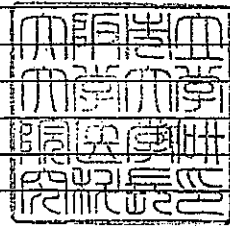
下記のヒト幹細胞臨床研究について、別添のとおり実施計画書に対する意見を求めます。

記

ヒト幹細胞臨床研究の課題名	研究責任者の所属・職・氏名
新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞療法	大阪市立大学発達小児科学 教授 新宅治夫

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称		新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞療法		
研究機関				
	名称	大阪市立大学大学院医学研究科		
	所在地	〒545-8585 大阪市阿倍野区旭町 1-4-3		
	電話番号	06-6645-3816		
	FAX 番号	06-6636-8737		
研究機関の長				
	役職	医学研究科長		
	氏名	荒川哲男		
研究責任者				
	所属	大阪市立大学発達小児科学		
	役職	教授		
	氏名	新宅治夫		
	連絡先	Tel/Fax	Tel : 06-6645-3816 / Fax : 06-6636-8737	
		E-mail	shintakuh@med.osaka-cu.ac.jp	
	最終学歴	大阪市立大学医学(系)研究科、大学院		
専攻科目	小児科学			
その他の研究者		別紙1参照		
共同研究機関 (該当する場合のみ記載してください)				
	名称	1) 淀川キリスト教病院グループ 2) 埼玉医科大学総合医療センター 3) 名古屋大学医学部附属病院 4) 大阪市立総合医療センター 5) 倉敷中央病院 6) 国立循環器病研究センター		
	所在地	1) 〒533-0024 大阪市東淀川区柴島 1-7-50 2) 〒350-0495 埼玉県川越市鴨田 1981 3) 〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町 65 4) 〒534-0021 大阪市都島区都島本通 2-13-22 5) 〒710-8602 岡山県倉敷市美和1-1-1 6) 〒565-8565 大阪府吹田市藤白台 5-7-1		
	電話番号	1) 06-6322-2250 2) 049-228-3400 3) 052-741-2111 4) 06-6929-1221 5) 086-422-0210 6) 06-6833-5012		
	FAX 番号	1) 06-6320-6308 2) 049-225-1677 3) 052-744-2785 4) 06-6929-1091 5) 086-421-3424		



		6) 06-6833-9865
共同研究機関の長（該当する場合のみ記載してください）		
	役職	1) 理事長代行 2) 病院長 3) 病院長 4) 病院長 5) 常務理事 病院長 6) 理事長
	氏名	1) 椋棒 正昌 2) 堤 晴彦 3) 石黒 直樹 4) 岸 廣成 5) 小笠原 敬三 6) 橋本 信夫
臨床研究の目的・意義		<p>[目的]</p> <p>有効な治療法の乏しい新生児低酸素性虚血性脳症に対し、幹細胞を多く含む自己臍帯血を生後1-3日後に静脈内投与することにより、脳性麻痺などの後遺症を減少・軽減させることを目的とした本療法に関して、重大な有害事象が起こらないことと実施可能性を検証する。</p> <p>[背景と意義]</p> <p>新生児期に意識障害、呼吸・哺乳障害、けいれん等の中枢神経症状を呈するものは「新生児脳症」と総称され、1000人出生に対し1-6人の頻度で発生する。その50-80%は低酸素性虚血性脳症、5-10%は脳梗塞が占める（Volpe, Ann Neurol 2012）。これらが医学的に重大な疾患である理由は；1) 突発的に発生し、その予見はほぼ不可能であること、2) 一旦発生すると生後6時間以内に開始する低体温療法（脳低温療法と呼ぶこともある）以外には有効な治療は皆無であること、3) 死亡や重度後遺症（脳性麻痺、精神遅滞、てんかん）をきたす可能性が高いこと、が挙げられる。（population-based studyにより、中等症低酸素性虚血性脳症の児（重症は除く）において、生存児の30%が脳性麻痺となり、81%が認知機能障害を呈するとされている（Lindstrom et al., Pediatr Neurol 2006））。</p> <p>さらに上記理由から新生児低酸素性虚血性脳症は、現在本邦における重大な医療・社会問題を引き起こしている。</p> <p>1) 突発的に発生し予見不可能ということは、産科医が1人しかいない産科クリニックにおいて、休日深夜に低酸素性虚血性脳症の児が発生するということである。</p> <p>2) 生後6時間以内に開始する低体温療法以外には有効な治療は皆無であるということは、迅速な新生児搬送がなされなければ、その児は有効な治療の機会を逸することを意味する。低体温療法は昨年本邦において治療ガイドラインが作成されたばかりであり、経験豊富な新生児専門医が多数常駐しているNICU（新生児集中治療室）でしか、安全かつ有効に治療が実施できないのが現状である。そのような施設は大多数の県において1施設か2施設しかない。</p> <p>3) 低体温療法を含めた適切な治療を行っても死亡や重度後遺症をきたす可能性が高いことは、訴訟となる可能性が高いことにつな</p>

がる。本邦は周産期死亡率、新生児死亡率がともに世界で最も低く、一般国民は「今どき赤ちゃんがお産のために死ぬことなんて無い」と考えている。妊娠満期まで問題なく成育した胎児が、予期せず突発的に（例えば臍帯巻絡・脱落により）重症仮死で出生し、低酸素性虚血性脳症を発症する。NICUでの集中治療により一命を取り留めるも、脳性麻痺と精神遅滞をきたし、歩くこともない。この様な状況で親は産科・新生児医療に疑念を持ち、訴訟が起きる。2009年に始まった産科医療保障制度は、分娩に関連して重度脳性麻痺となった場合に、児と家族の経済的負担を補償する、というもので、医療紛争の防止・早期解決をその目的としている（公益財団法人日本医療機能評価機構および厚生労働省産科医療保障制度に関するウェブサイト参照）。この補償制度ができたこと自体が、分娩による医療紛争の重大さを物語っている。

以上の1)から3)のことは産科医・小児科医、特に地方において1人（ないし2-3人）で献身的に奮闘している医師に多大な身体的・精神的負担を強いることになっている。「産科医療崩壊」「お産難民」と言われる状況を引き起こした最大の要因は、低酸素性虚血性脳症に対して、開始が遅れても有効な治療が存在しないこと、と言っても過言ではない。

低体温療法が見出されたことは、新生児医療とその基になった基礎研究の大きな成果ではあるが、上記のように医療現場に厳しい時間的制約を課してしまっている。効果そのものも、複数の大規模二重盲検試験で有効性が証明されたものの、限定的である。2006年のLancet (Gluckman et al.) に発表された大規模二重盲検試験結果では、主要評価項目 (primary outcome) である「死亡ないし重度後遺症の率」は対照群と低体温療法群の間に統計学的有意差は無く、サブグループ解析でようやく低体温療法の有効性が示された。同年に別な研究グループがNew England Journal of Medicine (Shankaran et al.) に発表した臨床試験結果では、死亡ないし重度後遺症の率が対照群62%に対して低体温療法群は44%と、統計学的有意差が示された。しかしこの結果は、低体温療法を行ってもほぼ半数の児は死亡か重度後遺症を免れないことを意味している。（注釈：LancetとNew England Journal of Medicineは医学界で最も権威ある学術誌の双壁）

脳虚血（脳梗塞など）の治療を目指した基礎研究に多くの人的・経済的資源が費やされ、現在までに1000以上もの治療法（その殆どは薬剤）が動物実験において有効性を示したものの、臨床試験において有効性を証明できた治療法は、成人脳梗塞に対して発症4.5時間以内に投与する組織プラスミノゲン活性化因子 (t-PAとも呼ばれる血栓溶解剤) と、新生児低酸素性虚血性脳症に対して出生6時間以内に開始する低体温療法の2つのみである (O'Collins et al., Ann Neurol 2006)。臨床応用への最大の障壁は治療可能期間 (therapeutic time window) の短さである。大多数の治療法は、動物実験において脳傷害発生前投与でしかその有効性が示されていない。一部の治療法は傷害発生後の投与でも有効性を示したが、傷害発生後2-3時間を超えて有効性を証明できたものは数える程しかない。整えられた条件下で脳傷害発生時期が明確な動物実験においてさえ、その様に治療可能期間が短いのであれば、臨床応用は不可能である。それは新生児低酸素性虚血性脳症や新生児脳梗塞がしばしば胎内で引き起こされるからである。以上から傷害発生から遅れて開始しても有効な治療法が切望されている。

このような状況から、傷害発生からかなり時間が経過した時点で

も有効な治療法として、幹細胞を用いた再生医療に期待が集まるようになったのは当然とも言える。特に一旦傷害された神経細胞（死滅したニューロン）は再生しないと考えられてきたため、中枢神経疾患に対しては再生医療の期待は一段と高いものがある。

1981年のマウスES細胞（胚性幹細胞）の樹立を経て、1998年にヒトES細胞が樹立された。2000年前後から成人脳梗塞モデル動物に対してES細胞から分化誘導された神経幹細胞や胎児脳から得られた神経幹細胞の脳内移植実験結果が報告されるようになった。実験室レベルでは、すべての組織に変化しうるES細胞、及び人工多能性幹細胞（iPS細胞）が現在最も注目されているが、安全性について未知数であり実際の臨床応用への課題は多い。ES細胞やiPS細胞、神経幹細胞が分化・増殖し、失われた神経細胞を再生し、神経機能を回復させる、という仮説は魅力的であるが、研究結果が蓄積されるに従って、必要とする性質を持った神経細胞への分化や、細胞の長期生着は、期待された程ではないことが明らかとなってきた。また、臨床試験も成功していない。神経細胞への分化・再生に基づく治療を実現するには、今後この分野での複数の革新的な進歩が必要である（総説参照；辻ら、日本老年医学会雑誌 2012）。その後、臨床応用への障壁の少ない細胞として、各種幹細胞を多く含む骨髄単核球、骨髄や脂肪組織から培養して得られる間葉系幹細胞が注目されるようになった。また、投与経路に関しては、臨床応用への障壁の少ない静脈内投与が検討され始めた。

骨髄中には造血幹細胞、間葉系幹細胞などの幹細胞が豊富に存在しており、骨髄由来細胞は、組織幹細胞ソース中、動物実験及び臨床試験におそらく最も多く使用されている。臍帯血中には骨髄と同様に造血幹細胞、間葉系幹細胞などの幹細胞が豊富に存在している（Nakahata and Ogawa, J Clin Invest 1982）。成人末梢血中にCD34陽性細胞（造血幹細胞）は0.01%以下しか含まれていないが、臍帯血中には0.3-2%も含まれている（Sun et al., Transfusion 2010; Michejda, Fetal Diagn Ther 2004）。臍帯血幹細胞の有用性は、本邦において臍帯血造血幹細胞移植が年間1000人以上に行われて、多くの患者の命を救っている事実から明らかである。

我々の研究グループの田口らは2004年の時点で既に、臍帯血中に多く含まれる造血幹細胞・血管内皮前駆細胞の静脈内投与により、成人脳梗塞モデルマウスでの傷害が軽減されることを報告している（J Clin Invest）。その機序は梗塞周囲血管の保護・再生であることを見出した。脳傷害発生48時間後の細胞投与でも有効であり臨床応用が期待されたが、対象が成人であることから自己臍帯血の利用は不可能であり、自己骨髄単核球を利用することになった。マウスとカニクイザルでの前臨床試験を経て（Nakano-Doi et al., Stem Cells 2010, Uemura et al., Curr Vasc Pharmacol 2012）、田口らは「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に従い、成人脳梗塞患者に対して臨床試験（ClinicalTrial.gov Identifier: NCT01028794）を行っている。最近第1相試験の12名の治療が終了し、問題となる有害事象の発生は無く、神経機能はヒストリカルコントロールと比較し有意な改善を認めている。

周産期・新生児脳障害領域で幹細胞投与の効果を検討した前臨床試験結果は2005年頃から報告されるようになった。臍帯血に関しては、2006年に新生児低酸素性虚血性脳障害モデルラットにおいて、ヒト臍帯血単核球細胞の腹腔内投与が有効であると報告されたのが最初の報告である（Meier et al., Pediatr Res）。以後現在までに計

16編の論文報告がなされている (de Paula et al., *Pediatr Res* 2009, Yasuhara et al., *J Cell Mol Med* 2010, Xia et al., *J Perinat Med* 2010, Rosenkranz et al., *J Neurosci Res* 2010, Pimentel-Coelho et al., *Stem Cells Dev* 2010, Geissler et al., *PLoS One* 2011, de Paula et al., *Neuroscience* 2012, Wasielewski et al., *Brain Res* 2012, Dalous et al., *Pediatr Res* 2012, Rosenkranz et al., *Cell Tissue Res* 2012, Bae et al., *Cell transplant* 2012, Kim et al., *Pediatr Res* 2012, Rosenkranz et al., *Ann Anat* 2013, Wang et al., *Brain Res* 2013, Tsuji et al., *Neuroscience* 2014)。全てヒト臍帯血をげっ歯類へ投与した研究であり、同種 (例えばラット臍帯血をラットに投与する) 移植の研究は見当たらない。使用した細胞は臍帯血単核球分画が13報、間葉系幹細胞が2報 (Xia et al., 2010, Kim et al., 2012)、CD34陽性細胞が1報 (Tsuji et al., 2014)。投与経路は静脈内投与が5報 (Yasuhara et al., 2010, de Paula et al., 2009, 2012, Bae et al., 2012, Tsuji et al., 2014) 髄腔内投与が1報 (Wasielewski et al., 2012) と脳実質内投与が3報 (Xia et al., 2010, Kim et al., 2012, Wang et al., 2013)、他は腹腔内投与である。有効性を認めたものが12報、認めなかったものが2報 (de Paula et al., 2009, Dalous et al., 2012)、なお、無効との報告の内1報は同一著者が後に条件検討を行い、臍帯血投与の有効性を報告している (de Paula et al., 2012)。残り2報は有効性の検討を行っていない (Rosenkranz et al., 2010, 2012, 細胞生着などの検討を行った研究のため)。

臍帯血幹細胞による脳傷害軽減・改善効果の機序としては、脳血流改善や、血管の保護・新生 (Rosenkranz et al., 2012, Tsuji et al., 2014)、各種成長因子 (脳由来神経栄養因子 (BDNF)、グリア細胞株由来神経栄養因子 (GDNF)、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF)) の分泌 (Yasuhara et al., 2010, Rosenkranz et al., 2012)、免疫調整および抗炎症作用、具体的には、活性化マイクログリアおよびアストロサイトの減少 (Pimentel-Coelho et al., 2010, Wasielewski et al., 2012, Rosenkranz et al., 2013, Hattori et al., under review)、血清中炎症性サイトカインの減少 (Rosenkranz et al., 2013)、さらに、大脳皮質一次感覚野での神経プロセッシングの改善 (Geissler et al., 2011) やアポトーシスによる細胞死の減少 (Pimentel-Coelho et al., 2010, Rosenkranz et al., 2012)、などが最近の新生児脳傷害モデル動物での研究から示されている。つまり臍帯血は脳神経障害に対して、内因性の複数の機序により修復効果を示しうる。

アメリカ国立衛生研究所 (NIH) の公式ウェブサイト <http://clinicaltrials.gov/> を利用して、臍帯血を用いた臨床試験を検索すると、新生児低酸素性虚血性脳症に対する試験は2件登録されている。1件は我々研究グループのアドバイザーである米国Duke大学のCotten医師主導による試験で、満期出生の低酸素性虚血性脳症の新生児に対し自己臍帯血を生後3日までに点滴静注するという第1相試験である (ClinicalTrial.gov Identifier: NCT00593242)。我々の臨床試験プロトコールはDuke大学のプロトコールに準じている。もう1件はメキシコのホセ・ゴンザレス大学病院における試験で、生後48時間以内に自己臍帯血CD34陽性細胞 (造血幹細胞を多く含む細胞分画) を投与する第1相試験である (NCT01506258)。

以上は脳障害の比較的急性期における治療であるが、障害が固定し脳性麻痺となった児に対する治療は少なくとも4件登録されている。韓国Sung Kwang医学財団による試験は、免疫抑制剤を使用しながら他家臍帯血 (他人の臍帯血) を投与するプロトコールである (NCT01193660)。2013年3月に、新生児脳傷害に対する臍帯血投

与の臨床試験としては世界で初めて結果が論文として公表された (Min et al., Stem Cells)。無作為割り付けによる3群 (各群31-33例) 比較において臍帯血治療は有害事象を増加させることなく、神経機能を改善させた。韓国においては他家臍帯血を用いた第2相試験がさらに1件進行中である (NCT01528436)。米国Duke大学においてKurtzberg医師主導による、自己臍帯血を用いた第2相試験が行われている (NCT01147653)。米国ジョージア医科大学においても自己臍帯血を用いた第1/2相試験が行われている (NCT01072370)。対象疾患と細胞種は異なるが、米国テキサス大学ヒューストン校とMDアンダーソンがんセンターから、小児頭部外傷患者に対して自己骨髄単核球を受傷48時間後に静脈内投与した臨床試験結果が公表されている (Cox et al., Neurosurgery 2011)。対象10例において詳細な検討がなされ、安全性・実施可能性が示された。インドでは外傷後両麻痺・四肢麻痺を中心とした180例が幹細胞により治療され、32%に効果が認められ、短期的・長期的な副作用は認めなかった (Mehta et al., Transplant Proc 2008)。上述のように、新生児低酸素性虚血性脳症児に対する自己臍帯血治療の安全性・実施可能性・有効性検証の試みは着実に進んでいる。

懸念されるのは、臍帯血幹細胞治療により顕著に機能回復した症例が米国マスメディアで大きく報道され、それを知った本邦の患児とその家族が米国や中国へ渡って治療を受けたり、家族が強く要望したため同治療を行った国内の医療機関があることである。自己臍帯血幹細胞治療は比較的簡便な手法であるため、安全性と有効性が証明されれば、国内の多くの施設で実施可能な標準治療と成りうる大きな可能性を持っているが、裏を返せば、特別な技術や設備を持たない施設においても直ぐに実施できてしまうという危険な面を有している (我々申請者も、患児の家族から「同療法を私たちの子に受けさせたい」と要望された経験を有している)。

これらのことから我が国においても臍帯血幹細胞治療の可能性について検証し、体制構築することが急務である。すなわち本研究の目的・意義は、本治療法の実施可能性と大きな有害事象を起こさないことを検証すると共に、その治療システムの構築における問題点についても解明することである。さらに本研究の特色は、有効な治療法が今まで見いだせなかった脳性麻痺に対する予防法・治療法を開発することであり、副作用を起こす可能性が極めて少ない自己臍帯血の利用に注目したことである。将来的には今まで治療法がなかった他の中枢神経疾患、脊髄損傷、神経変性疾患などへの応用も期待される研究と考えられる。

臨床研究の対象疾患		
	名称	新生児低酸素性虚血性脳症
	選定理由	周産期の低酸素性虚血性脳症による脳性麻痺は病状が何十年と長期にわたることから、患者本人だけでなくそれを支える家族、さらに経済的支援や施設の充実など社会的な負担も極めて大きいのが現状である (例えば、脳性麻痺の児の多くは特別支援学校へ通うが、同学校における児童1人当たりの費用は年間約9,000,000円に昇る)。今回の研究で脳性麻痺に対する予防法・治療法が確立されれば、患者の生活面への長期にわたる支障が飛躍的に改善されるのみならず、患者及び患者家族の苦痛や負担が大きく軽減される可能性がある。またこれまで効果的な治療は不可能と考えられていた疾患

	<p>に対し、今回のような自己の幹細胞を利用した安全でかつ効果的な治療法が開発されれば、他の治療不能と考えられた疾患に対しても同様な治療法が開発される契機となり、社会全体にとっても大きな効果が得られることが予測される。</p> <p>このようにこれまで根本的な治療があきらめられていた難治疾患に対して、本研究による新たな治療法の開発研究は、患者やその家族、それらを取りまく地域社会の負担や不安を解消し希望をあたえる。国民の健康・福祉の向上につながるだけでなく、医療に対する信頼が増し、行政および社会への貢献は計り知れないものがあると考えられる。</p>
被験者等の選定基準	<p>[新生児低酸素性虚血性脳症の定義]</p> <p>同症は名前が示すとおり、血液中の酸素不足（低酸素）ないし脳血流の低下（虚血）により引き起こされる脳症（脳傷害）である。低酸素と虚血は、単独で起こることも合わさって起こることもある。通常、分娩の開始から生後1週間までに起こるものを指すが、これより広くとる場合もある。周産期・新生児仮死に引き続く脳症と一般に理解されているが、「新生児仮死」も「新生児低酸素性虚血性脳症」も世界的に統一された診断基準は存在しない（Neonatal encephalopathy and cerebral palsy, The American College of Obstetricians and Gynecologists -Task Force on Neonatal Encephalopathy and Cerebral Palsy, American Academy of Pediatrics 2003）。典型的な経過は、分娩時の臍帯圧迫、胎盤早期剥離などが原因となり、胎児脳が低酸素性虚血性傷害を受け、脳症が引き起こされる。脳症は、意識障害、呼吸・哺乳障害、けいれん、筋緊張低下を呈するものを指す。最近では、新生児期にこのような脳症を呈するものを「新生児脳症」と総称する傾向があるが、その理由としては、周産期・新生児期に起こる脳梗塞なども同様の症状を呈し、臨床上区別が困難なこと、さらには新生児低酸素性虚血性脳症と新生児脳梗塞の病態が類似しているため必ずしも区別を必要としないことが挙げられる。</p> <p>本研究では「中等症以上の新生児低酸素性虚血性脳症」を選定基準の一つとしているが、「中等症以上」の定義は世界的に統一されている。Sarnatらが1976年に提唱した分類（Arch Neurol）（添付書類参照）が世界的に受け入れられ確立した分類法となっている。10以上の評価項目により判定するが、要点を記すと、中等症とは；意識は傾眠か鈍麻：筋緊張は軽度低下：姿勢は高度屈曲位：腱反射は亢進：ミオクローヌスがあり：Moro反射は減弱か不完全：人形の目反射は亢進：緊張性頸反射は高度：けいれんを認める、などである。</p> <p>[本研究の被験者選定基準の明確さ]</p> <p>以上の様に診断基準に曖昧さはあるが、本研究の被験者選定基準は明確である。それは「満期出生の中等症以上の新生児低酸素性虚血性脳症児」に対して低体温療法を勧めるガイドラインが2012年に本邦で作成され、その中で低体温療法の適応基準（治療対象となる児の選定基準）が明確に規定され、本臨床試験の被験者選定基準もその基準と一致させているからである。国際蘇生法連絡委員会（The International Liaison Committee on Resuscitation: ILCOR）が科学的根拠に基づいた治療法の推奨を2010年に公表したのが2010 Consensus on Science with Treatment Recommendations (2010 CoSTR)であり、これに基づいて我が国の厚生労働省科学研究成育疾患克服</p>

等次世代育成基盤研究事業「Consensus 2010に基づく新しい日本版新生児蘇生法ガイドラインの確立・普及とその効果に関する研究班（分担研究者 田村正徳（本研究グループ員）」により低体温療法の適応基準が明示された（Therapeutic hypothermia for neonatal encephalopathy: JSPNM & MHLW Japan Working Group Practice Guidelines Consensus Statement. Brain Dev 2012. CONSENSUS 2010に基づく新生児低体温療法 実践マニュアル 東京医学社 2012）。

<適応基準>

登録時において、以下の④以外の選択規準を全て満たし、かつ除外規準のいずれにも該当しない被験者を適格とする。

- ①在胎 36 週以上で出生している。
- ②次のうちいずれかに合致する。
 - 1) 生後 10 分のアプガースコアが 5 以下。
 - 2) 10 分以上の持続的な新生児蘇生が必要。
 - 3) 出生時（生後 1 時間以内）に重度のアシドーシス（血液ガスで pH < 7.0, または base deficit ≥ 16 mmol/L）がある。
- ③中等症以上の脳症（Sarnat 分類 II ないし III 度）を認める。
- ④可能であれば脳波モニタリング amplitude-integrated EEG (aEEG) で、基礎律動の中等度以上の異常、もしくはけいれんを認める。
- ⑤日齢 0 ないし 1（出生後 24 時間以内）である。
- ⑥自己臍帯血を採取、保存してあり、生後 3 日以内に臍帯血投与が可能である。
- ⑦患児の親権者から文書による同意が得られている。

<除外規準>

- ①先天異常を有している（染色体異常や先天性心疾患、先天奇形症候群など）。
- ②頭部エコーないし CT にて重度の頭蓋内出血が認められる。
- ③子宮内発育遅延を認める（出生体重 < 1800g）。
- ④重症感染症（敗血症など）を併発している。
- ⑤高カリウム血症がある。
- ⑥本研究施設以外で出生した後に、本研究施設へ救急搬送されている。
- ⑦臍帯血採取量が 40ml 未満である。
- ⑧瀕死の状態にあり、低体温療法を含めた集中治療によっても児の利益が見込めない。または、担当医師の判断により、当試験への参加が不適切と考えられる。

なお、本臨床試験は低体温療法を原則として併用する。

臨床研究に用いるヒト幹細胞

種類	ヒト臍帯血幹細胞
由来	自己 生体由来
採取、調製、移植又は投与の方法	<p>詳細は別紙 標準作業手順書 (SOP) を参照。本臨床試験のアドバイザーである米国 Duke 大学 Cotten 医師主導の臨床試験の手順に準じている。</p> <p>1) 臍帯血の採取・搬送方法</p> <p>出生児が娩出されたら、臍帯をクランプ切断後、胎盤寄りの臍帯静脈を確認し、臍帯の表面を 75%エタノール綿で清拭し、ポピドンヨード液をつけた消毒綿で穿刺する箇所を消毒する。臍帯血バッグ（抗凝固液として CPDA (citrate-phosphate-dextrose-adenine) 添加）を穿刺部位よりも低くした状態で採血針を臍帯静脈に穿刺して、血液をバッグの中に流下させる。血液が流れなくなるまで採取</p>

する（臍帯血採取量は 40-150ml）。血液が停止した後、血液バッグのチューブを結ぶ。なお、以上は胎盤のみに対して行われる操作であり、母体にも児にも無痛・無侵襲である。臍帯血・胎盤は通常、医療廃棄物として廃棄されている。

本研究施設のうち大阪地区の施設は、採取した臍帯血を大阪市立大学へ搬送し、そこで供血用遠心機 Sepax (スイス Biosafe 社) を用いて臍帯血幹細胞の濃縮を行う（後述）。名古屋大学、埼玉医科大学総合医療センター、倉敷中央病院は、各施設内に設置された供血用遠心機 Sepax を用いて大阪市立大学と同様な手順で臍帯血幹細胞の濃縮を行う。

搬送の際は、採取バッグを二重のビニール袋に入れ、内部が 4-10℃ に保たれた容器に入れる。夜間であれば朝まで 4-10℃ の冷蔵庫で保管してから搬送する。

2) 臍帯血幹細胞の濃縮

- ① Pre サンプルの分取； 臍帯血の一部 (1ml) を細胞数や細胞分画の測定のために専用チューブ 2 本に取り分ける。
- ② 供血用遠心機 Sepax の専用回路に臍帯血バッグを接続する。
- ③ Sepax を操作し、最終容量を設定することにより、自動的に閉鎖回路内で薬剤等を加えることなく、血漿成分と赤血球分画の大部分を除く。赤血球沈降剤 HES (hydroxyethyl starch) 注入量を(臍帯血+CPDA)量の 20% に設定する。細胞液量と細胞数（有核細胞数）は臍帯血採取時の状況により、つまり、症例によりある程度の多少があるが、最終容量は 20ml とする。この操作による総有核細胞回収率は $89 \pm 4\%$ 、CD34 陽性細胞（造血幹細胞を多く含む細胞分画）の回収率は $94 \pm 4\%$ である (Biosafe 社資料、なお、我々のコールドランにおいても同様な回収率であることを確認した)。全ての処理工程に要する時間は約 1 時間。
- ④ 遠心後、自動的に造血幹細胞を含む富白血球画分を、分離バッグ (ニプロ社) に回収する。除かれた血漿成分と赤血球分画のうち 10ml を無菌操作の確認のために取り分け、5ml ずつ好気性と嫌気性無菌試験用培養ボトルへ入れ、検査を行う。
- ⑤ Post サンプルの分取； 調整後の臍帯血細胞液の一部 (1.5ml) を後の検査用に専用チューブに取り分ける。0.5ml ずつ細胞数検査サンプルとして分取し、0.5ml を無菌検査用培養ボトル (好気性・嫌気性兼用) に入れ、検査を行う。

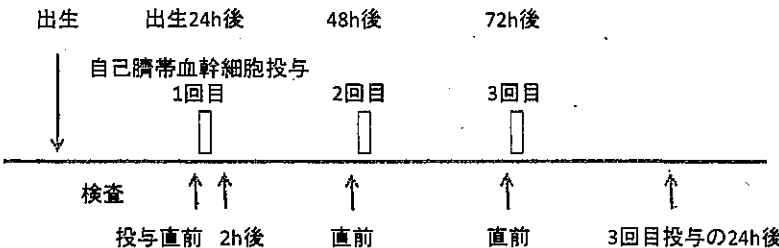
以上は、血液内科において自己末梢血幹細胞移植等の際に汎用されている手法であり、セルプロセッシングセンター (CPC) は必要としない。細菌検査は、本邦の多くの公的臍帯血バンクで実施されている手法に準じている。

3) 臍帯血幹細胞の冷蔵保存

温度管理の可能な冷蔵庫にて 4-10℃ にて保存する。

4) 臍帯血幹細胞の移植前検査

- ① 臍帯血細胞が無菌であることを確認する。（投与直前の段階での培養ボトルの無菌を確認する）
- ② 感染症試験 (HBs 抗原, HCV, HIV, 梅毒) を行い、陰性であることを確認する。
- ③ 調整した臍帯血細胞液（検査用に専用チューブに取り分けていたもの）の細胞数、生細胞率を測定する。さらに以下の細胞分画を測定する（これは後の解析用であるため、投与後に検査する場合もあり得る。）；リンパ球、単球、顆粒球（好中球）、

		<p>CD34 陽性細胞数</p> <p>5) 臍帯血投与前処置と前検査 ステロイド剤 (hydrocortisone 1mg/kg) の投与を行う。 臍帯血投与前の1時間以内に以下の検査を行う； 血液検査 (血液学的一般検査 (血算; CBC)、血清生化学一般検査 (血糖値、肝機能、腎臓機能など)、電解質、ガス分析)：胸部 X 線検査：心臓超音波検査：頭部超音波検査。同時期に患者の診察を行い、脳症の Sarnat 分類を再評価する。</p> <p>6) 臍帯血幹細胞液の輸血 調製した細胞液を生後 12-24 時間、36-48 時間、60-72 時間の 3 回に分けて点滴静注する。細胞液の入ったバッグから 1 回あたり保存量の 1/3 の 6ml を採取し、1 時間かけて点滴静注する。有核細胞数は概ね 1 回あたり $5-20 \times 10^7$ 個と考えている (本研究グループアドバイザーである Duke 大学 Cotten 医師の臨床試験データ、および我々のコールドランのデータから)。なお、症例により実際の細胞液量や細胞数がこの範囲から外れていても本臍帯血治療は継続する (本臨床試験の除外基準により、臍帯血採取量が 40ml 未満の症例は除外されている。)</p> <p>臍帯血の点滴静注時は以下をモニタリングする； 心拍数、心電図、血圧、経皮モニターによる酸素分圧 (SpO₂)。臍帯血投与 2 時間後に、上記投与前と同様な検査と診察を行う。1 回目投与の約 24 時間後に同様の検査と診察を行う。これは 2 回目投与前検査を兼ねることになる。同様に 3 回目投与前検査とその 24 時間後検査を行う。検査スケジュールは下記の概略図参照。</p>  <pre> graph TD Birth[出生] --> Admin1[自己臍帯血幹細胞投与 1回目] Admin1 --> Admin2[自己臍帯血幹細胞投与 2回目] Admin2 --> Admin3[自己臍帯血幹細胞投与 3回目] Birth --> Check1[検査] Admin1 --> Check2[検査 投与直前 2h後] Admin2 --> Check3[検査 直前] Admin3 --> Check4[検査 直前] Admin3 --> Check5[検査 3回目投与の24h後] </pre>
調製 (加工) 工程		有
非自己由来材料使用		無
複数機関での実施		有
他の医療機関への授与・販売		無
安全性についての評価		<p>現在、本邦において中等症以上の低酸素性虚血性脳症児は低体温療法を行う際には全例、新生児集中治療室 (NICU) において気管内挿管下に人工呼吸管理され、動脈ラインからの持続血圧モニターがなされている。従って本臨床試験を行うにあたり、安全性評価のために追加される検査は殆どなく、必要な診療の一環として詳細なモニターが既に実施されている。</p> <p>担当医師は①臍帯血の点滴静注時は心拍数、心電図、血圧をモニタリングする。投与後に患者の血算・血清生化学検査及び診察を行う。②細胞投与2時間後、24時間後、7日後、30日後に有害事象に関する全般的な評価 (症例報告書参照) を行う。③細胞投与24時間後、7日後、30日後における神経症状の悪化に関する評価を行う。④細胞投与7-10日後 (日齢10-13) における脳出血等に関する評価 (頭部 MRI)、を行い症例報告書に記載する。</p>

具体的な評価項目は、低体温療法の大規模臨床試験 (Gluckman et al., Lancet 2005, Shankaran et al., N Engl J Med 2005) に準じ、以下のことを調べる；人工呼吸管理日数；自律哺乳確立日齢；けいれんの有無と抗けいれん剤の使用；amplitude-integrated EEGの変化；体温変動；血圧変動と昇圧剤の使用およびその量；不整脈；代謝性アシドーシス；出血（頭蓋内、消化管、気道）；多血症・貧血；皮膚の変化；肺高血圧；腎機能障害；乏尿・無尿；肝機能障害；菌血症；感染症；血小板減少症；凝固能異常；DIC（播種性血管内凝固症候群）；静脈血栓症；低血糖；低ナトリウム血症；低カリウム血症；低カルシウム血症；等。

有害事象が発生した時は、担当医師は直ちに臨床研究機関の研究責任者およびその機関の長へ報告すると共に、他研究機関の研究責任者へ報告する。また、速やかに独立症例検討委員会（構成委員は別紙参照）へも報告する。有害事象名、細胞投与日、発現日、処置、記載時の転記等に関して報告する。研究責任者は臍帯血投与との因果関係に関して調査し、可能な限り回復まで追跡調査を行う。なお、低酸素性虚血性脳症325例を対象とした低体温療法の二重盲検試験 (Azzopardi et al., N Engl J Med 2009) において高頻度に認められた有害事象は、低血圧・血小板減少症・凝固時間の延長・頭蓋内出血であり、低体温療法群と通常集中治療群とも同様な頻度であった。

有効性と安全性に関して1例ごとに実施症例の報告を行うとともに、最初の2症例においては、臍帯血投与30日後の評価が終了してから次の症例のエントリを開始する。3例の「症例報告書（投与7日後）」が回収された時点で中間解析を独立症例検討委員会において実施する。この時の中間解析では、臍帯血投与が主な原因であると判断された循環動態・神経症状の悪化症例（投与前と比較して投与1, 3, 7日目の循環器系薬剤（昇圧剤、血管拡張剤など）の使用量の増加・Sarnat分類の悪化）に関する検討を行い、次の3例の治療継続の可否を決定する。なお、上記検査は実施途中において本臨床試験参加症例の安全性確保と本試験継続可否を決定する目的で行われる。

本臨床試験の主要評価項目は生後1ヵ月時点で評価する以下の3項目である；①死亡、②呼吸状態（持続的呼吸管理（酸素投与のみも含める）の有無）、③循環状態（持続的昇圧剤使用の有無）。これら3項目を合わせた発生率を、ヒストリカルコントロールにおける発生率と比較する。ヒストリカルコントロールは本研究グループでの最新の治療実績を使用する。各施設において本試験の導入基準を満たすが、十分な臍帯血が得られなかったり本試験参加への同意が得られなかった児を対照症例とする (Gunn et al., Pediatrics 1998での対照群数に準じて10例を予定。なお、対照とする症例は、通常の診療を行い、本試験のコントロールとするための検査等は行わない。)。統計解析はFisherの直接確立法を用いる。有害事象（主要評価項目3つ）の発生率がヒストリカルコントロールに比して有意な上昇 (p value < 0.05) を認めた場合は、安全性を確認できなかったと判断する。死亡に関しては2例発生した時点で本試験を中止する。低体温療法を受けた対象疾患児の急性期死亡率は7-26%

(Hayakawa et al., *Pediatr Int in press*, Shankaran et al., N Engl J Med 2005, Azzopardi et al., N Engl J Med 2009) であり、6例中2例の死亡例が発生することは統計学上有意ではないが、より安全を期するために、このような厳しい判断基準を設定する。

臍帯血採取・分離の各操作段階において、安全性検査を実施する。

	<p>採取に用いる容器・その他の機材は全て滅菌されたものを使用し、無菌操作を心がける。</p> <p>特に臍帯は滅菌処理が出来ないため、取り扱いに注意する。移植後に有害事象の発生が生じた時のために、臍帯血から分離した血球・血漿の細菌検査を行う。非自己由来成分を含有する試薬、CPDA、HES、および生理食塩水は日本薬局方ものを採用し安全性を確保する。使用する患者の親権者には起こりうる有害事象等の適切な説明を行い、同意を得る。使用記録は少なくとも10年間保存する。</p> <p>国立循環器病センターと産業技術総合研究所において、現在までに心不全患者に対して細胞培養技術を用いた自己骨髄由来間葉系細胞移植、さらに脳梗塞患者に対して自己骨髄単核球移植が行われており、すべての症例で細菌検査は陰性であり、術後感染症等の問題は発生していない。本研究では細菌検査の結果を待たず、臍帯血を赤血球・血漿分離後速やかに点滴静注するが、全工程を閉鎖的に行う本研究でのプロトコールでは、細菌の増殖のリスクは非常に低いと考えている。また、陽性症例が検出された場合は、独立症例検討委員会に報告し、追跡調査を行う。</p>
<p>臨床研究の実施が可能であると判断した理由</p>	<p>本臨床試験の実施が可能であると判断した理由は、主に以下の3項目である。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 臍帯血幹細胞療法の有効性が、前臨床試験（動物実験）により確認されている。 2. 大きな有害事象が起こらないことと実施可能性が、本臨床試験と類似の臨床試験において確認されている。 3. 安全性と実施可能性は、本治療法と類似の治療法が既に一般臨床の場において長年実施されていることから、実証済みとも考えられる。 <p>以上の詳細を以下順に述べる。</p> <p>さらにその後、</p> <p>A) 本臨床試験を多施設共同で実施する必要性 B) 多施設共同実施する上での安全性が高いことを説明する。</p> <p><1. 有効性に関して（前臨床試験）></p> <p>前臨床試験として我々は、新生児脳症モデルだけでも3種のモデル動物（新生児脳梗塞マウス、低酸素性虚血性脳症ラット、およびマウスモデル）を用いて、臍帯血投与が脳傷害を軽減すること、および有害事象を認めないことを確認している。結果は学術集会で既に公表しており、論文1編は最近公表され、他1編は現在査読に合わせて修正中である（添付資料参照）。これらのモデル動物を用いて、種々の異なる条件での検討を行った。つまり、動物種は2種（マウスとラット）、疾患モデルは2種（低酸素性虚血性脳症と脳梗塞）、臍帯血細胞の分画は2種（単核球とCD34陽性細胞）、投与時期は2時点（受傷8時間後と48時間後）、治療効果は多数のパラメーター（大脳半球体積、activated Caspase 3陽性細胞数、脳血流、ロタロッド試験、オープンフィールド試験、シャトルアポイダンス試験、次世代歩行解析など）により検討を行った。なお、この研究に先立ち、脳傷害の再現性の高い新規脳梗塞モデル（中大脳動脈永久閉塞モデル）の作製を行った（Tsuji et al., Exp Neurol, 2013）。新生児低酸素性虚血性脳症の既存モデルは、確立されたモデルではあるものの、脳障害の動物個体差が大きく、前臨床試験として最適なプロトコール</p>

ルの条件設定、効果機序探索のための詳細な検討に困難を伴う。そのため、脳障害の個体差の少ないモデル動物での検討も不可欠と考えたからである。最近では新生児脳梗塞と新生児低酸素性虚血性脳症を「新生児脳症」と一括して扱う傾向にある (Shankaran et al., N Engl J Med 2012)。これは二者の症状が類似しており臨床的に区別困難なことが主な理由であり、また同時にこれまでの動物実験があまりに低酸素性虚血性脳症モデルに偏っていたことへの反省も指摘されている (Dammann et al., Pediatr Res 2011)。以上のことから我々は、新生児脳梗塞モデルマウスおよび新生児低酸素性虚血性脳症モデルマウス (国立循環器病研究センター)、新生児低酸素性虚血性脳症モデルラット (名古屋大学) の2種類の脳傷害モデル、2種のげっ歯類を用いて、前臨床試験として信頼性の高いデータを得ることに尽力している。この領域での細胞投与実験は、新生仔としてはかなり大きなサイズのラットを用いた実験でのみ静脈内投与がされているが (Yasuhara et al., 2010, de Paula et al., 2009, 2012)、他は技術的困難さから臨床試験で行われる静脈内投与ではなく腹腔内投与での検討である。我々はこの点を克服するために、体重5gの新生仔マウスにおいても確実に静脈内投与可能な手法を見出し (Ohshima et al., 論文投稿中)、今回の前臨床試験に利用している。

本研究グループの国立循環器病研究センターのチームは、新生児脳梗塞マウスモデルにおいて、動脈閉塞48時間後にヒト臍帯血CD34陽性細胞 (造血幹細胞/血管内皮前駆細胞を多く含む細胞分画) 1×10^5 個を静脈内投与し、その効果を検討した。異種間移植であるため、免疫不全マウス (SCIDマウス; 機能的Tリンパ球とBリンパ球を欠くマウス) を使用した。臍帯血細胞投与により、脳梗塞中心部の血流改善は認めなかったが、Penumbraと呼ばれる梗塞の周辺部では血流改善を認めた。投与前、投与24時間後、1週後、7週後に血流測定を行い、24時間後が対照群 (PBS; リン酸緩衝液投与群) に比して細胞治療群の血流改善が顕著であった (血流が保たれている部分の割合は、PBS群 $43.0 \pm 8.5\%$ に対して細胞治療群 $49.8 \pm 7.3\%$, $p < 0.05$)。7週後の血流測定後に還流固定を行い、脳組織の免疫染色を行ったところ、梗塞の境界部のみに血管径の拡大を認めた (PBS群 $7.5 \pm 0.9 \mu\text{m}$ に対して細胞治療群 $23 \pm 6 \mu\text{m}$, $p < 0.001$)。血管数や総血管長に関しては細胞治療による変化はなかった。大脳半球体積の減少率は、細胞治療により有意に軽減していた (PBS群 $25.6 \pm 5.1\%$ に対して細胞治療群 $21.5 \pm 1.9\%$, $p < 0.05$)。行動評価を行い、ロタロッド試験において、脳梗塞+PBS投与群は偽手術群に比して有意な機能障害を呈したが (偽手術群 $238 \pm 46 \text{sec}$ に対して脳梗塞+PBS投与群 $175 \pm 49 \text{sec}$, $p < 0.05$)、脳梗塞+臍帯血細胞投与群では機能障害は軽く ($203 \pm 54 \text{sec}$)、偽手術群との有意な差は認めなかった。オープンフィールド試験において脳梗塞モデルマウスは偽手術マウスに比して、水平方向の移動運動が全体的に減少し、明環境から暗環境への変化時に通常認める活動量増加が減少していた。PBS投与群と臍帯血細胞投与群での有意差は認めなかった。2群間で死亡率、体重増加の差は認めなかった (第12回日本再生医療学会総会 2013年3月 において発表。Tsuji et al., Neuroscience 2014)。

次に、脳傷害の程度の個体差が大きいものの、世界中で汎用され確立したモデルである新生児低酸素性虚血性脳症マウスモデルを用いて、同様なプロトコールでヒト臍帯血CD34陽性細胞静脈内投与の検討を行った。新生児脳梗塞マウスモデルと同様な傾向を認めているが、個体差が大きいため統計的有意差を認める程ではなく、

さらなる実験を継続中である。

本研究グループの名古屋大学のチームは、新生児低酸素性虚血性脳症ラットモデルを用いて、低酸素性虚血負荷8時間後にヒト臍帯血単核球 1×10^7 個を腹腔内投与し、その効果を検討した。本臨床試験計画では臍帯血投与は生後12-24、36-48、60-72時間の3回に分けて行う。新生仔期ラット/マウスの1日は新生児期ヒトの1ヵ月に相当するとも言われ、単純に臨床計画の時間帯をげっ歯類での前臨床試験に当てはめることには注意が必要である。従って、細胞投与時期は脳傷害受傷後48時間のみならず8時間後にも設定し検討を行った。酸化ストレスの指標である4-hydroxy-2-nonenal (4HNE)、Nitrotyrosine陽性細胞数の有意な減少(それぞれ36%、42%減少)、アポトーシスによる細胞死の指標であるactivated Caspase 3陽性細胞数の減少(53%減少)を認めた。Phospho-Histone H3陽性細胞数には差を認めず、細胞新生には影響しないと考えられた。行動評価では歩行解析により患側麻痺の軽減(患側前足の接地圧減少の軽減、 $p=0.05$)を、シャトルアポイダンス試験では学習能力の改善(能動回避学習において、コントロールより有意に高い回避率)を認めた(第57回日本未熟児新生児学会学術集会 2012年11月にて発表、Hattori et al., *Dev Neurosci*, *under revision*)。

我々は臍帯血治療のみならず、周産期・新生児期脳傷害に関して以前から、動物実験および臨床研究を精力的に行っており

(Nabetani et al., *Int J Dev Neurosci* 1995, Nabetani et al., *Brain Res* 1997, Takata et al., *Neurosci Lett* 1997, Nanba et al., *Pediatrics* 2007, Sato et al., *J Neurochem* 2008, Sato et al., *Reprod Sci* 2008, Sato and Oohira, *Curr Stem Cell Res Ther* 2009, Hayakawa et al., *Pediatr Res* 2011, Tsuji et al., *Exp Neurol* 2012, 他論文多数)、本臨床試験の遂行は可能と自負している。

<2. 安全性と実施可能性に関して(臨床試験を中心に)>

本研究のアドバイザーである米国Duke大学のCotten医師らは、我々が計画している治療と同様な治療(新生児脳症に対する自己臍帯血投与)の、安全性および実施可能性評価のための第1相試験を実施中である(ClinicalTrial.gov Identifier: NCT00593242)。15名が終了した時点での途中経過を学術集会で公表しているが、有害事象の発生は認めていない。予定23名の細胞投与が終了し、有害事象の発生は無いとの報告を受けている。現在(2014年2月の時点で)同臨床試験の論文は出版準備中(Cotten et al, *J Pediatr in press*)との報告を受けている。

Duke大学のKurtzberg医師らは同大学のCotten医師らが対象とする新生児ではなく、脳性麻痺と診断された乳幼児を対象にしているが、治療法としては同じ自己臍帯血静脈内投与の第2相試験を行っている。臍帯血の品質に関する論文(Sun et al., *Transfusion*)以外には、結果は未だ公表されていないが、その論文が発表された2010年時点で既に184人に対して治療が行われている。

米国小児神経学会と米国神経内科学会の合同機関誌であり、この領域で最も権威のある専門誌Annals of Neurologyの総説において、「幹細胞治療の臨床研究を実施するには、げっ歯類以外にもさらに2種以上の高等動物モデルでの有効性証明が強く望まれる」と、厳格な前臨床試験を求めているのに対し、同総説は「自己臍帯血治療は、早期の臨床試験実施を正当化できる程、危険性は十分に低い」と明言している(Bennet et al, 2012)。

本臨床試験より遥かに危険性が高いと考えられる臨床試験が韓国において実施され、論文が2013年3月に発表された。脳性麻痺患者に対し、免疫抑制剤を使用しながら、臍帯血の他家（他人の臍帯血を利用する）移植を行う（31症例）という、二重盲検比較対照試験であった。対照群と比較して有害事象の発生は同等であり、神経機能は有意に良好であった（Min et al., Stem Cells）。

対象患者と投与細胞は異なるが、我々は既に「急性期心原生脳塞栓症患者に対する自己骨髄単核球静脈内投与に関する臨床研究」を「ヒト幹細胞指針」に従って国立循環器病センターにて実施済みである。最近、安全性評価のために予定した12名の治療実施が完了したが、有害事象の発生は認めていない。12名の治療後の神経機能は、同等な脳塞栓症患者のヒストリカルコントロールと比して有意な改善を示している。

この臨床試験に先立ち、我々は前臨床研究の段階でヒト病態に近い自己血栓によるカニクイザル塞栓モデルを開発し、脳梗塞後の骨髄採取およびその静脈内投与に関する検討を行った（合計5匹）。FDG-PETを用いた細胞の追跡では投与骨髄単核球細胞は肺にはほとんど集積しておらず、主に脾臓にその集積が観察されたが、投与後1時間の時点においても末梢血中のCD34陽性細胞（血管血球系幹細胞分画）は約2.5倍の増加が観察された。骨髄単核球細胞投与後においても神経症状の順調な回復が観察されると共に、血液学的検査や血液生化学検査においても異常所見を認めなかった。長期（最長20カ月）にわたる追跡においても脳出血、脳梗塞再発など、細胞投与に伴う副作用は観察されていない。

静脈内投与を行う際、投与された細胞が肺塞栓を起こす危険がある。このため我々はカニクイザルより体格の小さい新生仔マウス（体重約6g）を用いて、投与された細胞の体内分布を検討した。細胞サイズの大きな間葉系幹細胞（直径約30 μ m）を投与した場合、投与2時間、24時間後に投与細胞は、脳、肝臓、脾臓に比して肺に有意に多く認められた。また、一部のマウスは軽度の呼吸不全と考えられる症状を呈した。一方、細胞サイズの小さな単核球細胞（直径約10 μ m）を投与した場合、投与細胞数は各臓器間で有意差を認めなかった。また、呼吸不全と考えられる症状を呈したマウスは皆無であった。（第49回日本周産期・新生児医学会総会 2013年7月において発表、Ohshima et al., 論文投稿中）

<3. 安全性と実施可能性に関して（一般臨床の場合において）>

臍帯血の採取・搬送は、日常診療において公的臍帯血バンクへの提供、あるいは民間バンクでの保存のために、一般市中病院産科や個人開業の産科クリニックでも頻繁に行われている手技であり、実施は容易である。臍帯血の分離・精製は、上記の骨髄単核球の精製に比べ、格段に容易で安全である。供血用遠心器 Sepax（スイス Biosafe社）を使用し、閉鎖回路で赤血球と血漿を除くだけであり、抗凝固液 CPDAと血球沈降剤 HESを加えるものの、保存液は使用せず培養操作も行わない。本研究グループの長村登紀子（東大医科研輸血部、日本さい帯血バンクネットワーク委員）らは臍帯血の扱いに習熟している。本研究グループの新宅、濱崎らにより Sepax を用いてコールドランを行い、臍帯血分離法の実施可能性は確認済みである。

血液疾患患者に対しての他家臍帯血幹細胞移植は本邦で年間1000を超す症例に実施されており、既に一般化した治療法であり、

多くの患者の命を救ってきた。よって、臍帯血細胞の品質に関しても、臍帯血輸血の手法に関しても臨床の場で検証済みである。

また、血液を採取・保存後しばらくしてから（数日から数週後）採血した本人に点滴静注で戻すという手法は、自己血輸血として広く行われている治療である。手術時の出血が循環血液量の20%（体重60kgの人であれば約840ml）を越す可能性がある場合、通常、貯血式自己血輸血が行われる。手術に先立ち、1週間間隔で1回に400mlの自己血を採取・保存する。貯血式自己血輸血の中で最も簡便で一般的な方法は、採血した全血をそのまま4-6°Cで保存する方法であり、通常2-3週間、最長35日間保存可能とされている。従って、本研究における自己血液（臍帯血）を採取・冷蔵し72時間以内に体内に戻すという手法の安全性は既に検証済みであるとも考えられる。本研究グループの新宅、濱崎らにより臍帯血を分離後72時間冷蔵保存するコールドランを行い、品質が保たれていることを確認している。

新生児集中治療室（NICU）において輸血は頻繁に行われ、その手法は確立しており、輸血による循環動態への影響を初めとする有害事象の発生率は低い。出生時の失血によるショック時には10-20ml/kgを10-15分で輸血し、慢性貧血時には15-20ml/kgを2-4時間で輸血する（Nelson Textbook of Pediatrics 17th Ed. Saunders 2004, 新生児診療マニュアル第5版 東京医学社 2010）。従って本研究での、1回あたり臍帯血細胞調整液6ml（約2ml/kg）を1時間かけて点滴静注するというプロトコールでは、循環動態に与える影響を最小限に抑えられる。1日輸液量（水分摂取量）に関しては、低酸素性虚血性脳症児は通常の新生児より少なめの量 40-60ml/kg/dayで管理するが、本プロトコールの約2ml/kgを24時間毎に3回というのは、水分過多に傾かせることがない輸液量である。NICUでは重症黄疸などに対して交換輸血が標準的に行われている。交換輸血の方が当然、通常輸血より循環動態を大きく変動させるが、重大な有害事象の発生は稀である。

臍帯血静脈内投与、自己血輸血、および通常輸血（同種血輸血）の安全性が、血液・悪性腫瘍疾患を持つ小児、手術を受ける小児、および他疾患（超低出生体重児など）のためにNICUで管理されている新生児において検証済みとしても、新生児低酸素性虚血性脳症児において安全かどうかという問題がある。新生児低酸素性虚血性脳症児においても輸血はしばしば行われる。例えば、胎盤早期剥離が原因で同症を来した児は貧血状態にあり、輸血を必要とすることが多い。輸血自体による循環動態の変動のみならず、この場合当然、他人の血液を輸血することになるため（同種血輸血）、以下に挙げる同種輸血の種々の問題が生じ得る；輸血感作によって産生された各種蛋白質に対する抗体によって生じる発熱・蕁麻疹、輸血後移植片対宿主病（GVHD）、肝炎・AIDSなどの輸血感染症、血液型不適合輸血、遅発性溶血性副作用。そのような多くの問題があるにも関わらず、同種血輸血は新生児低酸素性虚血性脳症児においても一般に行われている治療法である。本研究の自己臍帯血療法は、上記同種血輸血の問題がないため、対象となる新生児低酸素性虚血性脳症児において、危険性は非常に低いと考えられる。さらに、低酸素性虚血性脳症児に対する低体温療法を、体外循環による血液冷却法を用いて行っているNICUもある（新生児・小児のための脳低温療法-日本脳低温療法学会公認テキスト メディカ出版 2011）。これは内頸静脈に挿入したカテーテルから脱血し、血液を冷却後に、右

心房へ挿入したカテーテルから体内へ戻すというものである。

本治療法の安全性確認のため、対象児が10歳になるまでの長期間追跡する計画である。どの施設（NICU）も数名の新生児専門医が診療にあたっており、各施設の研究責任者が異動しても、他の複数の新生児専門医が引き継いで診療を行うことができる。NICUは24時間/365日の集中治療を可能にするために、他の多くの診療科と異なり、主治医制ではなくチーム診療制をとっている。また、発達の長期フォローは、小児神経専門医の協力も得て行うため、1人の新生児専門医への依存度は高くない。以上のことから、長期フォローの実施は十分担保される。

以上のことより、本臨床研究は有効な治療法がなくかつ重篤な予後が予想される重症新生児低酸素性虚血性脳症児に対する治療効果が期待できるとともに、大きな有害事象を起こすことなく施行可能であると考えている。と同時に我々は、1) 自己臍帯血を採取・精製後に点滴静注により新生児に戻すという手技は、一般臨床の場合においては行われていない手技であること、2) 新生児低酸素性虚血性脳症をきたすような重症仮死出生の緊迫した状況下で臍帯血採取し、時間的制約のある中で臍帯血の精製・検査を実施すること、3) より危険性の少ない健常新生児ボランティアでの安全性確認を経ずに、低酸素虚血性脳症児に実施すること、の重大さも充分理解している。

<A> 本臨床研究を多施設共同で実施することの必要性>

新生児低酸素性虚血性脳症は一施設での症例数は多くないため、遅滞なく本治療法を検証するには多施設での共同実施が必要である。本研究グループの早川らによる全国調査から我が国における在胎34週以降の中等度から重度の低酸素性虚血性脳症児は、出生1000に対して0.37例の発症と推計された（早川, 日本産科・新生児医学会雑誌 2012, Hayakawa et al., *Pediatr Int, in press*）。本邦第3位の人口を抱える大阪府においても年間出生数は75,000（平成23年大阪府統計年鑑）であり、年間26例の発生と推計される。さらに本臨床試験の適応基準と除外基準（在胎36週以降の満期出生で、中等症以上、院内出生のみ、自己臍帯血が確保できている、等）に合致する症例はその1/2~1/4と推測される。大阪府内で最も多く低酸素性虚血性脳症児の治療にあっている淀川キリスト教病院においても本試験の基準に合致する症例は年間2-3例である。その内、児の親権者から同意が得られる症例は1-2例、あるいは0例かもしれない。従って、多施設での共同研究が不可欠である。我々は大規模比較対照試験（新薬での第3相試験に相当）を見据え、全国多数の拠点病院・大学による研究グループを既に構築している。

 本臨床研究を多施設共同で実施する上での安全性>

1. 臍帯の採取は既に一般産科医院においても日常的に行われている手技である。さらに本臨床試験では周産期医療においては最もハイレベルの技能を持つ各研究施設内での出生のみを対象としており、採取に関して多施設で行うことによる安全性低下の懸念は無い。

2. 臍帯血の調整は、供血用遠心機Sepax（米国FDAの認可済み）を用いて閉鎖回路内で赤血球と血漿を除く処理（所用時間は1時間以内）が自動的に行われるため、特別な技術は要しない。誰が行っても同様な品質の臍帯血調整液が得られ、施設間のバラツキは発生

	<p>しない。各共同研究施設内にSepaxを設置して調整を行うため、臍帯血の搬送は不要である。なお、大阪府内の共同研究施設のみは大阪市立大学へ臍帯血を搬送して調整を行うが、大阪府は本邦において最も古くから新生児診療相互援助システムを介して新生児搬送体制を整備しており、多施設共同で府内全域の新生児医療を担っている。新生児の施設間搬送が円滑に行われている実績があり、臍帯血の搬送も円滑に行われると考えている。なお、最も大阪市立大学から離れている淀川キリスト教病院でも9kmの距離であり30分以内での搬送が可能である。</p> <p>3. 症例選定に関して多施設で実施する際に偏りが生じる危険も本臨床試験では無い。2012年に新生児低酸素性虚血性脳症に対する低体温療法のガイドラインが本邦で作成され、同治療法の導入基準・除外基準が明記された。これは欧米での基準に準拠している。ガイドライン公表から1年が経過しており、本研究参加機関の医師は同基準の判断に習熟している。本臨床試験での臍帯血治療の導入・除外基準もこれに準ずるため、研究参加機関の医師が判断に迷うことは無い。</p> <p>4. 症例の症状評価に関しても施設間で偏りが生じる可能性は低い。本邦での低体温療法のガイドラインの制定と共に「低体温療法レジストリー」制度が実施されており、児の症状経過を報告用紙に詳細に記載し、全国集計がなされている。従って、低酸素性脳症児の症状評価は標準化されていると言える。本臨床試験の症例報告書は、上記レジストリー制度の報告書の様式を多く取り入れており、施設間での児の評価の偏りは最小限に留められるように考慮されている。</p>
臨床研究の実施計画	<p>a) 研究期間； 承認日から3年6ヵ月 登録期間 2年間 経過観察期間 1年6ヵ月</p> <p>b) 対象； 中等症以上の低酸素性虚血性脳症</p> <p>c) 目標症例数； 6例 目標症例数設定根拠； 同様な第1相臨床試験で設定された症例数に準じた。</p> <p>1. 同じ疾患 [新生児低酸素性虚血性脳症] に関して： 同症における臨床試験としては低体温療法のものが最も代表的かつ最新の例であり、同領域の臨床試験の手本となっている。実施可能性の検証のための最初の臨床試験において治療群症例数は6名に設定されていた (Gunn et al., Pediatrics 1998)。</p> <p>2. 同じ治療 [静脈内投与する細胞治療] に関して： 静脈内投与による細胞治療の代表例として成人脳梗塞に対する自己間葉系幹細胞静脈内投与の試験が挙げられ、症例数は5名に設定されていた (Bang et al., Ann Neurol 2005)。</p> <p>なお、第1相試験において、大きな有害事象がおこらないことの検証のために必要な症例数を統計学的根拠をもって設定することは、一般的に困難とされているが、本試験の場合は適切なヒストリカルコントロールが存在しないことから特に困難である。その理由は、1) 新生児医療においては本邦と欧米での医療水準の乖離が大きく (同様な重症度での死亡率が欧米は日本の数倍もある)、論文データをコントロールとすることが不適切であること、2) 本試験は低体温療法との併用療法であるが、本邦では2012年に低体温療法のガイドラインが作成されたばかりであり、これまでの成績をヒストリカルコントロールとすることが不適切であること、である。</p>

今回のサンプルサイズの算定に関しては、臨床研究中核病院である国立成育医療研究センターの社会・臨床研究センターの組織的支援および生物統計家の支援を受けている。

d) 方法；（詳細は添付の標準作業手順書（SOP）を参照）

1) 中等症以上の低酸素性虚血性脳症児が出生した場合、臍帯を十分消毒しCPDA添加のバッグにて臍帯血を採取する。分離剤を添加し、遠心分離により幹細胞の含まれる白血球成分の分離を行う。その後冷蔵保存を行う（各施設NICUにある薬剤/輸血用血液保存用冷蔵庫を利用し、4-10℃の温度管理下に保存する。）。

2) 米国臨床試験プロトコールに準拠し生後72時間以内に3回に分けて輸注を実施する。調製した細胞液を生後12-24時間、36-48時間、60-72時間の3回に分けて点滴静注する。臍帯血採取量が、除外基準の40mlよりは多いものの、3回に分注するには適さない程に少ない場合、総量を2回に分けて投与することもあり得る（生後12-24時間と36-48時間投与の2回）。

3) 自己臍帯血治療中、入院中、及び退院時の情報を収集する。臍帯血投与時間、投与量、投与細胞数、その他治療中の有害事象など。

臍帯血投与中は、呼吸循環動態を持続モニターする。動脈ラインからの持続脈拍・血圧・酸素分圧（SpO₂）、心電図の測定を行い記録する。

入院中は以下の情報を収集し記録する。鎮静薬：併用脳保護療法の有無：人工呼吸管理日数：自律哺乳確立日齢：けいれんの有無と抗けいれん剤の使用：a EEGの変化：体温変動：血圧変動と昇圧剤の使用およびその量：不整脈：代謝性アシドーシス：出血（頭蓋内、消化管、気道）：多血症・貧血：皮膚の変化：肺高血圧：腎機能障害：乏尿・無尿：肝機能障害：菌血症：感染症：血小板減少症：凝固能異常：DIC：静脈血栓症：低血糖：低ナトリウム血症：低カリウム血症：低カルシウム血症：等。（低体温療法の大規模臨床試験の評価項目に準じた（Gluckman et al., Lancet 2005, Shankaran et al., N Engl J Med 2005）

退院時には以下の情報を収集・記録する。退院日齢、自律哺乳：気管切開：投与薬剤：頭部MRI 検査日齢、所見：ABR：死亡退院の場合は死亡日齢と病理解剖が実施できた際は其所見。

本研究は自己臍帯血細胞投与により大きな有害事象が起きないことと実施可能性の評価を目的としており、主要評価項目は生後1ヵ月時点で評価することとする。単一項目のみの評価は真に本治療法の安全性評価として最適ではないため、以下の3項目とする；①死亡、②呼吸状態（持続的呼吸管理（酸素投与のみも含める）の有無）、③循環状態（持続的昇圧剤の使用の有無）。副次項目は上記に挙げた評価項目全てを含めた有害事象発生率増加の有無である。

4) さらに、本治療の有効性および安全性評価のために、生後6ヵ月、12ヵ月、1歳6ヵ月時の情報を収集する。

転帰：運動機能の評価（痙性の有無、定頭の有無、寝返り、はいはい、座位、独歩の有無、等）

(リハビリや継続治療の必要性の有無)

(12ヵ月時頭部MRI 検査月齢、所見)

(1歳6ヵ月時対面式乳児発達検査（Bayley Scales of Infant and Toddler Development, Third edition が推奨される）の結果;)

5) 補足評価として、より長期的な安全性評価のために、被験者が10歳になるまで追跡する。3歳、6歳、10歳時の情報を収集す

	<p>る。小児神経専門医の診察を基本とするが、受診が困難な場合は電話ないし郵送による問診を行う。</p> <p>6) その他、本試験の全体的な評価方法： 本臨床試験は大きな有害事象が起きないことと実施可能性の評価が主目的であるが、本試験後に引き続き実施予定である有効性評価のための第2相試験に向けて、上記情報も収集する。なお、上記項目は、低体温療法を受けた児であれば、通常受けている評価である。</p> <p>本臨床試験の導入基準を満たす中等症～重症低酸素性虚血性脳症症例は一施設では多くないため、多施設研究として実施する。研究機関（自己臍帯血幹細胞療法実施施設）および責任者は以下のとおりである。</p> <p>大阪市立大学病院小児科、新宅治夫 淀川キリスト教病院グループ小児科、鍋谷まこと 埼玉医科大学総合医療センター、田村正徳 名古屋大学医学部総合周産期母子医療センター、早川昌弘 大阪市立総合医療センター新生児科、市場博幸 倉敷中央病院総合周産期母子医療センター、渡部晋一</p> <p>得られた情報は症例報告書の書式に従って記載される。個人の特定につながる情報は症例報告書に記載されず、患者個人情報を切り離した臨床データのみが、参加施設から大阪市立大学小児科教授室へ郵送される。そこでデータを本研究専用のコンピュータに入力する。郵送された症例報告用紙とコンピュータは教授室の施錠された保管庫に保管される。コンピュータの立ち上げにはパスワードを必要とし、さらに情報ファイルを開くために別なパスワードを必要とするよう設定する。</p> <p>本研究は対照群を設定しない研究デザインとなっているが、ヒストリカルコントロールを用いてデータ解析を行う。ヒストリカルコントロールの一つは、本研究グループの早川らが現在行っている日本周産期・新生児医学会周産期シンポジウム運営委員としての全国調査結果を用いる。本研究はガイドラインに則った低体温療法も併用して行うことを前提としている。低体温療法ガイドラインは、本邦においては2012年に制定されたばかりである。このため、別なヒストリカルコントロールとして、本研究参加施設において低体温療法を施行された症例を用いる。</p> <p>統計解析に関しては、死亡、脳出血の有無などの項目は、カテゴリ変数の解析であるためFisherの直接確立法を用いる。血圧、呼吸管理日数などの項目は、間隔変数の解析であるためStudent t試験を用いる。臍帯血細胞治療群とコントロール群との分散がほぼ等しいとみなせない場合はMann-Whitney U試験を用いる。なお、解析時には国立成育医療研究センターの社会・臨床研究センターの生物統計家を含む組織的支援を得て実施する。</p>
<p>被験者等に関するインフォームド・コンセント</p>	
<p>手続き</p>	<p>患者の親権者より同意を得る方法は各施設の基準に従うが、同意書の凡例を提示する。低酸素性虚血性脳症をきたす児が出生し、臍帯血を採取する際に本試験の説明を行う。予想される本治療法の利益と起こりうる有害事象などの可能性も含め親権者に説明を行う。低酸素性虚血性脳症をきたす児の出生は予測不能で、実際にその様な児の出生時および直後は非常に切迫した状態であるため、新生児低酸素性虚血性脳症に対する低体温療法導入時（通常生後数時間以内）に再度な十分な説明を行い、文書による同意を得る。同意が得</p>

		<p>られた場合でも、臍帯血を初回投与する前（生後 24 時間）に再度説明を行い、同意の確認を行う。</p>
<p>説明事項</p>		<p>本臨床研究はヘルシンキ宣言（世界医師会）および臨床研究に関する倫理指針（厚生労働省）を遵守して施行される。また各施設での研究開始にあたっては、各登録施設の倫理委員会の承認を得る。また研究は、厚生労働省によるヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針に基づいて実施し、同省の担当課に事前に承認を得る事とする。</p> <p>実施者は、本試験の実施にあたっては倫理的な配慮を慎重にし、試験内容について十分説明した上で、本申請書に添付する文書で、被験者の親権者の同意を得る。</p> <p>具体的な説明事項は下記のとおりである。</p> <p>臨床試験について</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. この臨床試験の目的、意義 2. 研究への参加をお願いする理由 3. 方法、期間 4. 期待される効果 5. 予測される不利益 6. 本研究に参加されない場合の治療法とその内容 7. 治療にかかる費用 8. 起こり得る利害の衝突 9. 健康被害が生じた場合 10. 研究から生じる知的財産権 11. 同意されない場合でも不利益は受けません 12. 同意された後でもいつでも途中でやめることができます 13. プライバシーは守られます 14. 個人情報の取扱い、第三者へ提供する可能性がある項目 15. 代諾者から同意を受ける場合、研究の重要性、必要不可欠性 16. 資料の保存、使用方法、保存期間、研究終了後の利用又は廃棄方法 17. この臨床研究実施計画書の開示 18. 倫理的配慮
<p>単独でインフォームド・コンセントを与えることが困難な者を被験者等とする臨床研究の場合</p>		
<p>研究が必要不可欠である理由</p>		<p>我々は従来から新生児期の重度の低酸素性虚血性脳症に対し、積極的に低体温療法の研究を行ってきた。しかしながら、低体温療法を行った後にも半数近くの症例に脳性麻痺の後障害を認めた。脳性麻痺はリハビリを行っても疾患自体には有効な治療法が見いだせなかった。従って脳性麻痺の重要な起因病態である新生児低酸素性虚血性脳症の治療法開発は急務である。自己臍帯血幹細胞療法は以下の理由により、本研究（同治療法の安全性（大きな有害事象が起こらないこと）・実施可能性の検証）が切望される；1）モデル動物による複数の前臨床試験により有効性が証明され、さらにその特筆すべき治療可能期間の長さから臨床応用実現性が高いこと；2）米国や韓国での先行臨床試験、及び長年の他家臍帯血移植や自己血輸血の臨床経験により、本療法の危険性は極めて低いこと；3）患児の家族も本治療法を知っており大いなる期待を寄せていること、そのために海外に治療機会を求めたり国内での無認可治療を求める家族が増加していること。本研究は、多方面から期待を集めている自己臍帯血幹細胞療法の安全性と実施可能性を、正式な手続きを経て国民に納得され得る手法により証明するために必要不可欠である。</p>

	代諾者の選定理由	患者本人からは、新生児のためインフォームド・コンセントを得ることは不可能である。そのため、代諾者は基本的に親権者とする。
被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法		有害事象が発生した時は、その被験者の安全確保を最優先する。「臨床研究に関する倫理指針」に従い、担当医師は直ちに臨床研究機関の研究責任者およびその機関の長へ報告すると共に、他研究機関の研究責任者へ報告する。また、速やかに独立症例検討委員会へも報告する。有害事象名、細胞投与日、発現日、処置、記載時の転記等に関して報告する。研究責任者は臍帯血細胞投与との因果関係に関して調査し、可能な限り回復まで追跡調査を行う。臍帯血細胞投与との因果関係に関わらず、重大な有害事象が発生した場合は、その被験者に対する細胞治療を直ちに中止する。重篤かつ予期しない有害事象は、臨床研究機関の長から厚生労働大臣への報告を行う。本臨床研究の実施に起因して有害事象が発生し、被験者に健康被害が生じた時は、適切な治療その他必要な措置を受けることができるように研究責任者、試験分担医師が対応する（費用は本研究グループが負担する）。臨床試験に対する保険（損保ジャパン社）の範囲内で賠償が行われる。独立症例検討委員会において該当重大有害事象が本治療法によると判断され、且つその発生率が新生児低酸素性虚血性脳症児で予想される発生率より明らかに高率である場合は、本試験を中止する。
臨床研究終了後の追跡調査の方法		各施設にて行い、その情報を大阪市立大学の研究グループが統括しデータ管理を行う。事務局は淀川キリスト教病院と国立循環器病研究センターに置き、各実施施設と密に連携を取る。
臨床研究に伴う補償		
	補償の有無 補償が有る場合、その内容	有り この治療によって、つまり赤血球と血漿を除く処理を加えただけの自己臍帯血を採取から72時間以内に静脈内投与した場合、重篤な健康被害等の有害事象が生じる可能性は文献的にも理論的にも非常に少ないものの、もし有害事象が生じた場合は最善かつ必要な治療を、大阪市立大学医学部附属病院及び実施施設の責任で行う。また、これに係る医療費等については、研究グループが負担する。本研究は臨床試験に対する賠償保険（損保ジャパン社）に加入した上で行われ、賠償はこの保険の範囲内で行われる。この賠償保険は、臨床試験の研究実施計画書の不備等に起因する健康被害に対して賠償金が支払われるものである（1名あたり1億円）。医療行為の過誤に起因する健康被害に対しては、本臨床試験参加の各研究機関および各医師が加入している医療賠償保険の範囲内で賠償が行われる。新生児低酸素性虚血性脳症および低体温療法に起因する有害事象・死亡・後遺症に対しては、賠償・補償は行われない。無過失補償は行われない。賠償・補償に関する事項に関しては、説明文書に明記し、十分な説明を行う。
個人情報保護の方法		
	連結可能匿名化の方法	登録患者の氏名は参加施設からデータ招集者へ知らされることはなく、個人の特定につながる情報を保護し、個人を特定できないように配慮される。また、今後更に詳しい調査を行う可能性もあるため、データは連結可能匿名とする。このため匿名化対応表は、各研究参加施設において施錠ができる保管庫に各研究責任者が保管する。本研究を統括する大阪市立大学発達小児科へは患者個人情報を切り離した臨床データのみを送る。

その他	<p>① 集積データ・解析データ 患者個人情報に記載しない。</p> <p>② データの保管方法とその件数 6名分の症例登録票、症例報告書は、大阪市立大学小児科において施錠の上保管する。これらのデータには個人情報は一切記載されない。被験者と識別コードに関する連結情報は、各研究参加施設において施錠のうえ厳重な管理を行い、大阪市立大学には連結情報は知らせない。</p> <p>③ データの保存媒体の安全管理方法 ワイヤー固定およびアクセス制御されたPC端末において、匿名化された臨床データの解析を行う。PC端末においては、個人情報は一切記載しない</p> <p>④ 匿名化の方法およびそのタイミング 症例登録時に匿名化を行い、以後は被験者識別コードにて管理を行う。</p> <p>⑤ 利用目的を変更された場合の、その対処方法 個人情報の取得に明示された利用目的の変更が合理的な範囲を超えると判断できる場合には、再同意を取得する。</p> <p>⑥ 被験者の個人情報を利用させたくない旨の表明の機会 同意取得時に、被験者の個人情報利用の可否を確認し、自身の情報は利用して欲しくない旨の申し出があった場合には、エントリーをしない。</p>
その他必要な事項 (細則を確認してください)	<p>① 当該研究に係る研究資金の調達方法 大阪市立大学 教育研究奨励寄付金「臍帯血幹細胞移植」により運営する。厚生労働科学研究費補助金も合わせて運営することを計画している(平成26年度厚生科研申請中)。謝礼は特になし。</p> <p>② 既に実施されているヒト幹細胞臨床研究と比較して新規性が認められる事項 高知大学が既に「小児脳性麻痺に対する自己臍帯血治療法」の臨床研究のヒト幹細胞審査の承認を受けている。その研究においては、脳障害による脳性麻痺が確定した段階で初めて治療を実施するが、本臨床研究においては、新生児低酸素性虚血性脳症による脳障害が確定する前の急性期に、自己臍帯血による治療を実施するところに新規性がある。そのことにより、より効果的に脳保護作用が期待される。新生児脳傷害モデル動物を用いた研究論文において、有効な細胞投与時期は受傷後7日までである。 高知大学の臨床研究との違いを具体的に述べる。</p> <p>① 対象患者。 その研究では、出生後、脳性麻痺を発症する可能性が疑われる以下の妊婦を対象として臍帯血が保存される； 1) 在胎33週未満の低出生体重児となる可能性が高い症例； 2) 胎児機能不全が存在する症例；3) その他、産科医が、児に脳性麻痺を発症する可能性を強く疑う症例。そのような条件を満たす児が脳性麻痺となる確立は、それ以外の児に比べて高いものの、多く見積もっても数%である。また、脳性麻痺が明らかとなるのは生後6ヵ月以降である。一方我々は、適切な治療を行っても約半数が死亡ないし重度後遺症をきたす中等症以上の満期産新生児低酸素性虚血性脳症児を対象として、急性期に治療を行う(生後24時間以内に第1回目の臍帯血投与を行い、72時間以内に3回目の投与を終了する)。</p> <p>② 臍帯血の保存。 高知大学の研究では臍帯血を凍結保護剤DMSOを加えて6ヵ月間以上凍結保存し、その児が脳性麻痺と</p>

	診断された場合に解凍して投与する。一方我々は、凍結せずに採取後 72 時間以内に投与する。
--	---

備考1 各用紙の大きさは、日本工業規格 A4 とすること。

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

添付書類（添付した書類にチェックを入れること）

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

臨床研究の概要をできる限り平易な用語を用いて記載した要旨

課題名「新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療」について

－ 臍帯血幹細胞治療研究会による多施設参加臨床研究 －

1. この臨床試験の目的、意義

今回新生児自己臍帯血幹細胞療法の治療結果を解析する事によって日本での治療効果を把握し、新生児低酸素性虚血性脳症の神経学的予後の改善がなされているかを確認するものです。周産期の低酸素性虚血性脳症による脳性麻痺は、出生時の脳への血流遮断により文字通り脳神経細胞が低酸素と低血糖に陥ることにより生じる病気です。この脳神経障害による運動のコントロール障害すなわち脳性麻痺は生涯にわたって生じますが、有効な治療法は見出せずにいました。

ところが、2006年に周産期脳障害モデルラットにおいて、ヒトの臍帯血細胞が有効であることが示され (Meier C et al. 2006)、さらに2008年の報告では外傷後を中心とした脳性麻痺57例が幹細胞により治療され、32%に効果が認められた。また、同時に短期的、長期的な副作用も認めなかった。つまり臍帯血は恒久的な脳神経障害に対しても、複数のメカニズムにより修復効果を示し得ます。一方で患者本人から幹細胞を採取し利用する方法は副作用も少なく、臍帯血以外にも骨髄由来や脂肪組織由来の方法が知られており、世界的に臨床研究が行われています。この中で未知な部分の多いES細胞の代用として最も有効なものが臍帯血幹細胞ですが、我が国においても臍帯血幹細胞治療の可能性について検証し、体制構築することが急務と考えられます。すなわち本研究の目的は本治療法による臨床試験によって、その効果と副作用について調べ証明すると共に、その治療システムの構築における問題点についても解明することです。さらに本研究の特色は、有効な治療法が今まで見いだせなかった脳性麻痺に対する治療法を開発することであり、副作用を起こす可能性が極めて少ない自己臍帯血の利用に注目したところが独創的です。将来的には今まで治療法がなかった他の中枢神経疾患、脊髄損傷、神経変性疾患などへの応用も期待される研究と考えられます。

2. 方法、期間

方法は米国で既に安全性が確認された方法に基づいて実施いたします。現時点では、本治療法は研究協力を承諾いただいた施設のみで実施可能です。本治療法によって患者さんに明らかな不利益がもたらされるとの報告は今のところありません。輸注時にショック等のアナフィラキシー反応を引き起こす状態が理論上起こりえますので、事前に万全の対策を行います。

- i) 出生時の情報
 - ii) 母体情報
 - iii) 脳症の評価；Sarnat分類にて中等度以上と判断された場合本治療法を考慮
 - iv) 自己臍帯血の保存と輸注
 - a) 米国の臨床試験の方法に準拠し、幹細胞保存専用機器であるスイスBiosafe社、Sepax systemによる分離、保存を実施する、(米国ではFDAが認可、本邦ではPMDA認可の後AMCO社が代理販売)
 - b) 米国の臨床試験プロトコルに準拠し生後12-24時間、24-48時間、48-72時間にそれぞれ輸注を実施する。
 - c) 自己臍帯血治療中の情報
 - d) 投与時間、投与量、投与細胞数、その他治療中の有害事象など
 - v) 退院時の情報
 - a) 転帰:vii-1)退院日齢、自律哺乳:気管切開:投与薬剤 vii-2) 死亡日齢:病理解剖:
 - b) 頭部MRI検査日齢、所見
 - vi) 生後6ヶ月、12ヶ月、1歳6ヶ月時の情報
 - a) 転帰:運動機能の評価
 - b) リハビリや継続治療の必要性の有無
 - c) 12ヶ月時頭部MRI検査月齢、所見
 - d) 1歳6ヶ月時対面式乳児発達検査の結果
- 症例集積期間：承認後 ～ 2年
- 症例追跡期間：1年6ヵ月

3. 期待される効果

今回新生児自己臍帯血幹細胞療法の治療結果を解析する事によって、日本での治療効果を把握し、新生児低酸素性虚血性脳症による脳障害が改善する可能性も期待されます。

以上

代諾者の方への同意説明文

課題名「新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療(Phase I)」について
- 臍帯血幹細胞治療研究会による多施設参加臨床研究 -

(臨床研究参加時用)

臨床試験について

(臨床試験の趣旨)

(1) 研究目的、意義と研究参加へのお願い

私たちは現在考えられる最良の治療を患者さんに提供することを目的に、効果や安全性の優れた検査法、治療法の開発を試みています。新しい治療法が患者さんにとって効果、副作用の面から本当に有益であるかどうかを検討するためには、患者さんを対象とした臨床研究が必要となります。今回参加をお願いする臨床研究は、私たちが通常診療の一環として、新しい治療を立案・計画して行うものです。従って、製薬会社を中心となって厚生労働省から新しい医薬品として承認を得るために行われる臨床試験(治験)ではありません。今回の研究は、厚生労働省により作成されたヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針に基づき計画され、当院の倫理審査委員会、および厚生労働省の厚生科学審議会において審議され許可を得て行っています。研究に参加されるかどうかを決める前に、ご家族に十分にこの研究の内容を知っていただくことが必要です。説明の中でわかりにくい言葉や疑問、質問がありましたらどんなことでも遠慮なくお尋ねください。

この研究では、依然として十分な治療法がない新生児低酸素性虚血性脳症(新生児仮死)において、お子様ご自身の臍帯血が治療として使えないかを評価する研究です。新生児への自己臍帯血幹細胞治療は、新生児低酸素性虚血性脳症に対し主に米国において客観的な評価を受けその治療効果が期待されますが、まだ我が国ではほとんど経験がないのが現状です。臍帯血は、通常はお産が終了した後に処分してしまうことが多いのですが、従来から骨髄移植などに有用であることが分かっていました。最近では臍帯血に幹細胞(細胞の元(幹)となる細胞)が多く含まれ、少量でも脳障害や代謝障害などの多くの難病に有効であることが証明されつつあります。新しい治療法の確立のため、この研究への参加をお願いする次第です。

(2) 研究参加の同意表明の任意性と、表明後の同意撤回の自由について

これから説明いたします臨床研究の内容をよく理解していただいた上で、この研究に参加されるかされないかをご自分の自由意思で決定して下さい。もし、あなたが参加されないと決定されましても何ら不利益はありません。また、もし参加すると決定されま

しても、いつでも自由に取りやめることができます。なお、途中でやめられる場合は、あなたのお子様に関わる研究結果は破棄され、それ以降は研究目的に用いられることはありませんが、すでに研究結果が論文などにより公表されていた場合には、研究結果を破棄することはできません。

1. この臨床試験の目的、意義

新生児自己臍帯血幹細胞治療の治療結果を解析する事によって日本での治療効果を把握し、新生児低酸素性虚血性脳症の神経学的予後の改善がなされているかを確認するために臨床試験を行います。まず今回は自己臍帯血幹細胞治療の安全性（大きな有害事象が起きないこと）を少数のお子さまで確認することを目的としています。本治療の有効性の正確な確認は、今後さらに多くのお子さまに参加して頂く大規模臨床試験が必要になると予想されます。本臨床試験は米国で既に安全性が確認された方法に基づいて実施いたします。現時点では、本治療法は研究協力を承諾いただいた施設のみで実施可能です。本治療法によってお子さま、ご家族に明らかな不利益がもたらされるとの報告はございません。

2. 研究への参加をお願いする理由

この調査では、以下の基準を満たす方を対象としています。

1) 中等症以上の新生児低酸素性虚血性脳症を認める方

(死亡率あるいは後遺症を残す確率 中等症 32% 重症 76%)

2) 自己臍帯血の採取が可能だった方で、その後保存、精製が可能なる方

なお、お子さんは未成年ですので、代諾者（保護者）のかたの同意をもって研究への参加意思の確認をさせていただきます。

3. 方法、期間

i) 出生時の情報と母体情報に基づき脳症の評価が Sarnat 分類にて中等度以上と判断された場合に本治療法を考慮します。なお、低体温療法を原則併用します（低体温療法は臨床試験により、中等度以上の脳症に対して有効であることが近年証明されています。）。

ii) 自己臍帯血の保存と輸注は以下の方法で行います。

a) 米国の臨床試験の方法に準拠し、幹細胞保存専用機器であるスイス Biosafe 社、Sepax system による分離、保存を実施します。（米国では FDA が認可、本邦では PMDA 認可の後 AMCO 社が代理販売）

b) 米国の臨床試験プロトコールに準拠し生後 12-24 時間、24-48 時間、48-72 時間にそれぞれ輸注を実施します。

iii) 自己臍帯血治療中の情報は下記の項目について検討します。

a) 投与時間、投与量、投与細胞数、その他治療中の有害事象など

iv) 退院時の情報は下記の項目について検討します。

a) 転帰:1) 退院日齢、自律哺乳、気管切開、投与薬剤などにつき記載します。

2) 死亡日齢、病理解剖所見などを記載します。

- b) 頭部MRIの検査日齢と所見を記載します。
- v) 生後6ヶ月、12ヶ月、1歳6ヵ月時の情報は下記の項目について検討します。
 - a) 転帰と運動機能の評価の他、リハビリや継続治療の必要性の有無について記載します。
 - c) 12ヶ月時に頭部MRI検査月齢、所見について記載します。
 - d) 1歳6ヵ月時に対面式乳児発達検査の結果について記載します。
- vi) 補足的な検討として、長期的な安全性評価のため3歳、6歳、10歳時に診察（受診が困難な場合は電話ないし郵送による問診）を行います。

症例集積期間：承認後～2年

症例追跡期間：1年6ヵ月

4. 期待される効果

今回新生児自己臍帯血幹細胞治療の治療結果を解析する事によって、お子様の予後が改善する可能性があります。中等症～重症新生児低酸素性虚血性脳症は死亡率、重度後遺症（脳性麻痺、てんかん、知的障害など）を残す率ともに高い病気ですが、本治療によりそれらを回避できる可能性があります。日本での治療効果を把握し、新生児低酸素性虚血性脳症の神経学的予後を改善する可能性も期待されます。

その効果の機序ですが、臍帯血幹細胞が脳内で神経細胞に分化して機能するという研究報告もありますし、それ以外の効果が大いとの研究報告もあります。臍帯血幹細胞には、神経や血管保護効果のある物質を分泌したり、脳での炎症を抑える作用があることが研究により確かめられています。

従来の治療は脳傷害を根本的に治療することはできず、脳を含めた全身をより良い状態に保つことにより死亡率と後遺症を残す率が下がることを期待する治療法でした。最近導入された低体温療法は積極的に脳傷害を治療する初めての治療法です（しかし効果は限定的で、死亡と重度後遺症を合わせた率を62%から44%に下げることしかできません。さらに、生後6時間以内に治療を開始しなければ効果は期待できません。）。臍帯血幹細胞療法は第二の積極的治療として期待されています。基礎研究では、生後しばらく（24時間程度）経ってから治療開始しても有効であることが示されています。

5. 予測される不利益

方法は米国で既に安全性が確認された方法に基づいて実施いたしますので、有害事象がもたらされる可能性は低いと思われれます。しかしながら、感染症、心機能障害、呼吸障害を来す可能性はあり得ます。また、輸注時にショック等のアナフィラキシー反応を引き起こすことがあり得ますので、事前に万全の対策を行います。具体的には、臍帯血治療により脈や血圧が不安定になり、それらを安定させるために薬剤治療を要したり、呼吸状態が悪化し、人工呼吸器での呼吸補助を強めなければならなくなる、等の事態が起こりえます。

6. 本研究に参加されない場合の治療法とその内容

低酸素性虚血性脳症に対する治療法は上記の治療法以外にもいくつかあります。マグネシウム製剤の投与など担当の先生から説明を受けて、あなたの希望するそれらの治療を受けることは可能です。

7. 治療にかかる費用

今回の試験で使用する自己臍帯血分離精製装置は厚生労働省で承認され、市販されているものです。今回の自己臍帯血治療に関わる費用（臍帯血の採取、調整からお子さんへの輸注の実施に関わる費用、本臨床試験に関わる各種検査費用）は研究費で賄われますので、あなたが試験に参加されたことによる特別な費用の負担はありません。

8. 起こり得る利害の衝突

今回の研究担当者に開示すべき利益相反は特にありません。経済的な利益により臨床研究の結果が影響されないかは、自己申告に基づき大阪市立大学利益相反マネジメント委員会で承認され、今後も管理されます。

9. 健康被害が生じた場合

もし、試験期間中あるいは終了後にこの試験によると思われる副作用などの健康被害が生じた場合には、医師が適切な診察と治療を行います。本臨床研究により（自己臍帯血幹細胞療法により）起こった健康被害に対しては、適切な補償を行います。本研究によらない健康被害に対しては、補償は行われません。

10. 研究から生じる知的財産権

この研究の結果として特許権などが生じる可能性があります。その権利は研究遂行者に属し、あなたには属しません。また、その特許権などをもととして経済的利益が生じる可能性があります。あなたはこれについて権利がありません。

11. 同意されない場合でも不利益は受けません

この臨床試験への参加はあなたの自由意思であり、たとえ同意されない場合も不利益を受けることはありません。

12. 同意された後でもいつでも途中でやめることができます

この試験への参加に同意された後でも、口頭であれ、文書であれ、あなたの申し出によっていつでもやめることができますので、担当の医師に申し出てください。治療が始まってからでもかまいません。この場合でもあなたの不利益になることはありません。同意を途中でやめられる場合は、あなたに関わる研究結果は破棄され、診療記録なども、それ以降は研究目的に用いられることはありません。ただし、同意を取り消されたとき、既に研究結果が論文などに公表されていた場合には、研究結果を破棄することはできません。

13. プライバシーは守られます

この試験を行うにあたっては、あなたの人権が最大限尊重されます。この試験で得られた情報は、医学雑誌や学会発表にて公表の予定で、貴重な資料として使わせていただ

きます。その際、あなたの名前などの個人情報については記号・番号などで匿名化され、外部からはわからないようにされます。お子さまの情報につきましては氏名、住所等個人を特定する情報は事務局には送らず保護されます。また、当施設においても得られたデータを他の目的に使用する事はありません。

14. 個人情報の取扱い、第三者へ提供する可能性がある項目

あなたから個人情報の利用目的等の通知、開示、訂正、利用停止の申し出があった場合には、申し出の内容に応じ対処させていただきます。

15. 代諾者から同意を受ける場合、研究の重要性、必要不可欠性

この臨床試験に参加されるお子様は、新生児でご本人の同意を得ることが困難であるため、ご家族又は代諾者に同意を受けることをご了承下さい。

16. 資料の保存、使用方法、保存期間、研究終了後の利用又は廃棄方法

使用しなかった自己臍帯血は廃棄します。臨床試験終了後に詳細なデータなどの資料は集計・解析・発表が終了すれば個人を特定できない状態にして廃棄します。

17. この臨床研究実施計画書の開示

なお、本研究に関し、研究の方法に関する資料の閲覧、疑問、苦情などある際には、下記までご連絡ください。

(医学および医療に関する問い合わせ) (参加されている施設の責任者にご連絡下さい)

自己臍帯血幹細胞治療事務局

研究代表者：新宅 治夫

所属・職名：大阪市立大学発達小児科学教室 教授

住所：〒545-8580 大阪府大阪市阿倍野区旭町 1-5-7

電話番号：06-6645-2326

実施分担責任者：鍋谷まこと

所属・職名：淀川キリスト教病院 ホスピス・こどもホスピス病院 院長

住所：〒533-0032 大阪市東淀川区淡路 2-9-16

電話番号：06-6322-2250

実施分担責任者：田村 正徳

所属・職名：埼玉医科大学総合医療センター一般小児部門 教授

住所：〒350-0495 埼玉県川越市鴨田 1981

電話番号：049-228-3400

実施分担責任者：早川 昌弘

所属・職名：名古屋大学医学部附属病院 総合周産期母子医療センター センター長

住所：〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町 65

電話番号：052-741-2111

実施分担責任者：市場 博幸

所属・職名：大阪市立総合医療センター新生児科 部長

住所：〒534-0021 大阪市都島区都島本通 2-13-22

電話番号：06-6929-1221

実施分担責任者：渡部 晋一

所属・職名：公益財団法人大原記念倉敷中央医療機構 倉敷中央病院

総合周産期母子医療センター 部長

住所：〒710-8602 岡山県倉敷市美和 1-1-1

電話番号：086-422-0210

(その他、苦情等の窓口)

大阪市立大学医学部経営企画課外部資金・産学連携担当

電話番号：06-6645-3435

18. 倫理的配慮

本研究は厚労省のヒト幹細胞を用いる臨床研究指針審査・承認を経て、その指針に基づいて行われます。また各実施施設における倫理委員会の承認を経て実施されます。

同意書 (臨床研究参加時用)

殿 (各施設の長)

私は、「新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療」について説明を受けました。

臨床試験について (臨床試験の趣旨)

1. この試験の目的、意義
2. 研究への参加をお願いする理由
3. 方法、期間
4. 期待される利益
5. 予測される不利益
6. 本研究に参加されない場合の治療法とその内容
7. 治療にかかる費用
8. 起こりうる利害の衝突
9. 健康被害が生じた場合
10. 研究から生じる知的財産権
11. 同意されない場合でも不利益は受けません
12. 同意された後でもいつでも途中でやめることができます
13. プライバシーは守られます
14. 個人情報の取扱い、第三者へ提供する可能性がある項目
15. 代諾者から同意を受ける場合、研究の重要性、必要不可欠性
16. 資料の保存、使用方法、保存期間、研究終了後の利用又は廃棄方法
17. この臨床研究実施計画書の開示
18. 倫理的配慮

上記の内容を承知した上で本試験に参加することに同意します。

(西暦) _____ 年 _____ 月 _____ 日

代諾者署名: _____ 本人との関係 (_____)

上記の方に対する試験内容については、私が説明し、同意されたことを確認致しました。

(西暦) _____ 年 _____ 月 _____ 日

説明者署名: _____

代諾者の方への同意説明文

課題名「新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療(Phase I)」について
- 臍帯血幹細胞治療研究会による多施設参加臨床研究 -

(臍帯血投与時用) 本臨床試験参加に際しての同意説明文と全て同じものです。

臨床試験について

(臨床試験の趣旨)

(1) 研究目的、意義と研究参加へのお願い

私たちは現在考えられる最良の治療を患者さんに提供することを目的に、効果や安全性の優れた検査法、治療法の開発を試みています。新しい治療法が患者さんにとって効果、副作用の面から本当に有益であるかどうかを検討するためには、患者さんを対象とした臨床研究が必要となります。今回参加をお願いする臨床研究は、私たちが通常診療の一環として、新しい治療を立案・計画して行うものです。従って、製薬会社を中心となって厚生労働省から新しい医薬品として承認を得るために行われる臨床試験(治験)ではありません。今回の研究は、厚生労働省により作成されたヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針に基づき計画され、当院の倫理審査委員会、および厚生労働省の厚生科学審議会において審議され許可を得て行っています。研究に参加されるかどうかを決める前に、ご家族に十分にこの研究の内容を知っていただくことが必要です。説明の中でわかりにくい言葉や疑問、質問がありましたらどんなことでも遠慮なくお尋ねください。

この研究では、依然として十分な治療法がない新生児低酸素性虚血性脳症(新生児仮死)において、お子様ご自身の臍帯血が治療として使えないかを評価する研究です。新生児への自己臍帯血幹細胞治療は、新生児低酸素性虚血性脳症に対し主に米国において客観的な評価を受けその治療効果が期待されますが、まだ我が国ではほとんど経験がないのが現状です。臍帯血は、通常はお産が終了した後に処分してしまうことが多いのですが、従来から骨髄移植などに有用であることが分かっていました。最近では臍帯血に幹細胞(細胞の元(幹)となる細胞)が多く含まれ、少量でも脳障害や代謝障害などの多くの難病に有効であることが証明されつつあります。新しい治療法の確立のため、この研究への参加をお願いする次第です。

(2) 研究参加の同意表明の任意性と、表明後の同意撤回の自由について

これから説明いたします臨床研究の内容をよく理解していただいた上で、この研究に参加されるかされないかをご自分の自由意思で決定して下さい。もし、あなたが参加されないと決定されましても何ら不利益はありません。また、もし参加すると決定されま

しても、いつでも自由に取りやめることができます。なお、途中でやめられる場合は、あなたのお子様に関わる研究結果は破棄され、それ以降は研究目的に用いられることはありませんが、すでに研究結果が論文などにより公表されていた場合には、研究結果を破棄することはできません。

1. この臨床試験の目的、意義

新生児自己臍帯血幹細胞治療の治療結果を解析する事によって日本での治療効果を把握し、新生児低酸素性虚血性脳症の神経学的予後の改善がなされているかを確認するために臨床試験を行います。まず今回は自己臍帯血幹細胞治療の安全性（大きな有害事象が起きないこと）を少数のお子さまで確認することを目的としています。本治療の有効性の正確な確認は、今後さらに多くのお子さまに参加して頂く大規模臨床試験が必要になると予想されます。本臨床試験は米国で既に安全性が確認された方法に基づいて実施いたします。現時点では、本治療法は研究協力を承諾いただいた施設のみで実施可能です。本治療法によってお子さま、ご家族に明らかな不利益がもたらされるとの報告はございません。

2. 研究への参加をお願いする理由

この調査では、以下の基準を満たす方を対象としています。

1) 中等症以上の新生児低酸素性虚血性脳症を認める方

(死亡率あるいは後遺症を残す確率 中等症 32% 重症 76%)

2) 自己臍帯血の採取が可能だった方で、その後保存、精製が可能な方

なお、お子さんは未成年ですので、代諾者（保護者）のかたの同意をもって研究への参加意思の確認をさせていただきます。

3. 方法、期間

i) 出生時の情報と母体情報に基づき脳症の評価が Sarnat 分類にて中等度以上と判断された場合に本治療法を考慮します。なお、低体温療法を原則併用します（低体温療法は臨床試験により、中等度以上の脳症に対して有効であることが近年証明されています。）。

ii) 自己臍帯血の保存と輸注は以下の方法で行います。

a) 米国の臨床試験の方法に準拠し、幹細胞保存専用機器であるスイス Biosafe 社、Sepax system による分離、保存を実施します。（米国では FDA が認可、本邦では PMDA 認可の後 AMCO 社が代理販売）

b) 米国の臨床試験プロトコールに準拠し生後 12-24 時間、24-48 時間、48-72 時間にそれぞれ輸注を実施します。

iii) 自己臍帯血治療中の情報は下記の項目について検討します。

a) 投与時間、投与量、投与細胞数、その他治療中の有害事象など

iv) 退院時の情報は下記の項目について検討します。

a) 転帰:1) 退院日齢、自律哺乳、気管切開、投与薬剤などにつき記載します。

2) 死亡日齢、病理解剖所見などを記載します。

- b) 頭部MRIの検査日齢と所見を記載します。
- v) 生後6ヶ月、12ヶ月、1歳6ヶ月時の情報は下記の項目について検討します。
 - a) 転帰と運動機能の評価の他、リハビリや継続治療の必要性の有無について記載します。
 - c) 12ヶ月時に頭部MRI検査月齢、所見について記載します。
 - d) 1歳6ヶ月時に対面式乳児発達検査の結果について記載します。
- vi) 補足的な検討として、長期的な安全性評価のため3歳、6歳、10歳時に診察（受診が困難な場合は電話ないし郵送による問診）を行います。

症例集積期間：承認後～2年

症例追跡期間：1年6ヶ月

4. 期待される効果

今回新生児自己臍帯血幹細胞治療の治療結果を解析する事によって、お子様の予後が改善する可能性があります。中等症～重症新生児低酸素性虚血性脳症は死亡率、重度後遺症（脳性麻痺、てんかん、知的障害など）を残す率ともに高い病気ですが、本治療によりそれらを回避できる可能性があります。日本での治療効果を把握し、新生児低酸素性虚血性脳症の神経学的予後を改善する可能性も期待されます。

その効果の機序ですが、臍帯血幹細胞が脳内で神経細胞に分化して機能するという研究報告もありますし、それ以外の効果が大いとの研究報告もあります。臍帯血幹細胞には、神経や血管保護効果のある物質を分泌したり、脳での炎症を抑える作用があることが研究により確かめられています。

従来の治療は脳傷害を根本的に治療することはできず、脳を含めた全身をより良い状態に保つことにより死亡率と後遺症を残す率が下がることを期待する治療法でした。最近導入された低体温療法は積極的に脳傷害を治療する初めての治療法です（しかし効果は限定的で、死亡と重度後遺症を合わせた率を62%から44%に下げることしかできません。さらに、生後6時間以内に治療を開始しなければ効果は期待できません。）。臍帯血幹細胞療法は第二の積極的治療として期待されています。基礎研究では、生後しばらく（24時間程度）経ってから治療開始しても有効であることが示されています。

5. 予測される不利益

方法は米国で既に安全性が確認された方法に基づいて実施いたしますので、有害事象がもたらされる可能性は低いと思われれます。しかしながら、感染症、心機能障害、呼吸障害を来す可能性はあり得ます。また、輸注時にショック等のアナフィラキシー反応を引き起こすことがあり得ますので、事前に万全の対策を行います。具体的には、臍帯血治療により脈や血圧が不安定になり、それらを安定させるために薬剤治療を要したり、呼吸状態が悪化し、人工呼吸器での呼吸補助を強めなければならなくなる、等の事態が起こりえます。

6. 本研究に参加されない場合の治療法とその内容

低酸素性虚血性脳症に対する治療法は上記の治療法以外にもいくつかあります。マグネシウム製剤の投与など担当の先生から説明を受けて、あなたの希望するそれらの治療を受けることは可能です。

7. 治療にかかる費用

今回の試験で使用する自己臍帯血分離精製装置は厚生労働省で承認され、市販されているものです。今回の自己臍帯血治療に関わる費用（臍帯血の採取、調整からお子さんへの輸注の実施に関わる費用、本臨床試験に関わる各種検査費用）は研究費で賄われますので、あなたが試験に参加されたことによる特別な費用の負担はありません。

8. 起こり得る利害の衝突

今回の研究担当者に開示すべき利益相反は特にありません。経済的な利益により臨床研究の結果が影響されないかは、自己申告に基づき大阪市立大学利益相反マネジメント委員会で承認され、今後も管理されます。

9. 健康被害が生じた場合

もし、試験期間中あるいは終了後にこの試験によると思われる副作用などの健康被害が生じた場合には、医師が適切な診察と治療を行います。本臨床研究により（自己臍帯血幹細胞療法により）起こった健康被害に対しては、適切な補償を行います。本研究によらない健康被害に対しては、補償は行われません。

10. 研究から生じる知的財産権

この研究の結果として特許権などが生じる可能性があります。その権利は研究遂行者に属し、あなたには属しません。また、その特許権などをもととして経済的利益が生じる可能性があります。あなたはこれについて権利がありません。

11. 同意されない場合でも不利益は受けません

この臨床試験への参加はあなたの自由意思であり、たとえ同意されない場合でも不利益を受けることはありません。

12. 同意された後でもいつでも途中でやめることができます

この試験への参加に同意された後でも、口頭であれ、文書であれ、あなたの申し出によっていつでもやめることができますので、担当の医師に申し出てください。治療が始まってからでもかまいません。この場合でもあなたの不利益になることはありません。同意を途中でやめられる場合は、あなたに関わる研究結果は破棄され、診療記録なども、それ以降は研究目的に用いられることはありません。ただし、同意を取り消されたとき、既に研究結果が論文などに公表されていた場合には、研究結果を破棄することはできません。

13. プライバシーは守られます

この試験を行うにあたっては、あなたの人権が最大限尊重されます。この試験で得られた情報は、医学雑誌や学会発表にて公表の予定で、貴重な資料として使わせていただ

きます。その際、あなたの名前などの個人情報については記号・番号などで匿名化され、外部からはわからないようにされます。お子さまの情報につきましては氏名、住所等個人を特定する情報は事務局には送らず保護されます。また、当施設においても得られたデータを他の目的に使用する事はありません。

14. 個人情報の取扱い、第三者へ提供する可能性がある項目

あなたから個人情報の利用目的等の通知、開示、訂正、利用停止の申し出があった場合には、申し出の内容に応じ対処させていただきます。

15. 代諾者から同意を受ける場合、研究の重要性、必要不可欠性

この臨床試験に参加されるお子様は、新生児でご本人の同意を得ることが困難であるため、ご家族又は代諾者に同意を受けることをご了承下さい。

16. 資料の保存、使用方法、保存期間、研究終了後の利用又は廃棄方法

使用しなかった自己臍帯血は廃棄します。臨床試験終了後に詳細なデータなどの資料は集計・解析・発表が終了すれば個人を特定できない状態にして廃棄します。

17. この臨床研究実施計画書の開示

なお、本研究に関し、研究の方法に関する資料の閲覧、疑問、苦情などある際には、下記までご連絡ください。

(医学および医療に関する問い合わせ) (参加されている施設の責任者にご連絡下さい)

自己臍帯血幹細胞治療事務局

研究代表者：新宅 治夫

所属・職名：大阪市立大学発達小児科学教室 教授

住所：〒545-8580 大阪府大阪市阿倍野区旭町 1-5-7

電話番号：06-6645-2326

実施分担責任者：鍋谷まこと

所属・職名：淀川キリスト教病院 ホスピス・こどもホスピス病院 院長

住所：〒533-0032 大阪市東淀川区淡路 2-9-16

電話番号：06-6322-2250

実施分担責任者：田村 正徳

所属・職名：埼玉医科大学総合医療センター一般小児部門 教授

住所：〒350-0495 埼玉県川越市鴨田 1981

電話番号：049-228-3400

実施分担責任者：早川 昌弘

所属・職名：名古屋大学医学部附属病院 総合周産期母子医療センター センター長

住所：〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町 65

電話番号：052-741-2111

実施分担責任者：市場 博幸

所属・職名：大阪市立総合医療センター新生児科 部長

住所：〒534-0021 大阪市都島区都島本通 2-13-22

電話番号：06-6929-1221

実施分担責任者：渡部 晋一

所属・職名：公益財団法人大原記念倉敷中央医療機構 倉敷中央病院

総合周産期母子医療センター 部長

住所：〒710-8602 岡山県倉敷市美和 1-1-1

電話番号：086-422-0210

(その他、苦情等の窓口)

大阪市立大学医学部経営企画課外部資金・産学連携担当

電話番号：06-6645-3435

18. 倫理的配慮

本研究は厚労省のヒト幹細胞を用いる臨床研究指針審査・承認を経て、その指針に基づいて行われます。また各実施施設における倫理委員会の承認を経て実施されます。

同意書 (臍帯血投与時用)

殿 (各施設の長)

私は、「新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療」について説明を受けました。

臨床試験について (臨床試験の趣旨)

1. この試験の目的、意義
2. 研究への参加をお願いする理由
3. 方法、期間
4. 期待される利益
5. 予測される不利益
6. 本研究に参加されない場合の治療法とその内容
7. 治療にかかる費用
8. 起こりうる利害の衝突
9. 健康被害が生じた場合
10. 研究から生じる知的財産権
11. 同意されない場合でも不利益は受けません
12. 同意された後でもいつでも途中でやめることができます
13. プライバシーは守られます
14. 個人情報の取扱い、第三者へ提供する可能性がある項目
15. 代諾者から同意を受ける場合、研究の重要性、必要不可欠性
16. 資料の保存、使用方法、保存期間、研究終了後の利用又は廃棄方法
17. この臨床研究実施計画書の開示
18. 倫理的配慮

上記の内容を承知した上で本試験に参加することに同意します。

(西暦) _____ 年 _____ 月 _____ 日

代諾者署名: _____ 本人との関係 (_____)

上記の方に対する試験内容については、私が説明し、同意されたことを確認致しました。

(西暦) _____ 年 _____ 月 _____ 日

説明者署名: _____

