

別紙2 臨床研究の目的・意義

骨折後合併症としての偽関節あるいは骨折およびその他の整形外科関連手術における骨欠損に対しては、従来から自家骨移植術や人工骨移植術が行われてきた。自家海綿骨移植術は有用な治療法であり、腸骨は donor site としてもっとも一般的であるが、腸骨骨移植術の合併症としては深部感染、骨髄炎、血腫、神経損傷、血管損傷、医原性の腸骨骨折や仙腸関節損傷、疼痛の持続、出血、骨盤不安定性、美容上の問題といった合併症がある。これらの合併症は約 10% に生じるといわれている。また、近年、骨組織へ置換されていく人工骨も開発され臨床応用され一定の評価を受けているが、自家海綿骨移植術を凌駕するものではない。

自家骨髄間葉系幹細胞は、各種組織への分化能を有することが知られている。歯科領域ではこの幹細胞移植をヒトにも臨床応用し、GTR 法や豚歯胚抽出物(工ムドメイン)の改良方法として適応され、これらは既存の治療方法と同等の優れた結果が示されている。また、これまでの基礎研究の結果、自家骨髄間葉系幹細胞を一定の方法で培養することで骨芽細胞を増殖させ骨組織をシート状に形成することに成功している。

自家骨髄間葉系幹細胞から形成されたこのシート状の骨組織を従来の自家骨移植術の代替方法として臨床応用できれば，採骨にともなう合併症をなくすことができ，革新的な治療法となると考える．本研究の目的は，自家骨髄間葉系幹細胞による骨組織再生医療の臨床応用にむけ，その安全性を検証することである．

別紙3 被験者等の選定基準

1) 骨折後合併症としての遷延治癒・偽関節あるいは変形矯正のための骨切り術で、従来ならば人工骨移植は適応とならず自家骨移植が適応となる患者さん。

遷延癒合と偽関節の定義：一般的には、骨折受傷後あるいは骨折手術後に3カ月以上経過してもX線写真および臨床所見で骨癒合と診断できないものを遷延癒合といい、6カ月以上経過しても骨癒合と判断できないものを偽関節と定義します。骨折治癒のX線評価は、具体的には長管骨では正側2方向の単純X線写真で4つの皮質の連続性のうち仮骨による3つ以上の皮質の連続性があることで判断する。徒手検査による骨折部の動揺性、下肢骨では局所の圧痛や荷重痛の有無、上肢では局所の圧痛や運動痛の有無を参考所見とする。通常の治療は、骨折部や偽関節部を搔爬し内固定や創外固定により安定性を獲得した後に自家骨移植術を行う。人工骨を用いることはない。

Bone transport法 (骨延長術の応用例)：骨髄炎や感染性偽関節あるいは骨腫瘍切除後の骨欠損に対して、骨延長術により欠損部を再建する治療法であるが、

移動骨片の断端と残した骨の切除断端を最終的にはドッキングさせる。このドッキング部は、骨癒合しにくいため断端の処置（断端をきれいに合わせる）とともに自家骨移植術を追加して行う。人工骨を用いることはない。

変形治癒骨折に対する骨切り術 (closed wedge osteotomy): 長管骨の変形治癒に対する骨切り術のうちopen wedge osteotomyは間隙部分に自家骨移植または人工骨移植を行いプレート等で固定するが、closed wedge osteotomyは骨切り断端をできるだけ接触させてプレート等で固定する。骨幹端部でのclosed wedge osteotomyでは海綿骨同士が接触面となるため骨癒合しやすいが、骨幹部あるいは骨幹端と骨幹部が接触面となる場合は骨癒合しにくい。このような骨切り術では自家骨移植術を行うことで、骨癒合の促進をはかれる。人工骨移植の有用性は明らかでない。

2) 性別：男性および女性（妊娠中あるいは妊娠の可能性のある患者を除く）

3) 年齢：20 歳以上 60 歳未満

4) 予定症例数：10 例

5) 適応除外事項：合併症により余命が1年以内と考えられる患者さん，過去3カ月以内にアルコールもしくは薬物依存の既往がある患者さん，重症の糖尿病を有する患者さん，悪性新生物を有する患者さんおよび5年以内にその既往のある患者さん，諸検査により悪性腫瘍の可能性があると判断された患者さん，ペニシリンおよびストレプトマイシン等の抗生剤にアレルギー歴のある患者さん，過去3カ月以内に骨形成に影響を与える薬剤が投与されている患者さん，インフォームドコンセントを得られない患者さん，その他，主治医が不適合と考える所見を有する患者さん．

別紙4 臨床研究に用いるヒト幹細胞 採取、調製、移植又は投与の方法:

患者の骨髄より麻酔下で骨髄液 (3～15ml) を採取し , 静脈より血液も採取する . 細胞を FGF-2 並びに自己血より調製した血清を含む培地を用いて培養して , 幹細胞を増殖させる . 培養にて増え移植に充分量に達した間葉系幹細胞を生分解性 (乳酸/グリコール酸共重合体) のシート材料上に播種し , 更に培養して骨細胞に分化させて移植体を作製する . 完成した移植体を患者の骨欠損部へ自家移植する . 培養期間は全工程約 6 週間である .

詳細は , 添付した資料 1 . 製造方法の概要資料および資料 2 . 自動培養装置 1 号機標準作業手順書案 (細胞からの自動培養法) についてを参照 .

別紙5 安全性についての評価

骨髄採取前に，血液検査で梅毒血清反応，HBV_s抗原，HBV_s抗体，HCV抗体 (3rd)，HTLV-1 抗体(ATLA抗体)，HIV-1, 2 抗体，パルボウイルスB19 抗体IgG, M について検査し，全陰性の患者のみ対象とする．自己血清採取時には，真菌・細菌否定試験，糸状性真菌否定試験，エンドトキシン定量，全マイコプラズマ属共通PCRを行い，エンドトキシンは 10pg/ml以下で他は全て陰性の場合を対象患者とする．培養開始後は，その培養液について真菌・細菌否定試験，糸状性真菌否定試験，エンドトキシン定量，全マイコプラズマ属共通PCRについて，培養過程で3回検査し，培養中の混入感染の無いことを確認する．

最終製品での無菌性やマイコプラズマの試験結果が，移植後に陽性であった場合には，移植された患者さんに迅速に連絡するとともに，感受性のある抗生剤の全身投与を行い経過を観察する．血液検査データや X 線写真による所見，移植部位の外観により移植部位等に感染徴候が確認できれば，移植組織および骨組織を摘出する．

また，移植に持ちうる段階の細胞に対して HIV RNA 定量，アンプリコア HBV-PCR 定量，HTLV-1 プロウイルス DNA，パルボウイルス B19DNA/PCR 定量の検査を行

い、培養中の混入感染又は患者の不顕性感染の無いことを確認する。

なお、移植に用いられる生分解性（乳酸/グリコール酸共重合体）のシート（GC Membrane）も急性毒性試験・溶血試験・微生物を用いる変異原性試験・細胞毒性試験・感作性試験・皮下移植試験・口腔粘膜刺激試験でいずれも問題なく、現在歯科用に臨床使用されている。

原材料、製造工程、細胞、各工程の中間製品、製品の品質管理等に関しての詳細は資料4を参照。

別紙6 臨床研究の実施が可能であると判断した理由

この培養法で得られた幹細胞は、既に広島大学・歯学部で臨床研究として10名をこえる歯周病患者の患部に移植され、良好な成績が得られており、特別な副作用は報告されていない。また、培養幹細胞の生分解シート上での骨細胞への分化誘導をビーグル犬を用いた実験で確認されている。完成した骨シートの骨欠損部への移植でも非移植部に比較して著明な骨形成が観察されている。したがって、この方法を用いれば整形外科領域の疾患に対しても有効であると判断した。

前臨床試験の概要を資料3に示した。

別紙7 臨床研究の実施計画

血清採取用血液バックで採血を行い細胞培養用の血清を確保する。採取した血液を2人組みにて細胞培養室に搬送した後、血清分離用機器と遠心分離機を用いて血清を分離する。最終的な手術の約6週間前に手術室にて局所麻酔または全身麻酔下（原則として局所麻酔で行う）に腸骨の3カ所から骨髓液を1カ所につき1～5ml採取する。分離した自己血清を用いてMSC超増幅技術により、骨髓間葉系幹細胞の分離・培養・増殖を幹細胞自動培養装置を用いて行う。移植細胞および新生骨組織の搬送も血液の搬送と同様に、コンテナを用いて2人組で手術室へ運ぶ。

偽関節部および骨欠損部に対して、移植細胞および新生骨組織を自家骨の代替として必要な部位に移植する。術後の経過は、通常の手術後と同様に定期的なX線検査を中心に評価する。

手術が延期になった場合の対応：何らかの原因（当日に患者が発熱したため手術ができなかった場合、培養に失敗した場合など）で手術が延期になった場合には、培養細胞自体の問題でない場合には、1週間以内の延期ならば延期し

た日付で培養細胞の移植手術を行う。培養細胞自体の問題で手術が出来なかった場合には、通常の自家骨移植術に変更する。

骨髓液採取における麻酔法：外来通院中の患者さんでは基本的には局所麻酔下に実施します。ただし、患者さんが疼痛を強く訴えられるような場合には、静脈麻酔やガス麻酔を追加する可能性があります。入院患者で他の外科的処置を全身麻酔下で実施する場合で、同時に骨髓液を採取できる場合にはその時に骨髓液を採取する。

プロトコル中止基準：患者が本研究に対する同意を撤回した場合、十分な量の骨髓液(3 ml)が採取できなかった場合、培養が失敗した場合、組織の移動・運搬で問題が生じた場合、移植予定手術が 8 日間以上延期された場合など。

併用療法：自家骨移植術や人工骨移植術との併用は原則として行わない。自家骨移植術を行う場合と同様に、骨折部の固定力が不十分な場合は内固定法あるいは創外固定法による固定の追加を行う。

実施計画の詳細は資料 2 を参照 .