

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<p>被験者等の選定基準</p>	<p>&lt;被験者の選定基準&gt;          細胞移植で生じる効能(治療効果)・副作用・手技による合併症・利益・不利益を文書により十分に説明し、患者自らの意志および家族の理解と承諾に基づいて、細胞移植治療を希望する場合のみ施行する。以下のいずれかの患者を対象とする。          1. 限局性前立腺癌に対して根治的前立腺摘除術を行った男性患者で、根治手術が施行され、再発・転移がなく(術後1年以上前立腺特異抗原:PSAが測定感度以下)、術後1年以上続く腹圧性尿失禁を有する患者。          2. 前立腺肥大症に対する経尿道的前立腺切除術後またはレーザー切除後の難治性腹圧性尿失禁患者。          3. 真性腹圧性尿失禁を有する40歳以上の妊娠を希望しない女性患者で、薬物治療および理学療法が無効で、従来手術治療を希望しない患者、あるいは、手術治療無効の患者。尿道スリング手術適応例で、手術材料に対するアレルギーを有する、あるいはアレルギーが予測される患者。          &lt;除外基準&gt;          1. 選定基準を満たしていても、患者からインフォームド・コンセントの得られない場合。          2. 他の合併症により余命が1年以内と考えられる場合。          3. 悪性新生物を有する、もしくは5年以内にその既往がある場合。または、諸検査により悪性腫瘍の可能性があると判断された場合(前立腺癌に対する根治手術施行後の患者は除く)。          4. 前立腺癌マーカー(血中PSA)の上昇があり、前立腺癌の存在または再発がある、あるいは予測される患者。          5. 重大な感染症を有している場合、またはWa-R,HCV, HBV,HIVいずれかが陽性で細胞注入により増悪する可能性がある症例。          6. 重篤な肝機能障害、腎機能障害が存在する場合。          7. 白血球減少症、血小板減少症など重篤な血液疾患および輸血を必要とする重度貧血が存在する場合。          8. 妊娠中および妊娠の可能性がある場合。          9. その他、主治医が不適切と判断した場合。</p>
<p>臨床研究に用いるヒト幹細胞</p>	
<p>種類</p>	<p>ヒト皮下脂肪組織由来間葉系前駆細胞</p>
<p>由来</p>	<p><input checked="" type="radio"/> 自己・非自己・株化細胞 <input checked="" type="radio"/> 生体由来・死体由来</p>
<p>採取、調製、移植又は、投与の方法</p>	<p>概略:詳細および作業手順書は別紙3参照          1) 皮下脂肪組織の採取          患者腹部または臀部皮下脂肪組織に生理食塩水1000ml+1%リドカイン(キシロカイン)2ml+0.1%アドレナリン(ボスミン)1.5ml+8.4%メイロン10mlの混合液を適量注入し、形成外科領域で使用される専用シリンジで脂肪組織を含む懸濁液を陰圧吸引する。          2) 脂肪組織由来間葉系前駆細胞(ADRCs)の分離・調整          上記で得た脂肪組織約250~300gから、ADRCs分離装置(Celution®:Cytori Therapeutics, Inc.)を用いてADRCsを分離濃縮する(1×10<sup>6</sup>~8個/5ml)。Celution®システムを用い、細胞分離酵素: Celase™を加え、ADRCsを採取する。脂肪組織由来間葉系前駆細胞の分離に使用する装置Celution®, および本装置で使用する細胞分解酵素Celase™の安全情報については、別紙3参照。          3) 傍尿道周囲へのADRCs移植          5mlに分離されたADRCs(約1×10<sup>6</sup>~8個)を用いて2種類の注入細胞溶液を準備し、経尿道的内視鏡下に尿道粘膜下および尿道括約筋部に注入する(方法の詳細は別紙3および別紙4参照)</p>
<p>調製(加工)行程</p>	<p>有 <input checked="" type="radio"/> 無</p>
<p>非自己由来材料使用</p>	<p>有 <input checked="" type="radio"/> 無 動物種( )</p>
<p>複数機関での実施</p>	<p>有 <input checked="" type="radio"/> 無</p>
<p>他の医療機関への授与・販売</p>	<p>有 <input checked="" type="radio"/> 無</p>

## ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<p>安全性についての評価</p>	<p>前駆細胞を用いた再生治療では、移植細胞が悪性新生物を含めた目的臓器以外へ分化することや、潜在性悪性疾患をはじめ血管新生により増悪する疾患の管理が重要と考えられる。今回用いる脂肪組織由来間葉系前駆細胞は、自己組織から採取・分離するものであることに加え、培養を必要としないことより、安全性については問題ないものと考えられる。我々が行った基礎実験および本邦あるいは外国で行われた乳房組織欠損に対する再建治療（臨床例）においても、何ら問題となる事象は起こっていない。本臨床研究で行われる皮下脂肪採取法は、通常形成外科領域で行われている脂肪吸引法であり、その安全性は確保されている。また、局所への間葉系細胞移植に関しては、共同研究者の室原らはTACT Studyで十分な経験があり、その手技の確実性および安全性は確立している。さらに、我々の施設において、ヒト皮下から採取した脂肪組織から、今回行うと同様の方法で分離した脂肪組織由来間葉系前駆細胞について品質試験（無菌試験、分画・分化試験）を行い、その安全性を確認した。別紙3、別紙4、資料2、資料3、資料4、資料6</p>
<p>臨床研究の実施が可能であると判断した理由</p>	<p>名古屋大学医学部附属病院および大学院医学系研究科泌尿器科学では、本臨床研究責任者である後藤百万が教授として就任以来、積極的に腹圧性尿失禁に対する治療法の開発に携わってきた（資料1-2:業績参照）。更に、今回の脂肪組織由来間葉系前駆細胞:ADRCsの傍尿道注入治療においては、内視鏡下の傍尿道注入手技が重要であるが、名古屋大学医学部附属病院泌尿器科における診療チームは本手技に熟達している。共同研究者の室原らの開発した自己間葉系細胞（骨髄単核球細胞）移植療法（TACT Study）は、虚血組織での血管新生が増強することを度重なる基礎実験[2]で証明した新たな治療戦略として臨床導入され[3]、2003年には、我が国最初の循環器領域における再生医療として高度先進医療に認可された。しかしながら、その後行われた多施設臨床研究の結果、十分な治療効果を得られない患者の存在も明らかになった[22、23]。治療効果減弱の原因として、動脈硬化因子を多く持つ患者では、治療必要量の骨髄単核球細胞数の不足や、移植細胞の機能低下が確認されている[24-27]。そこで、さらに皮下ADRCs、すなわち皮下脂肪組織を新たな細胞供給源とした新規血管新生療法を開発中であり、ヒト幹細胞指針に申請準備中である。我々は、既に今回申請する臨床研究に関する基礎実験を行い、ラット尿失禁モデルに対して、培養脂肪由来間葉系前駆細胞を傍尿道周囲に注入することにより尿道内圧の上昇と尿失禁の改善が得られることを明らかにしている[特許1]および添付資料1]。我々の基礎実験データと保険診療で既に行なわれている内視鏡下コラーゲン注入技術を基にしたADRCs注入、さらに共同研究者の室原らがこれまで行ってきた新規治療法の開発や臨床導入の経験および研究背景より、名古屋大学医学部附属病院で、前駆細胞を用いる再生医療の治療手技、治療効果判定および安全性評価に対し十分な理解を有し、高水準の臨床研究を実施するチームの形成と実施が可能であると判断した。</p>

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

## 臨床研究の実施計画

概略(詳細は別紙4)

1. 腹圧性尿失禁再生治療適応基準の確認、患者への説明と同意後、問診、理学所見、一般検査(検尿、尿培養、血算、一般生化学検査、単純胸腹部レントゲン、心電図など)を行うとともに、悪性疾患のスクリーニング(便潜血、血中PSAを含む腫瘍マーカー、腹部超音波検査、胸部・腹部・骨盤CT)を行う。

2. 皮下脂肪採取・皮下脂肪組織由来間葉系前駆細胞(ADRCs)の分離・傍尿道周囲へのADRCs移植:

<皮下脂肪組織の採取>

全身麻酔、あるいは局所および腰椎麻酔下に、患者腹部または臀部皮下脂肪組織に混合液[成分:生理食塩水1000ml+1%リドカイン(キシロカイン)2ml+0.1%アドレナリン(ボスミン)1.5ml+8.4%メイロン10ml]を適量注入し十分膨満させる。通常形成外科領域で使用される専用シリンジで脂肪組織を含む懸濁液を陰圧吸引する。

<皮下脂肪組織の処理(ADRCsの分離)>

上記で得た脂肪組織約250~300gから、ADRCs分離装置(Celution®:Cytori Therapeutics, Inc.)を用いてADRCsを分離濃縮する(1×10<sup>6</sup>~8個/5ml)。細胞分離酵素: Celase™[コラゲナーゼとサーモリンの2種類の酵素の合剤であり(資料17)、サーモリン(商品名: Thermoase)には牛乳由来のカゼインが用いられているが、この牛乳の原産国はニュージーランドである(資料18)]を加え、消化処理を行い、細胞懸濁液の遠心分離および酵素の洗浄を自動的に閉鎖回路内で行い、ADRCsを採取する。

<傍尿道周囲への脂肪組織由来間葉系前駆細胞移植>

5mlに分離されたADRCs(約1×10<sup>6</sup>~8個)を用いて2種類の注入細胞溶液を準備する[(1)ADRCs 0.5~1.0 mlの細胞溶液、(2)自己脂肪20gとADRCsの4.0~4.5 mlを混和した細胞溶液]。全身麻酔、あるいは局所および腰椎麻酔下に、尿道より内視鏡を挿入し、準備した2種類の注入細胞溶液を18Gの針注射器を用いて内視鏡下に注入する。すなわち、外尿道括約筋内へ(1)溶液0.5~1.0 mlを左右各々2カ所、(2)溶液を膜様部尿道粘膜下(4,8,6時)に症例に応じてbulking効果による尿道内腔の閉鎖が内視鏡的に確認できる程度に注入する。

3. 治療効果、安全性の評価:

<主要評価項目>

尿失禁改善効果として、自己記入式自覚症状・QOLスコアを用いて、治療前、治療後2週、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、21ヶ月、24ヶ月、以後6ヶ月ごとに5年間評価を行う。スコアとしては、尿失禁症状・QOLスコア(International Consultation on Incontinence Questionnaire-Short Form)(資料5参照)と尿失禁QOLスコア(King's Health Questionnaire)(資料5参照)を用いる。

他覚所見としては24時間パットテストによる尿失禁量測定を治療前、治療後2週、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、21ヶ月、24ヶ月、以後6ヶ月ごとに5年間評価する。また、尿流動態検査として尿道内圧測定、最大尿道閉鎖圧、機能的尿道長を治療前、治療後2週間、3ヶ月、6ヶ月、1年に評価する。

<安全性評価>

皮下脂肪吸引後の痛み・出血の有無と程度を随時評価する。血液検査としては、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、血小板数、総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、AST、ALT、ALP、CK、BUN、Cr、電解質Na、K、Cl、Ca、CRPを治療前、治療翌日、治療後1週間、1か月に評価する。根治的前立腺摘除術後の患者については、前立腺特異抗原(PSA)測定を3か月~6か月毎に10年間行う。また、分離 ADRCsの安全性検査として、無菌試験、分画、分離試験を行う。

<副次評価項目>

画像評価として、膀胱鏡検査(治療前、治療後2週間、1年)、MRI(矢状断像 脂肪強調画像)(治療前、治療後2週間、3か月、6か月、1年、以後1年ごとに10年まで)、経膣または直腸的造影超音波検査(治療前、治療後2週間、3ヶ月、6ヶ月、1年)を行う。

4. 目標症例数および研究期間:

女性腹圧性尿失禁患者10症例、前立腺手術後の男性腹圧性尿失禁患者 20症例を目指し、承認後から平成25年3月31日まで症例を組み入れ以後10年間の観察を行う。

被験者等に関するインフォームド・コンセント