

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

調製(加工)行程	①・無
非自己由来材料使用	①・無 動物種(ウシ:血清・ブタ:ヘパリン)
複数機関での実施	①・無
他の医療機関への授与・販売	有①
安全性についての評価	<p>各培養段階において、安全性検査を実施する。培養のための骨髄採取に用いる容器・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。骨髄は滅菌処理が出来ないため、滅菌チューブを二重梱包し、産業技術総合研究所内セルプロセッシングセンターに搬送する。搬送にあたっては、保冷剤を入れた運搬用クーラーボックスを用いる。1つのクーラーボックスで、複数の症例の骨髄を運搬することはない。運搬中、ボックス内は、ほぼ一定の温度(10~30℃)に保たれていることを確認する。また、本方法にて搬送した骨髄の安全性および有効性を確認している。培養に用いる牛胎児血清は牛海綿状脳症の発生していない地域原産で放射線照射処理されたものを使用する。調整した液体培地は、0.22umフィルターによりフィルター滅菌を行った後、細菌・真菌検査、エンドトキシン検査を行う。骨髄は培養開始時に細菌・真菌検査を行い、搬送時の汚染を否定する。培養過程において培養操作時の汚染を否定するため、細菌・真菌検査を行う。さらに最終培地交換時に培養上清より、細菌・真菌検査、マイコプラズマ検査を行い、汚染の最終確認を行う。移植手術予定日にはこれらの検査結果を踏まえて、主治医がその使用の可否を判断する。マイコプラズマ試験はPCR法を用いるため、サンプリング後約1日で結果が得られる。エンドトキシン試験は、培養開始時に作製する調製培地について行っており、培養終了時までには結果が得られる。両試験で汚染が確認された場合は、細胞培養を中止する。</p> <p>現在までに産業技術総合研究所は、大学病院または国立研究機関と共同で80症例以上の自己骨髄由来間葉系細胞培養及び移植を行っているが、すべての症例で細菌、真菌検査の最終判定は陰性であり、術後感染症等の問題は発生していない。また、骨髄の搬送方法は全ての症例で本法と同様の手法を用いており、安全性と有効性が確認されている。動物由来成分を含有する試薬は骨髄採取に用いるヘパリン(ブタ)と液体培地の牛胎児血清だけである。ヘパリンは日本薬局方のもので採用し安全性を確保する。牛胎児血清は牛海綿状脳症との関連が危惧されているが、これまで牛胎児血清を含んでいる液体培地で培養された間葉系幹細胞を投与された患者はすべて、牛海綿状脳症の発症は報告されていない。また、牛海綿状脳症の発生していない地域の血清で、放射線処理済みのものを使用することなど、可能な限りの対処を行う。細胞剥離剤は動物由来成分を含まない、トリプシン様酵素(TrypLE Select: GIBCO カタログ番号12563)を採用する。液体培地に添加する抗菌剤である硫酸ゲンタマイシンは日本薬局方のもので採用する。また移植細胞は、剥離後PBSで複数回洗浄されるため、薬剤の残留は低減する。移植細胞の搬送にはクーラーボックスを使用し一定の温度(10~30℃)に保たれ、12時間以内に島根大学付属病院手術場に搬入移植する。使用した細胞、液体培地は、その一部を後証品として冷凍保存する。</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<p>臨床研究の実施が可能であると判断した理由</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. これまで細胞治療が行われた3例は全例骨髄移植が行われている。これは、間葉系幹細胞が拒絶されないために、免疫細胞も間葉系幹細胞の提供者と同一とする必要があると考えられていたからである。しかし、3例中2例は骨髄移植を行ったが提供者の骨髄が生着せず拒絶された。すなわち、骨髄は患者由来のまま免疫細胞は変わらなかった。しかし、提供者の骨髄が拒絶された2名の患者はどちらも、骨を産生する細胞は提供者の細胞が少数であるが長期間存在していた。このことは、間葉系幹細胞が患者の体内で拒絶されずに、骨を産生する細胞に分化して、生存していることを証明している。 2. ラットの試験において、同種間葉系幹細胞移植は免疫抑制剤を用いることで間葉系幹細胞移植は生存して、骨を形成することが明らかとなっている。 3. 我々が経験した患者は2回細胞治療を行った。1回目は骨髄移植を併用したが、骨髄は拒絶された。2回目は、間葉系幹細胞移植のみを投与したが呼吸状態が改善した。 4. 骨髄移植を併用する場合、患者に抗がん剤を投与して患者の骨髄を破壊する必要がある。その抗がん剤による副作用は、可逆的なものが多いが、後遺症を残したり、場合によっては、致命的な合併症を起こすことがある。しかし、間葉系幹細胞移植は、ラットにおいて抗がん剤を使用しなくても、同種間葉系幹細胞が生着して、骨を産生する。 5. 間葉系幹細胞移植は海外では造血幹細胞移植後の移植片対宿主病(GVHD)、クローン病、1型糖尿病、心血管障害、骨形成不全、先天性代謝疾患などの疾患に臨床応用されている。有効性は各疾患でばらつきがあるが、間葉系幹細胞を投与することの副作用はほとんどなく、安全に行われている。 6. 研究分担者である産業技術総合研究所・セルエンジニアリング研究部門は、骨髄から間葉系幹細胞を培養増殖する経験を有している。約80例のさまざまな疾患を有した患者に対して、培養した間葉系幹細胞を移植している。 7. 島根大学小児科はこれまで数多くの造血幹細胞移植を行っている。その際、移植後に使用する免疫抑制剤の使用経験は十分あり、その管理も合併症なく、安全に行われている。
<p>臨床研究の実施計画</p>	<p style="text-align: center;">別紙参照</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</p>	<p>担当医は患者本人と親権者(法定代理人)への添付の説明文に沿って内容を説明する。ただし、今回の患者は幼少のため理解できないため、親権者(法定代理人)に対する説明となる。さらに、今回は骨髄提供者または提供者の親権者(法定代理人)に対する説明も要する。</p> <p>説明を行った後に、内容の理解を確認した上で、添付書類の同意書を用いて、説明医師と、説明を受けた親権者および骨髄提供者または提供者の親権者(法定代理人)が日付を記載し、署名する。同意文書は2部複写し、1部は親権者および骨髄提供者または提供者の親権者(法定代理人)に手渡し、1部は研究責任者が保管する。原本はカルテに保管する。</p>
<p>説明事項</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1) 被験者用 <ol style="list-style-type: none"> ①臨床研究の目的、意義及び方法 ②予期される効果及び危険性とその対処方法 ③費用負担とその補償 ④他の治療法の有無及びその方法 ⑤研究への協力に同意した後であっても、自らの自由意思でいつでも同意を撤回でき、また、そのことによって不利益を受けないこと。 ⑥個人情報保護の方法及び、研究成果が匿名化の上公表されること。 ⑦知的財産権に関して ⑧問い合わせ・苦情の受付先 2) 骨髄提供者用 <ol style="list-style-type: none"> ①対象疾患に対する説明 ②臨床研究の目的 ③骨髄採取方法 ④予期される効果 ⑤危険性とその対処方法 ⑥他の治療法の有無及びその方法 ⑦個人情報保護の方法及び、研究成果が匿名化の上公表されること。 ⑧知的財産権に関して ⑨問い合わせ・苦情の受付先

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

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	
理由	研究が必要不可欠である 本臨床研究の対象疾患は致死的な重症低ホスファターゼ症であり、先天性疾患であることから被験者は全て乳幼児である。
代諾者の選定方針	被験者の親権者または養育責任者
被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法	1. 間葉系幹細胞を投与することで起こる副作用は、アレルギー反応が挙げられる。それに対しては、抗ヒスタミン剤およびステロイドを前投与して、予防する。 2. 今回使用する免疫抑制剤であるタクロリムス(プロGRAF®)の副作用は、腎障害、高血糖、中枢神経障害(頭痛、けいれんなど)、心不全、高血圧、低マグネシウム血症、高カリウム血症、高コレステロール血症、腹部膨満、下痢、多毛、手指の振戦、感染症などが挙げられる。これらの副作用は、血中濃度に比例するものが多いことから、血中濃度測定を定期的に行い、至適濃度内に管理する。また、症状を観察し、定期的な検査を行うことで、もし副作用が生じた場合、早期に副作用を発見し、対処する。感染症に関しては、抗菌薬内服などで予防に努める。
臨床研究終了後の追跡調査の方法	臨床研究が終了後も、救命された場合、骨の発達を観察する必要があるため、成人になるまで、経過観察する。
臨床研究に伴う補償	
補償の有無	有 ⊖
補償が有る場合、その内容	
個人情報保護の方法	
連結可能匿名化の方法	研究責任者の責任のもと、氏名、生年月日、住所などの個人を特定できる情報を取り除き、代わりに新たな登録番号をつけ、個人を特定できなくする。
その他	研究結果の公表に際しては、個人情報保護法に則り、個人情報の保護に十分配慮する。公表される個人に関する情報としては年齢、疾患名、性別のみである。
その他必要な事項 (細則を確認してください)	①当該研究に係る研究資金の調達方法 骨髄穿刺及び細胞培養にかかる費用は、すべて島根大学と産業技術総合研究所 セルエンジニアリング研究部門 組織・再生工学研究グループが負担をする。骨髄穿刺等の島根大学でかかる費用は、文部科学省・委託研究「平成20年度再生医療実現化プロジェクト」の1つである「重度先天性骨代謝疾患に対する遺伝子改変間葉系幹細胞移植治療法の開発」の研究費より、細胞培養に掛かる費用は産業技術総合研究所 セルエンジニアリング研究部門 組織・再生工学研究グループの運営交付金より資金を調達する。