

平成 23 年 6 月 23 日

大阪大学医学部附属病院から申請のあった
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

大阪大学医学部附属病院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まとめたので報告いたします。

記

1. 消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻に対する自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた組織再生医療の臨床応用
申請者：大阪大学医学部附属病院 病院長 森 正樹
申請日：平成 22 年 11 月 18 日

1. ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻に対する自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた組織再生医療の臨床応用
申請年月日	平成22年11月18日
実施施設及び研究責任者	実施施設：大阪大学医学部附属病院 森 正樹
対象疾患	消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻
ヒト幹細胞の種類	自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞 (ADRC)
実施期間、対象症例数	登録期間（試験開始から2年間）、7症例
治療研究の概要	6ヶ月間の観察期間で治療の安全性を評価することを目的。全身麻酔下に、腹部、臀部又は大腿より脂肪組織を吸引、脂肪組織から間葉系前駆細胞を分離する装置 (Celution CT-800 cell processing system、Cytori Therapeutics 社製) で処理し、幹細胞を多く含んだ濃縮細胞液を抽出する。取り出した濃縮細胞液とフィブリン糊を混和し治療部位に注入する。
その他（外国での状況等）	研究責任者らは、本研究で使用する Celution®800/CRS 自動細胞処理装置を用いて調製した間葉系細胞濃縮液を、乳癌術後の患者に移植し乳房再建を行った。移植後6カ月の follow up で移植部位の組織厚の有意な増加を認め、約80%の症例でほぼ満足しているとの結果を得た。 スペインの García-Olmo らはクローン病患者の瘻孔 (Phase I)、難治性会陰部痔瘻 (Phase II) を対象として臨床試験を実施し、高い治癒率を示している。
新規性について	本研究は、消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻で従来治療では1ヶ月間以上治癒が得られない症例を対象とし、ADRCを移植し安全性を評価する。

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

1) 第1回審議

- ①開催日時： 平成23年2月2日（水）15:00～17:30
（第14回 ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会）

②議事概要

平成22年11月18日付けで大阪大学医学部附属病院から申請のあったヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：難治性皮膚瘻）について、申請者からの提出資料を基に、指針への適合性に関する議論が行われた。

各委員からの疑義・確認事項については、事務局で整理の上申請者に確認を依頼することとし、その結果を基に再度検討することとした。

（本審査委員会からの主な疑義・確認事項）

主な意見

- 非臨床試験が十分に行われていない。動物での本病態モデルが存在しないという説明で、臨床での有効性を予測させる非臨床試験によるデータが得られていません。実験動物を用いて幹細胞やその移植手技についての安全性や作用機序を類推することは可能であるため追加検討が必須である。
- 臨床研究に用いられる ADRC に関しては乳がん切除後の乳房再建などで一定のデータが得られているのみである。その他、海外でのクローン病に対する臨床試験で有用性を示唆する結果が得られているが、この臨床試験は培養した ACS を用いたものであり、本研究で用いられる ADRC と同等の効能が期待できると考えられるのか説明が不十分である。

1. プロトコルについて

- 対象疾患について、消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻とあるが、疾患対象範囲が広範囲すぎる。疾患の病態（皮膚瘻の原因）についての説明が不十分で、細胞治療が必要である理由が明確ではない。
- 脂肪採取（最大 260 mL の脂肪を吸引）を行うとあるが、その詳細を述べるべき。この脂肪採取の段階が、本研究では最も危険性が高く、過日脂肪採取の過程で死亡例が出ている。この手技は形成外科専門医などがかつ実績のある医師が行うべきである。
- 選択基準では、体重の明記がない。大量の脂肪採取を行うため心負荷が大きく、明示限定されなければならない。心機能を選択基準か除外基準に入れるべき。

2. 品質・安全性について

- 細胞の培養は行わないが酵素処理などの調製工程があるため、投与する細胞の無菌性試験等は実施すべき。
- 「ヒト幹細胞臨床研究実施計画書」には非自己由来材料が有（ヒト）とあるが、詳細を明記していただきたい。それぞれの安全性についての説明も必

要。

3. 同意・説明文書について

- 脂肪採取について、その手技・リスクを含めて詳細を説明すべき。この脂肪採取の段階は危険性があることの記載が必要。

2) 第2回審議

- ①開催日時： 平成23年5月20日（金）16:00～19:00

（第15回 ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会）

②議事概要

申請者からの提出資料を基に、指針への適合性に関する議論が行われた。

各委員からの疑義・確認事項については、事務局で整理の上申請者に確認を依頼することとし、その結果を基に再度検討することとした。

（本審査委員会からの主な疑義・確認事項）

2. 品質・安全性について

- ASC と ADRC は CD34 などの表面マーカー発現が同様のため、同等の細胞であるというのは如何なものでしょうか。

3. 同意・説明文書について

- 同意説明文書に新たに付け加えた項目 10) フィブリン製剤について(疑義回答 P. 19)は文章が難しいので、患者さんが理解できるように平易な文章に改めてください。

3) 第3回審議

- ①委員会の開催はなし

②議事概要

前回の審議における本審査委員会からの疑義に対し、大阪大学大学院歯学研究科の資料が適切に提出されたことを受けて、持ち回りにて審議を行った結果、当該ヒト幹細胞臨床研究実施計画を了承し、次回以降の科学技術部会に報告することとした

3. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会における審議を踏まえた第1回審議時からの実施計画及び被験者への同意説明文書などの主な変更内容

（主な意見）

- 動物で瘻孔モデルが作成することができないため、動物瘻孔モデルに代替するものとして、マウスの腹腔内に作成した死腔に対して、脂肪組織由来間葉系細胞（幹細胞）の移植を行い、有効性を確認した。また、ブタの皮下に作成した死腔に対し、本臨床研究で使用する Celution®800/CRS 自動細胞処理装置を用いて調製した自己脂肪組織由来間葉系細胞（幹細胞）とフィブリン糊の移植を行い、安全性を確認した。

○ ヒトの脂肪組織を用いて Celution®800/CRS 自動細胞処理装置 Celution で調製した濃縮細胞液中の細胞は、間葉系幹細胞の表面マーカーである CD34、CD90 などが強く発現し、脂肪組織及び骨組織への良好な分化能が認められ、マニュアルで調製した脂肪組織由来間葉系前駆細胞移と同等の分化能をもつ。一方、海外でのクローン病の臨床試験では、継代培養された脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いているが、CD34 の発現が認められる継代培養 1～3 回の細胞を用い (CD90 は 4 回以上の継代培養でも発現)、治療効果をあげている。

これらのデータから、Celution で調製した濃縮細胞液が、組織再生治療において海外クローン病で用いられた培養脂肪組織由来間葉系前駆細胞と同等の治療効果を示す可能性があると考えられる。

(研究計画書)

○ 消化器外科手術後の手術部位感染に起因する難治性皮膚瘻に限定した。手術部位感染の治療としては、一般にドレナージ、洗浄、搔爬や抗生剤の投与などが行われる。しかし、このような感染巣はしばしば血流不全などを伴うため、再生組織による充填が得られにくい。そのため、数ヶ月にわたり治癒がえられず、体表との間に難治性の瘻孔を形成し、患者の生活の質(Quality of Life: QOL)を著しく低下させる。この様な難治性皮膚瘻の治療には組織充填(大網、筋皮弁充填等)や臓器切除などの再手術を必要とすることも多いが、完全な治癒が得られない症例もみられ、治療期間は延長し、患者の QOL はさらなる低下をまねく。

○ 脂肪採取(脂肪吸引)の手技に関しては、研究責任者らは、これまでに乳癌術後の乳房再建の目的で自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞移植療法を実施した実績を有している。21 例の患者さんから吸引した脂肪量は 124～433mL (平均 259mL) で、出血量はいずれの患者さんの場合も 10g 以下であった。このような実績があるため、脂肪採取は、慎重に行えば安全に実施可能であると考えている。

○ 対象となる患者の体重は、実施責任者らの乳房再建術における患者の体重をもとに、体重 40kg 以上とし、5 番目の選択基準として追加した。また、選択基準の 7 番目として、「心機能に異常のない患者」を追加した。

(品質・安全性について)

○ 試験物である細胞濃縮液の一部を分取し、確認検査用検体として使用し、Celution®800/CRS 自動細胞処理装置 (Cytori Therapeutics 社製) の最終工程で得られる最終洗浄液を用いて無菌性試験を実施することといたします。

○ 「本臨床研究では、瘻孔を自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞でより確実に充填するためにフィルビン糊(販売名:ボルヒール®)が用いられる。ボルヒールは特定生物製品であり、感染症の伝播のリスクは完全に排除できない。」と予想される不利益に追加。

○ ADRCs は ASCs (CD34+/CD31-) 以外に白血球、血管内皮、平滑筋などの多様な集団より構成されている。しかし、分化実験においては ADRCs に含まれる再生(幹)細胞が脂肪細胞、軟骨細胞、骨芽細胞などに分化する事も確認されており、本研究において使用するシステムで得られる ADRCs には十分な ASCs が含まれており、研究に使用可能であると考えている。

(同意説明文書)

○ 「脂肪を吸引する部位に数 mm 程度の穴をあけ、生理食塩水で希釈した止血剤溶液を皮下に十分量注入した後、吸引器具を挿入して脂肪を吸引していきます。脂肪を取り出した後は脂肪吸引をした後の部位を圧迫固定します。脂肪を吸引する際の危険性については、誤って内臓を損傷すること、脂肪吸引する時に脂肪が誤って血管の中に入ってしまうことは完全にはいえません。しかし、そのような事故は極めてまれと考えています。」と追記した。

○ 「ボルヒールは、ヒトの血液から抽出した成分（フィブリノゲン、ヒト血液凝固第Ⅷ因子、トロンビン）とウシ由来の成分（アプロチニン）を含んでいます。これは医薬品として市販されているもので、製薬会社において感染症試験や安全確認試験が十分行われており、さらに加熱処理など可能な限りの安全策が取られています。しかしながら、これまで知られていない病原体などによる感染症などのリスクは完全に否定できないことをご理解、ご了承頂いた上で、本臨床研究に参加するかどうかを決めて下さい。」と修正。

4. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会の検討結果

大阪大学医学部附属病院からのヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：難治性皮膚瘻）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。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成 22年 11月 18日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-15	
	名称	大阪大学医学部附属病院	06-6879-6551 (電話番号) 06-6879-6549 (FAX 番号)
	研究機関の長 役職名・氏名	大阪大学医学部附属病院長	福澤 正洋 

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
消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻に対する自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた組織再生医療の臨床応用	大阪大学大学院医学系研究科 外科学講座消化器外科学・教授・森 正樹

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻に対する自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた組織再生医療の臨床応用
研究機関	
名称	大阪大学医学部附属病院
所在地	〒 565-0871 吹田市山田丘2-15
電話番号	06-6879-5111
FAX番号	06-6879-5207
研究機関の長	
役職	病院長
氏名	福澤 正洋
研究責任者	
所属	大阪大学大学院医学研究科外科学講座消化器外科
役職	教授
氏名	森 正樹
連絡先 Tel/Fax	Tel: 06-6879-3251 /Fax: 06-6879-3259
E-mail	mmori@gesurg.med.osaka-u.ac.jp
最終学歴	九州大学大学院修了
専攻科目	消化器外科
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	
所在地	〒
電話番号	
FAX番号	
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	
氏名	

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<p>臨床研究の目的・意義 (別紙 実施計画書内)</p> <p>「1.研究目的及び2.経緯」 参照)</p>	<p>本研究の目的は、これまで有効な治療法がなかった消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻に対する、自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞移植療法の安全性を評価することである。</p> <p>消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻の治療としては、ドレナージ、洗浄、搔爬、抗生剤投与や人工肛門造設に加えて大網、筋皮弁などを用いた充填や対象臓器の切除などが試みられている。しかし、手術による侵襲が大きい一方で、組織充填後の皮膚瘻再発は高率であり、必ずしも確立された治療法とは言えない。本治療法が確立されると、難治性皮膚瘻の早期治癒、組織充填や臓器切除などの再手術回避の可能性があり、患者の生活の質(Quality of Life: QOL)回復に貢献できる。</p> <p>今回、安全性を主要評価項目として、ヒト幹指針に準じた臨床試験を実施することを計画した。本臨床試験を行うことにより、本治療を先進医療へと進めていくことをめざす。</p>
<p>臨床研究の対象疾患</p>	
<p>名称</p>	<p>消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻</p>
<p>選定理由</p>	<p>消化器外科手術後難治性皮膚瘻による合併症としては、全身性の感染症、膿瘍形成や炎症による癒着に起因する腸閉塞などがある。これらの治療にはドレナージや再手術など侵襲的な治療を必要とすることも多い。また合併症を来さない場合も、長期間にわたる治療が必要となり患者のQOL低下をまねく。難治性皮膚瘻は種々の消化器外科手術後に合併しうるが、病態は多岐にわたり、未だ低侵襲で効果的な治療法は確立されていない。</p> <p>本研究では以上のような問題点を考慮し、消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻を対象とした。</p>
<p>被験者等の選定基準</p>	<p>(別紙 実施計画書内「3.対象疾患と適格基準」参照)</p>
<p>臨床研究に用いるヒト幹細胞</p>	
<p>種類</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>自己脂肪組織を患者自身の腹壁・臀部又は大腿部皮下より採取し、Celution®800/CRS自動細胞処理装置(Cytori Therapeutics社製)を用いて濃縮細胞液を得る。</p>
<p>調製(加工)行程</p>	<p>Celutionにて2,3時間、そのまま移植<input checked="" type="radio"/>有<input type="radio"/>無</p>
<p>非自己由来材料使用</p>	<p><input checked="" type="radio"/>有<input type="radio"/>無 動物種(ヒト)</p>
<p>複数機関での実施</p>	<p><input checked="" type="radio"/>有<input type="radio"/>無</p>
<p>他の医療機関への授与・販売</p>	<p><input checked="" type="radio"/>有<input type="radio"/>無</p>
<p>安全性についての評価</p>	<p>有害事象の有無、種類、重症度、安全度、発現頻度及び発現期間を評価する(詳細は「臨床研究の実実施計画」の「7. 観察・検査・評価項目とスケジュール」、「8. 被験者の安全性の確保」、「15. 統計的考察」を参照)</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の実施が可能であると判断した理由	(別紙 実施計画書内「2.2.4.臨床研究実施が可能であると判断した理由」参照)
臨床研究の実施計画	(別紙 実施計画書「本文全文」参照)
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	別紙12「インフォームド・コンセントに関する手順書」を参照。
説明事項	説明文書「患者さんへ」、及び同意書、同意撤回書書式参照
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	
研究が必要不可欠である理由	該当しない
代諾者の選定方針	別紙5「インフォームド・コンセントに関する手順書」を参照。
被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法	(別紙 実施計画書内「8.被験者の安全性の確保」参照)
臨床研究終了後の追跡調査の方法	<p>研究終了後も定期的外来診療により合併症の有無、及び有効性について評価を行い、カルテに記載するとともに追跡調査のデータとして保管する。臨床研究終了後の追跡調査期間は研究終了後10年間以上とし、定期的な外来受診を促す。</p> <p>なお、臨床研究終了後の定期的外来診療で得られた追跡調査のデータは</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

		なお、「被験者名簿」及び「被験者個人情報」については、追跡調査の目的は、解析には含まない。
臨床研究に伴う補償		
補償の有無	有	無
補償が有る場合、その内容	本臨床研究に起因する有害事象が発生した場合、研究者は医学上最善の処置を取る事により被験者の回復に努める。この際には、日常の治療の場合と同様に、保険診療により検査及び治療を行うことになり、別途、補償制度はない。	
個人情報保護の方法		
連結可能匿名化の方法	症例の取り扱いにおいては、被験者識別コードを付与し、「被験者名簿」に記載する。責任者は被験者名簿を保管する。被験者識別コードは、プロジェクト承認番号を特定する6桁の英数字、被験者を特定する3桁の数字から構成される。後者の3桁は同意を取得した患者に001番から順に番号を付与する	
その他	本研究に関わるものは被験者の個人情報の保護に最大限の努力を払わなければならない。また、本研究に関与した者は原資料の直接閲覧などにより被験者の個人情報に関わる事項を知り得た場合にも、その内容をいかなる第三者に漏洩してはならない。	
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	
	本臨床研究にかかる費用は、研究責任者(又は大阪大学医学部附属病院)が負担する。	
	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	
<p>脂肪組織由来の間葉系前駆細胞(幹細胞)を用いた前臨床研究として、ラット、ブタ等を用いた急性心筋梗塞、慢性心不全、末梢動脈傷害に対する研究がおこなわれその成果が報告されている。</p> <p>また、乳癌術後の乳房再建、前立腺手術後の排尿障害、肺癌放射線治療後の瘻孔治療(海外)、クローン病患者の瘻孔、及び難治性会陰部痔瘻を対象とした臨床試験(海外)も報告されている。しかし、術後の難治性皮膚瘻に関する報告はなく、本研究が国内における初の試みである。</p> <p>また、肺癌放射線治療後の瘻孔治療(海外)、クローン病患者の瘻孔、及び難治性会陰部痔瘻を対象とした臨床試験(海外)においては、細胞の培養が行われており、非自己由来生体材料が用いられていたが、本研究では得られた細胞を培養することなく使用するため、より安全性の高い治療法であると考えられる。</p>		

備考1 各用紙の大きさは、日本工業規格A4とすること。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

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「別紙〇参照」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 (リストナンバー3:別紙1)
- 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況 (リストナンバー:14-17、20-22)
- 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 (リストナンバー:4)
- 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況 (実施計画書及びリストナンバー4に記載)
- 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 (リストナンバー6)
- 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等 (リストナンバー10-12)
- その他(資料内容: リストナンバー5 試験物概要書)
- その他(資料内容: リストナンバー7及び8 製品標準書及び標準作業手順書)
- その他(資料内容: リストナンバー13 ヒト幹細胞臨床研究規定及び審査委員会名簿)
- その他(資料内容: リストナンバー18及び19 症例登録書及び報告書)
- その他(資料内容: 参考文献)

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

要約

項目	内容
研究課題	消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻に対する 自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた組織再生医療の臨床応用
総括責任者	森 正樹（大阪大学大学院医学研究科外科学講座消化器外科）
対象疾患	消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻
ヒト幹細胞の種類	自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞(ADRC)
実施期間および対象症例数	臨床研究登録期間は病院長の実施許可を受けたときから2年とする。 臨床研究実施期間は、病院長の実施許可を受けたときからすべての登録症例の臨床研究が終了又は中止する時点までの期間とする。 目標登録症例数は7例とする。
治療研究の概要	本研究の目的は、これまで有効な治療法がなかった消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻に対する、自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞移植療法の実施期間の安全性を評価することである。消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻の治療としては、ドレナージ、洗浄、搔爬、抗生剤投与や人工肛門造設に加えて大網、筋皮弁などを用いた充填や対象臓器の切除などが試みられている。しかし、手術による侵襲が大きい一方で、組織充填後の皮膚瘻再発は高率であり、必ずしも確立された治療法とは言えない。本治療法が確立されると、難治性皮膚瘻の早期治癒、組織充填や臓器切除などの再手術回避の可能性があり、患者の生活の質(Quality of Life: QOL)回復に貢献できる。今回、患者数を増やし有効性を主要評価項目として、ヒト幹指針に準じた臨床試験を実施することを計画した。本臨床試験を行うことにより、本治療を先進医療へと進めていくことをめざす。
その他（外国での状況や新規性について）	脂肪組織由来の間葉系前駆細胞（幹細胞）を用いた前臨床研究として、ラット、ブタ等を用いた急性心筋梗塞、慢性心不全、末梢動脈傷害に対する研究がおこなわれその成果が報告されている。 また、乳癌術後の乳房再建、前立腺手術後の排尿障害、肺癌放射線治療後の瘻孔治療（海外）、クローン病患者の瘻孔、及び難治性会陰部痔瘻を対象とした臨床試験（海外）も報告されている。しかし、術後の難治性皮膚瘻に関する報告はなく、本研究が国内における初の試みである。 今回、患者数を安全性を主要評価項目として、ヒト幹指針に準じた臨床試験を実施する。本試験の成果を基盤として、本方法が先進医療

	に認可されることをめざしている。
観察検査項目およびスケジュールの概要	<p>治療の実施に際し、採取した自己脂肪組織由来細胞から精製した濃縮細胞液による、細胞移植療法が可能であったかを記録する。自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞移植療法を実施または完遂できなかった場合はその理由を調査する。</p> <p>手術日、1、2、4、12、24週後、またはプロトコール治療中止・終了時に臨床症状（全身、局所）の観察、臨床検査、画像診断を行い、本研究における有害事象の有無、程度（CTCAE v4.0のGrade）、重篤か否か、発現頻度及び発現期間の評価を行う（表 観察・検査スケジュール参照）。皮膚瘻からの排液が消失し、画像検査上膿瘍、皮膚瘻再発が認められない場合を皮膚瘻閉鎖と診断し、1、2、4、12、24週後における皮膚瘻が閉鎖した症例の割合（皮膚瘻の閉鎖率）を評価する。</p>
主要評価項目および副次的評価項目	<p>主要評価項目は、本研究における有害事象の有無、程度（CTCAE v4.0のGrade）、重篤か否か、発現頻度及び発現期間とする。</p> <p>副次評価項目は、自己脂肪由来間葉系前駆細胞移植療法完遂、難治性皮膚瘻の閉鎖率とした。</p>

表 観察・検査スケジュール

観察・評価日		治療前	手術日	1 週後	2 週後	4 週後	12 週後	24 週後	中止時
許容範囲		手術日より -6 週	0 日※	±2 日	±4 日	±1 週	±4 週	±4 週	
臨床症状 (全身)	バイタル サイン	○	○	○	○	○	○	○	○
臨床症状 (局所)	脂肪組織 採取部位	○	○	○	○	○	○	○	○
	細胞移植 部位	○	○	○	○	○	○	○	○
臨床検査	血液	○		○	○	○	○	○	○
	尿	○		○	○	○	○	○	○
画像診断	CT and/or MRI	○			○	○	○	○	○
	造影検査	○			△	△	△	△	△
	内視鏡	△			△	△	△	△	△

※：手術後に実施

○：実施する

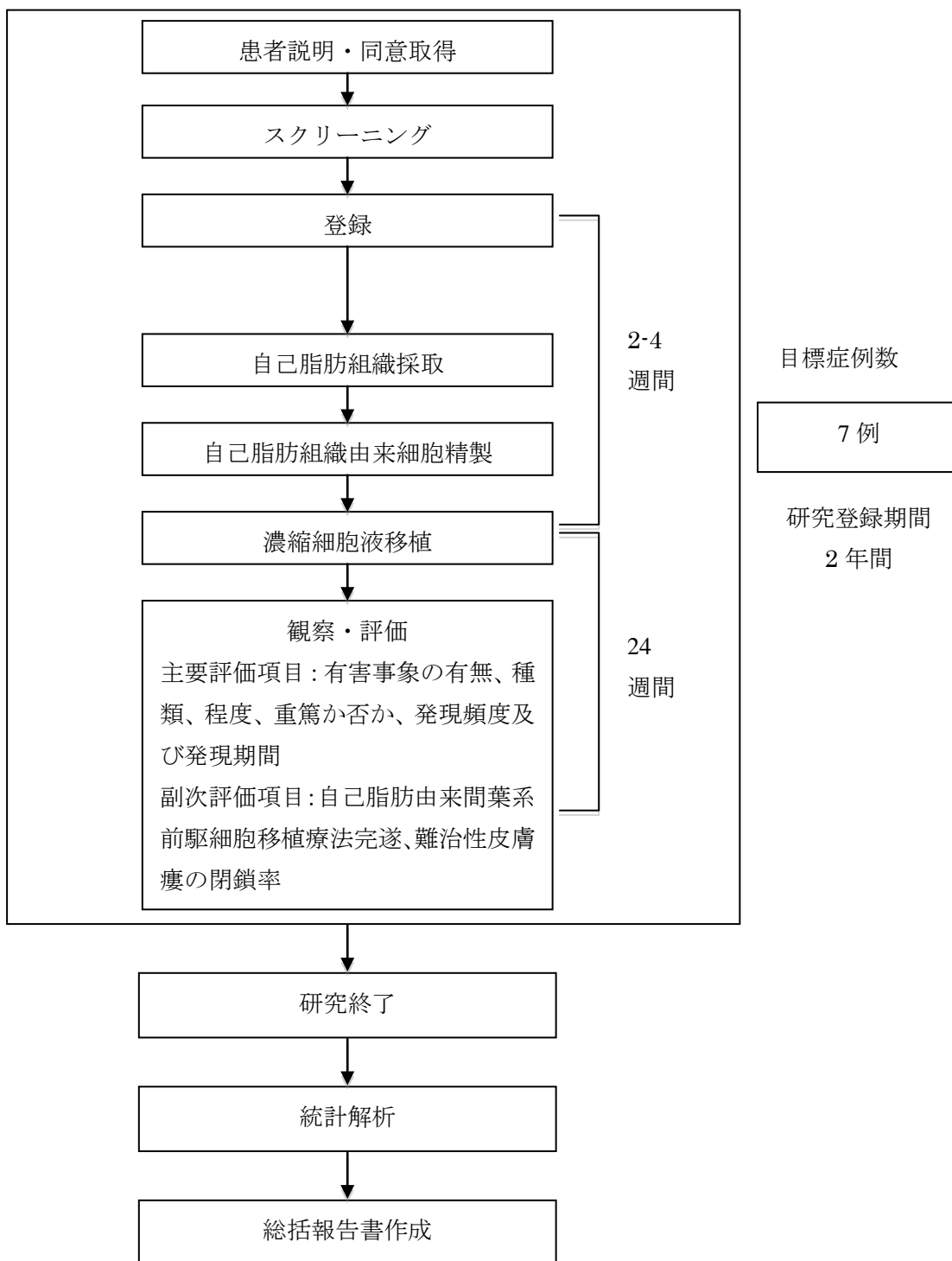
△：造影検査（2週後、4週後、12週後、24週後、中止時）

皮膚瘻の再発があれば実施する

内視鏡（治療前、2週後、4週後、12週後、24週後、中止時）

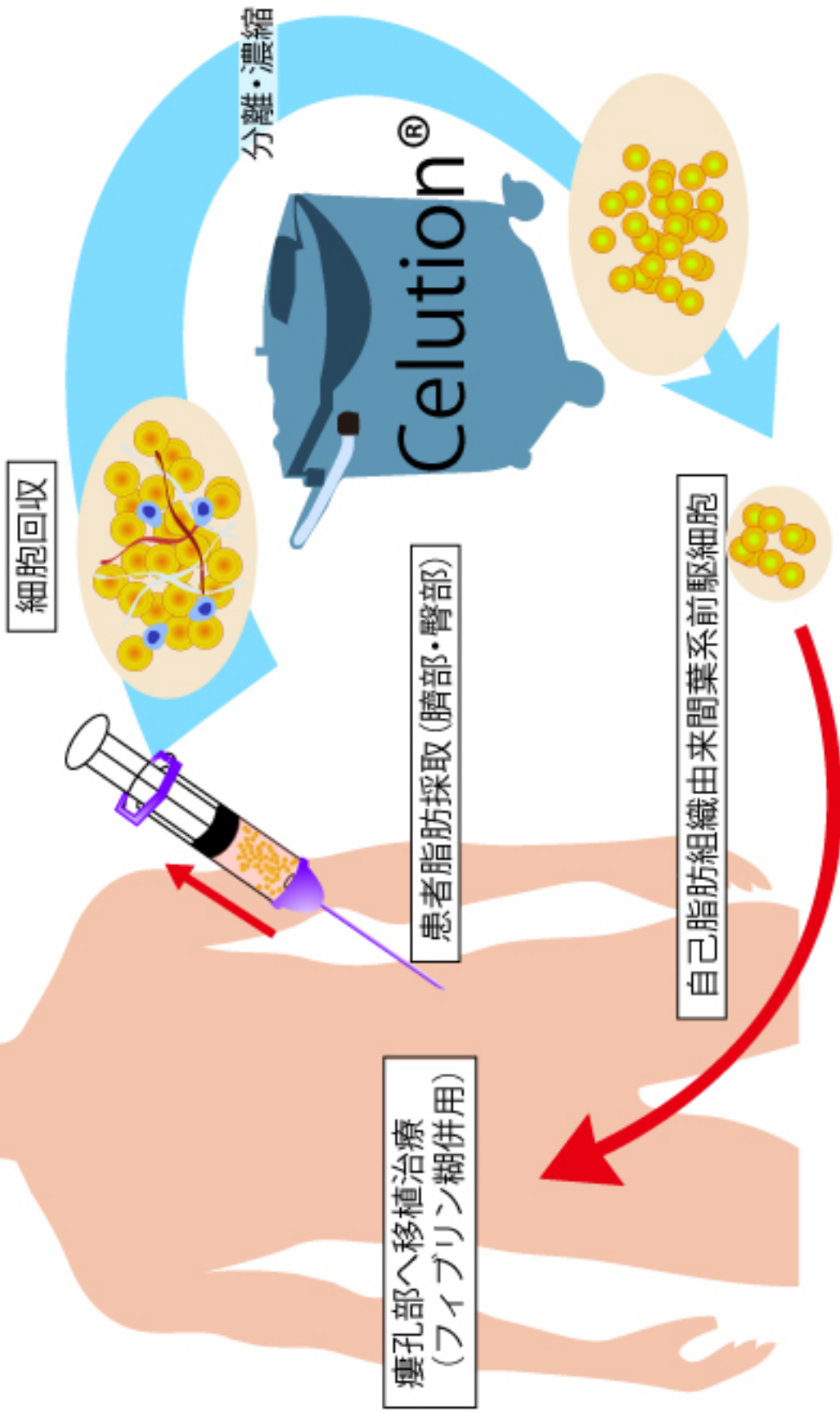
治療前評価が可能であれば実施する

臨床研究シエーマ



手術当日

一度の外科手術中に採取から濃縮・移植までを完結



患者さんへ

臨床研究課題名「表皮水疱症患者を対象とした骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究」
研究責任者 大阪大学大学院医学系研究科再生誘導医学寄附講座教授 玉井 克人

1. はじめに

この説明文書は、あなたに「表皮水疱症患者を対象とした骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究」の臨床研究の内容を正しく理解していただき、自由な意思に基づいて、この臨床研究に参加するかどうかを判断していただくためのものです。不明な点があればどんなことでも気軽に質問して下さい。

2. 臨床研究の目的①

この臨床研究は、接合部型および栄養障害型表皮水疱症の患者さんを対象として、ご家族の方をドナー（細胞を提供される方）とした骨髄間葉系幹細胞移植術が安全であるか、効果があるかについて評価することを目的としています。

この臨床研究を通じて、新たな再生医療確立の礎を築き、また、この治療法を確立させることで、表皮水疱症の患者さんの生活の質の向上に役立てたいと考えています。

3. 臨床研究の意義②

表皮水疱症は難治性疾患（治りにくい病気）の一つで、皮膚とその下の真皮をつなぐために必要な接着分子に生まれつき異常があるため、日常生活の中で軽い力が加わっただけで皮膚に水疱・潰瘍が生じる病気です。症状が進行すると、手の指が癒着したり、食道がせまくなったり、さらには皮膚有棘細胞癌という皮膚がんを合併する事もあります。しかし、残念ながら、現在も表皮水疱症を完全に治す治療法はありません。

私たちはマウスを用いた研究を行い、その結果、骨の中の骨髄にある間葉系幹細胞が、皮膚を構成する細胞に変化して、皮膚と真皮がつながる領域に欠けている接着分子（VII型コラーゲン）を作ることが確認されました。また、マウスの皮膚潰瘍部に直接移植した間葉系幹細胞が、皮膚潰瘍が治った後も移植した皮膚に長期間とどまっていることが確認されました。

この結果を元に、南米チリの研究グループが、骨髄間葉系幹細胞を用いて栄養障害型表皮水疱症の成人の患者さんに治療を行いました。その結果、元々患者さんの皮膚に欠けていた接着分子（VII型コラーゲン）が、移植後7日目で皮膚と真皮がつながる領域に存在し、難治性潰瘍が上皮におおわれ、その治療効果が移植から4カ月間続いたことが確認されました。

一方、わが国では表皮水疱症の患者さんに間葉系幹細胞を移植する治療はまだ行われておらず、今回この臨床研究を計画するに至りました。

今回の臨床研究で行う治療だけでは、表皮水疱症を完全に治癒させることは出来ませ

んし、骨髄間葉系幹細胞を移植して良くなった潰瘍部位も、数ヶ月後には再び水疱や潰瘍が出来てしまうことが予想されます。しかし、これまでずっと閉鎖しなかった潰瘍が今回の臨床研究で閉鎖すれば、例えまたそこに水疱が出来ても治り易くなることが期待できます。さらに、今回の臨床研究で骨髄間葉系幹細胞移植の安全性と有効性が確認されれば、近い将来に全身性骨髄間葉系幹細胞移植（静脈から間葉系幹細胞を全身性に投与する）を進めることが可能になるかもしれません。そうなれば、1回の治療で沢山の潰瘍を同時に治療することができるようになりますと期待できます。

4. 臨床研究への参加同意の任意性と同意撤回の自由について^{③④}

担当医師からこの臨床研究の説明を詳しく聞いた上で、臨床研究に参加するかどうかをあなたの自由な意思で決めてください。たとえ参加されなくても今後の治療や診療に不利益になることはありません。^③あなたの自由意思により同意書にご記名捺印またはご署名いただいた場合にのみこの治療を行います。

また、この臨床研究の実施中に新しい情報が得られたときには、必ずあなたにお知らせします。

そして、この臨床研究に参加することに同意されたあとでも、治療が開始されてからでも、あなたが同意の撤回をしたいときは、いつでも自由に撤回することができます。

^④同意の撤回の時は、お渡ししている撤回書にご記名捺印またはご署名のうえ、担当医師にご提出下さい。また、撤回されてもそれにより不利益を受けることはなく^④、現在行われている最善の治療を行います。なお、撤回される場合もできる限り、担当医と面談の上、その後の治療法などについて説明を受けるようにして下さい。

5. 治療の方法^⑤

治療方法

この治療法は、ご家族のドナーの方から骨髄細胞をいただき、大阪大学医学部附属病院未来医療センターの無菌的細胞調製装置（CPI：Cell Processing Isolator）というところで骨髄間葉系幹細胞を分離し、10~30日の間培養して増やした後、その細胞を患者さんの皮膚に移植するという治療です。

1) ドナーの方からの血清と骨髄液の採取

ドナーの方より約400mL採血し、分離した血清を骨髄間葉系幹細胞の培養に用います。

また、ドナーの方の腸骨（腰の部分の骨）より局所麻酔をした上で骨髄穿刺針を用いて骨髄液の採取を行います。1回の吸引あたり約2~5mLの骨髄液を吸引し、合計約20mLの骨髄液を採取します。

2) 骨髄間葉系幹細胞の培養

採取した骨髄液から骨髄細胞を培養し、骨髄間葉系幹細胞を増やします。培養期間は10~30日間です。また、骨髄間葉系幹細胞の数が足りない場合は、培養を中止し、再度ドナーの方の血清及び骨髄液の採取を行います。採取は2回までとし、2回目の培養でも骨髄間葉系幹細胞の数が足りない場合はこの臨床研究を中止します。

3) 患者さんの血清の採取

移植の前日までに、患者さんより約 5mL 採血し、血清を分離します。分離した血清は移植の時に用います。採血の方法は、通常の血液検査の時と同様です。

4) 骨髄間葉系幹細胞移植術

移植を行うために、1 日か 2 日の入院をしていただきます。移植当日は、移植前にごく少量の骨髄間葉系幹細胞を、患者さんの前腕の皮下に投与します。これは、骨髄間葉系幹細胞に対してアレルギー症状が起こらないかを確認するためのものです。もし、移植するまでに重篤なアレルギー症状が起こった場合はこの治療を中止します。

アレルギー症状が起こらないことを確認した後に、皮膚潰瘍周囲の皮下に培養した骨髄間葉系幹細胞を移植します。潰瘍の周囲にそって 2cm 間隔で 1 か所につき 50 万個の骨髄間葉系幹細胞 (250 μ L) を注射器で皮下移植します。

観察項目

患者さんの観察・検査は以下のスケジュール表に従って行います。

観察・検査・ 評価日	スクリーニング	前観察	移植直後 (0 日)	移植後						中止時
				1 週	2 週	4 週	12 週	24 週	48 週	
実施許容期間	8 週 以内	8 週 以内	+3 日	± 3 日	± 3 日	± 5 日	± 1 週	± 2 週	± 3 週	
患者さんの背景	○									
臨床症状の観察	○	○ ^{*2}	○	○	○	○	○	○	○	○
血液検査・尿検査	○	○ ^{*2}	○	○		○			○	○
心電図		○	○						○	○
胸部レントゲン		○	○						○	○
移植対象患部 皮膚生検 ^{*1}		○			創閉 鎖時 ^{*3}	創閉 鎖時 ^{*3}	創閉 鎖時 ^{*3}	創閉 鎖時 ^{*3}	創閉 鎖時 ^{*3}	
有害な事からの 記録										→
併用治療の記録										→

*1：移植後の潰瘍部皮膚生検は、潰瘍部が治癒した時点で 1 回のみ行います。但し、万一研究期間内での治癒が見込めない場合は、そう判断した時点で上皮化している部位から生検致します。

*2：実施許容期間内であれば、スクリーニングの結果を代用できます。

*3：「創閉鎖時」とは、皮膚潰瘍が完全に上皮におおわれた状態を確認出来た時点のことです。

患者さんの観察・検査項目

1) 患者さんの背景

患者さんの生年月日・性別・身長・体重・病気に関する情報などを記録します。

2) 臨床症状の観察

平静状態で、全身症状や移植の対象となる患部を観察します。

3) 血液検査・尿検査

採血、及び検尿を行います。原則として大阪大学医学部附属病院臨床検査部にて測定を行います。

4) 心電図

平静状態で、ベッド上に仰臥位の状態で、検査技師または担当医が計測します。

5) 胸部レントゲン

胸のレントゲン画像を撮影します。原則、立位で撮影します（立位が困難な場合は、仰臥位で撮影します）。

6) 移植対象患部皮膚生検

局所麻酔をした上で、移植部位から、パンチバイオプシー（専用の機器を用います）で直径 6mm の大きさで皮膚を採取します。皮膚の採取は、移植前に 1 回、移植後潰瘍部が治癒した時に 1 回、合計 2 回行います。採取した皮膚を用いて、移植前と、移植後に治癒した皮膚の状態を詳しく調べます。但し、万一研究期間内に治癒が見込めないと判断した場合は、そう判断した時点で上皮化している部分から皮膚を採取します。局所麻酔を行うことによりパンチバイオプシーの際には痛みは生じません。局所麻酔薬の注射時に軽度の痛みは生じますが、その痛みが最小限になるように、極めてゆっくりと麻酔薬を注入いたします。

7) 有害な事からの記録

治療を開始してから、患者さんに起こった有害な事からについて記録します。

8) 併用治療の記録

患者さんが研究に参加している間に行われた、この研究の治療以外の治療について記録します。

参加予定期間

- 1) 治療前観察期間（登録日から骨髄間葉系幹細胞移植前まで）：8 週以内
- 2) 治療後観察期間（骨髄間葉系幹細胞移植術終了から最終検査終了まで）：48 週

この臨床研究に参加できる方

以下のすべての項目に該当する患者さんは、この臨床研究に参加することができます。

- 1) 接合部型または栄養障害型表皮水疱症の方
- 2) 年齢が 20 歳以上 60 歳未満の方
- 3) 6 週間以上治癒していない難治性潰瘍を有する方

- 4) ドナーの適格基準を満たした、同意の得られている性別の異なる親または兄弟姉妹がいる方
- 5) 患者さん本人の文書による同意が得られている方

この臨床研究に参加できない方

以下のいずれかに該当する患者さんは、この臨床研究に参加することはできません。

- 1) 重度の精神疾患を有する方
- 2) アルコール中毒症の方
- 3) 意識障害を有する方
- 4) 皮膚以外のがんがある方、もしくは過去5年以内に皮膚以外のがんにかかった方
- 5) 妊娠又は妊娠している可能性のある方
- 6) 糖尿病を有する方
- 7) その他、研究責任者が移植に適さないと判断した方

参加予定人数

6名の予定です。

この治療の中止・中断について

以下の場合には、患者さんの治療を中止・中断します。

- 1) ドナーの方から骨髄液の採取を2回行ったが、2回とも何らかの理由で基準を満たした骨髄間葉系幹細胞が得られなかった場合、患者さんの治療を中止します。
- 2) 1)の他に、研究の計画を遵守した治療が不可能となった場合、患者さんの治療を中止します。
- 3) 患者さんまたはドナーの方より同意の撤回の申し出があった場合、患者さんの治療を中止します。
- 4) 患者さんに有害な事柄が起り、研究責任者が患者さんについての研究の継続が困難と判断した場合、患者さんの治療を中止します。
- 5) 治療開始後に、患者さんまたはドナーの方がこの臨床研究に参加できる基準を満たしていなかったことが判明した場合、患者さんの治療を中止します。
- 6) この臨床研究全体が中止または中断された場合、実施中の患者さんの治療は可能な時点で中止または中断します。
- 7) その他、研究責任者又は研究分担者が、研究の中止を適切と判断した場合、患者さんの治療を中止します。
- 8) 患者さんの体調の変化などにより一時的に臨床研究の継続が不可能であると判断した場合、患者さんの治療を中断します。その後、回復を待って、可能であれば再開します。

研究を中止する場合、研究を中止する旨を患者さん及びドナーの方に速やかに説明し、適切な治療や必要な措置を行います。

併用薬・併用療法または併用禁止薬・併用禁止療法について

移植前処置として、移植 1 時間前よりソルコーテフ 100mg、ポララミン 5mg の点滴静脈注射を行います。

骨髄間葉系幹細胞を移植する潰瘍と対照として血清を移植する潰瘍には、原則として同じ外用治療を行います。その他の潰瘍部位には必要に応じた外用治療を行います。また、感染症などが合併した場合には、抗生物質の全身投与を行います。

併用禁止薬、併用禁止療法は原則としてありません。

6. 治療の考えられる効果と危険性・不都合^⑥

考えられる治療効果

この臨床研究は、重症表皮水疱症に対する骨髄間葉系幹細胞移植治療の安全性と有効性を検討する目的で行われます。今回の治療で表皮水疱症が治癒するわけではありません。また、治療により潰瘍が閉鎖した場合も、数ヶ月後に再び同じ場所に水疱が生じる可能性もあります。しかし、この臨床研究を行うことにより長期間閉鎖しない皮膚潰瘍に対する骨髄間葉系幹細胞移植の効果が患者さんに認められれば、これまで他の治療法では望めなかった早期の潰瘍閉鎖が可能になり、さらに将来的には、全身性に骨髄間葉系幹細胞を移植する新しい治療も可能となることが期待できます。その結果、疾患により制限されていた生活の質が大きく改善されることが予想されます。

考えられる危険性と不都合

この研究における治療には、1 日から 2 日間の入院が必要であり、その間の生活が制限されることとなります。また、患者さんに以下に挙げる有害な事らが生じる可能性があります。

1) 予想される有害な事らとそれらに対する対処

(1)感染症

本研究で使う細胞は、大阪大学医学部附属病院の中に設置した cell processing isolator(CPI)の清潔な完全閉鎖空間の環境の中で作られており、さらに細菌やカビ、マイコプラズマなどの微生物に感染していないかの検査をして合格したものだけが患者さんに移植されます。しかし、一部の検査は、菌の培養に時間がかかり、非常に稀ではありますが、移植前の検査では陰性であったものでも移植が終わった後に陽性の結果が出る場合もあります。その場合は、患者さんの状態を観察した上で、適切な抗生剤などの投与により対処させていただきます。

(2)アナフィラキシーショック

自分のものではない細胞を移植しますので、アレルギー反応によって呼吸困難や血圧の低下で、ショック状態になる可能性は否定できません。また、移植や生検の際に局所麻酔を行います。局所麻酔剤によっても、ごくまれにアナフィラキシーショックを起こすことがあります。

この臨床研究で使う細胞の培養工程では、抗生剤、抗真菌剤を使っております。これらの薬剤は、人の治療にも使われるもので決して危険なものではありません。また、途中、十分に洗浄しますので患者さんに投与する最終の細胞には、これらの薬剤は殆ど含まれておりません。しかし、アレルギー反応はごく微量の薬剤でも起

こることが有ります。その結果、湿疹、発熱、局所の痛みやアナフィラキシーショックを起こす可能性も全く無いとは言えませんので、移植の時には十分観察をし、異常が生じた際には適切な処置を行います。

万が一ショック状態になった場合には、すぐに副腎皮質ステロイドやエピネフリンなどの血圧を上げるお薬を投与します。また、呼吸が安定しない時には人工呼吸管理を行うこともあります。

(3)皮膚の発疹

移植した細胞の影響で皮膚に発疹ができる可能性があります。その場合には、副腎皮質ステロイドや抗ヒスタミン薬などの発疹を抑えるお薬で対処します。

(4)発熱

移植した細胞の影響で発熱が起こる可能性があります。その場合には、発熱の原因を診断し、解熱剤の内服で対処します。

これらの有害な事がらには通院、入院などによる処置が必要となる場合があります。また、予期しない有害な事がらにより障害が残ることや、死亡の可能性も完全には否定できません。

7. 他の治療方法^⑦について

表皮水疱症によって起こる水疱・潰瘍に対する創傷処置や、感染症に対する抗生剤の投与などの症状について対症療法を行っています。表皮水疱症そのものを完全に治す治療法は全く無いのが現状です。

8. 個人情報の保護^⑧

臨床研究の結果は、今後新しい一般的な治療法として国などの許可を得るために使用されたり、医学雑誌などに発表されたりすることがありますが、その際に患者さんのお名前や身元などが明らかになるようなことはありませんし、患者さんや患者さんのご家族の個人情報が外部に漏れる心配は一切ありません。

また、あなたがこの治療に参加されることを承諾されますと、治療の内容や結果について確認するために、審査委員会（臨床研究の実施に関して決定する委員会）の人などが、あなたのカルテ等の内容を見ることについても御了承いただいたこととなります。これらの人達は、法律上の守秘義務があり、あなたやあなたのご家族の個人情報が外部に漏れる心配は一切ありません。

9. 臨床研究結果の開示・公表^{⑨⑩}

この臨床研究では、その性格上研究結果（効果と危険性や不都合）が直接患者さんの利益・不利益と関わっています。従って患者さんの治療結果から得られた種々の情報に関しては、患者さん本人に対し説明いたします^⑨が、第三者からの要求に対して患者さんから得られた情報を開示することはありません。^⑩ただし、臨床研究の結果得られた成果は医学上貴重な知見ですので、研究に参加された方々の個人情報が明らかにならな

いようにしたうえで、学会、学術雑誌、データベース上で公開されたり、他の機関に結果を提供する場合があります。^⑩その際に、患者さんのお名前や身元などが明らかになるようなことはありませんし、患者さんや患者さんのご家族の個人情報が外部に漏れる心配は一切ありません。

10. 治療の費用について^⑩

この治療にかかる費用は大阪大学医学部附属病院が負担します。あなたがこの臨床研究にご参加いただくことによってあなたの負担が増えることはありません。

なお、交通費や謝礼金などの支給はありません。

11. 臨床研究の資金源^⑪について

この臨床研究はいかなる企業からも資金援助を受けておりません。

12. 臨床研究から生じる知的財産権について^⑫

この臨床研究の結果として生じる知的財産権や著作権は、臨床研究に参加された患者さんではなく、大阪大学と研究チームに属して臨床研究を行う者の所有となります。

13. 臨床研究組織と研究期間について

この臨床研究は、大阪大学大学院医学系研究科再生誘導医学寄附講座教授玉井 克人を中心とするこの研究のチームメンバーが、大阪大学医学部附属病院において、平成〇〇年から2年間行います。チームメンバーは必要に応じ増減することがあります。

14. 健康被害が発生した場合の補償について^⑬

この治療が原因であなたが何か異常を感じた場合は、速やかに担当医師にご連絡ください。最善の治療を行います。

この臨床研究が原因で、研究に参加されている患者さんに健康被害が発生した場合、補償は有りませんが、医師が最善を尽くして適切な処置と治療を行います。この場合、通常の治療と同様に保険診療により治療や検査をおこないます。

15. 臨床研究期間終了後の対応^⑭

臨床研究期間が終了した後もなるべく通院を続けていただき、副作用などが起こっていないかについて観察を続けます。また、体調の不良などの場合はご連絡下さい。

他の医療機関を受診した場合、たとえ今回の治療とは関係のない病気で受診したとしてもこの治療を大阪大学で受けたことをその病院の主治医にお伝えしてください。

16. 試料の保存について^⑮

今回の治療に使った細胞やあなたの血液などの試料は、将来万が一有害な事態が起こ

ったときなどに原因を調べるため、研究終了後 20 年間は大阪大学医学部附属病院 未来医療センター内の保存施設に保存されます。これらの試料は他の目的に使われることはありません。また、試料保存期間の終了後は大阪大学医学部附属病院で定められた処理要項に従って適切に廃棄処分されます。保存試料そのものにあなたのお名前は記載されておりませんし、これらの試料は全て個人を特定できないような記号を使って取り扱われます。試料からあなたの情報が漏れることはありませんし、お名前と試料との対照表は鍵のかかる書庫に厳重に保管されます。

17. 参加に伴い守っていただきたい事項

- ① この臨床研究への参加中は、治療スケジュールに沿って来院してください。
- ② 他の医師にかかるときは、この臨床研究に参加している旨を伝えてください。

18. 担当医師への連絡^⑦

この治療について、心配なことや、わからないこと、何か異常を感じられた時は、いつでも遠慮なく担当医師に申し出てください。

研究機関 名称：大阪大学医学部附属病院
所在地：大阪府吹田市山田丘 2-15
実施診療科（部） 大阪大学大学院医学系研究科再生誘導医学寄附講座
臨床研究責任者 職・氏名 教授・玉井 克人
担当医師 職・氏名
連絡先電話番号
(時間外緊急連絡先)
相談窓口 担当コーディネーター 氏名
未来医療センター 電話番号<平日 8:30~17:00> 06-6879-5111 (代表) (内線 6552)

同意を撤回される場合も上記担当医師に連絡して下さい。

19. 臨床研究の開示^⑩

この臨床研究の詳細については以下の URL に公表しており、いつでも自由に見ることができます。

大学病院医療情報ネットワーク (UMIN) 内の UMIN 臨床試験登録システム
(<http://www.umin.ac.jp/ctr/UMIN-CTR.....>)

(第 1 版 (案) 作成年月日 : 2010 年 月 日)

同意書

大阪大学医学部附属病院長 殿

研究題目 : 消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻に対する
自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた組織再生医療の臨床応用

私は、上記研究題目における研究に(研究対象者氏名)が参加するにあたり、担当医から以下の項目について、説明文書および口頭にて説明を受け、私の自由意思による参加の中止が可能であることを含め理解しましたので、この研究に参加することに同意します。

私は、本研究の説明を受け理解した項目について、□の中にレを記入しました。

- 研究の目的、意義
- 臨床研究への参加の同意と同意の撤回について
- 治療の方法
- 治療の考えられる効果と危険性・不都合
- 他の治療方法について
- 個人情報の保護
- 臨床研究結果の開示・公表
- 治療の費用について
- 臨床研究の資金源について
- 臨床研究から生じる知的財産権について
- 臨床研究組織と研究機関について
- 健康被害が発生した場合について
- 臨床研究期間終了後の対応
- 資料の保存について
- 参加に伴い守っていただきたい事項
- 担当医師への連絡

本人署名 : _____ (印)
署名年月日 : 西暦 年 月 日
立会人署名 (続柄) : _____ () (印)

私は担当医として、今回の研究について上記の項目を説明し、インフォームドコンセントが得られたことを認めます。

担当医署名 : _____ (印)
署名年月日 : 西暦 年 月 日
同席者署名 : _____
(複数署名可) _____

同 意 撤 回 書

大阪大学医学部附属病院長 殿

研究題目 : 消化器外科手術に伴う難治性皮膚瘻に対する
自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた組織再生医療の臨床応用

私は、上記研究題目における研究に(研究対象者氏名) _____ が
参加するにあたり、担当医から説明を受け、十分理解し同意しましたが、私の自由意
思による参加の中止も自由であることから、この研究参加への同意を撤回したく、こ
こに同意撤回書を提出します。

本人署名 : _____ (印)
署名年月日 : 西暦 年 月 日
立会人署名 (続柄) : _____ () (印)

私は担当医として、今回の研究について、同意が撤回されたことを認めます。

担当医署名 : _____ (印)
署名年月日 : 西暦 年 月 日
同席者署名 : _____
(複数署名可) _____