

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書


平成 24年 7月 13日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	〒163-6003 東京都新宿区西新宿 6-8-1 住友不動産新宿オークタワー3 階 電話：03-5324-5577 FAX：03-5324-5580
	名称	Shinjuku ART Clinic
	研究機関の長 役職名・氏名	長田尚夫 (Shinjuku ART Clinic 院長) 

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。

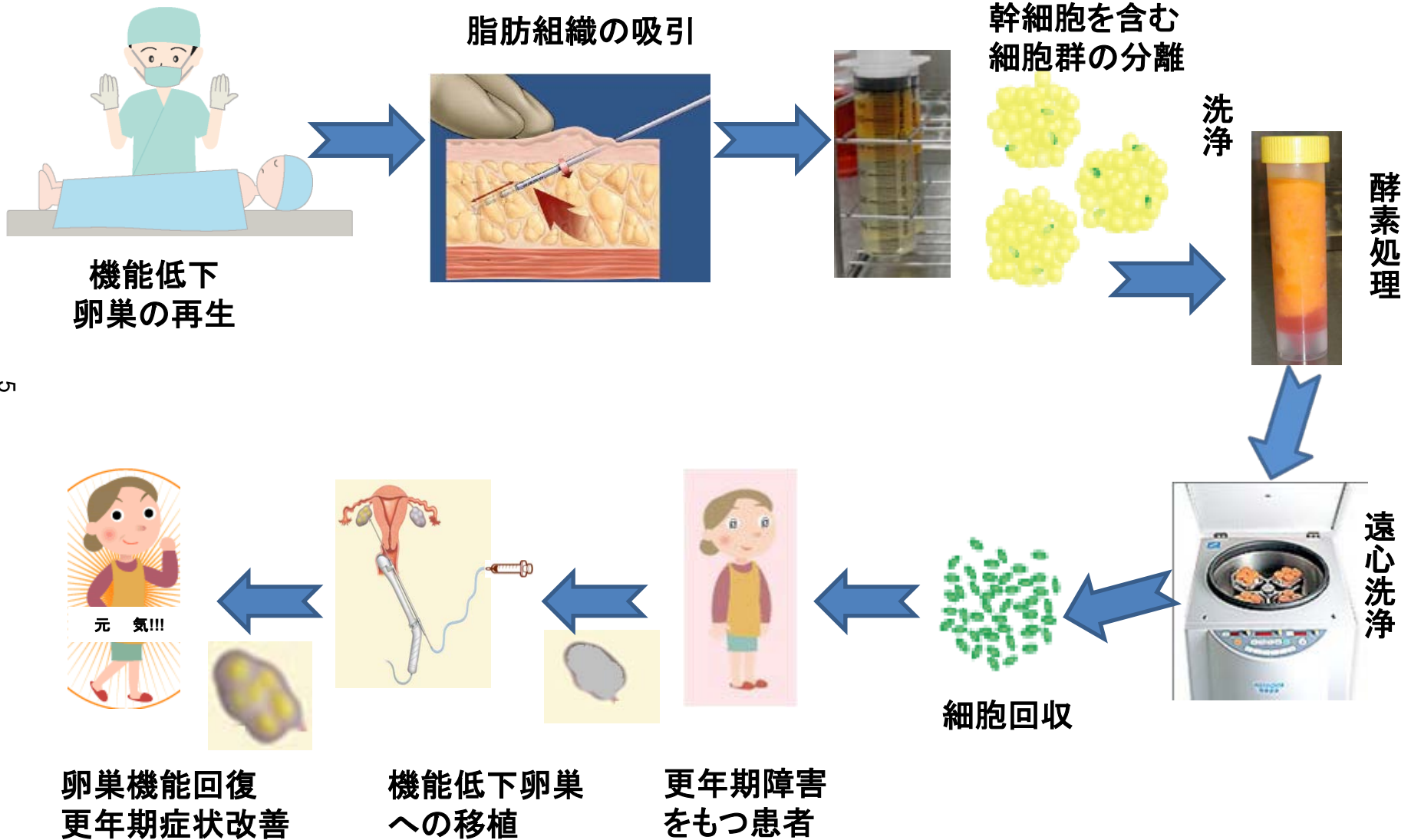
記

ヒト幹細胞臨床研究の課題名	研究責任者の所属・職・氏名
自己皮下脂肪由来間葉系幹細胞を用いた卵巣機能低下症の改善に関する臨床研究	加藤修 (Shinjuku ART Clinic 顧問) (加藤レディースクリニック院長) 

1. ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

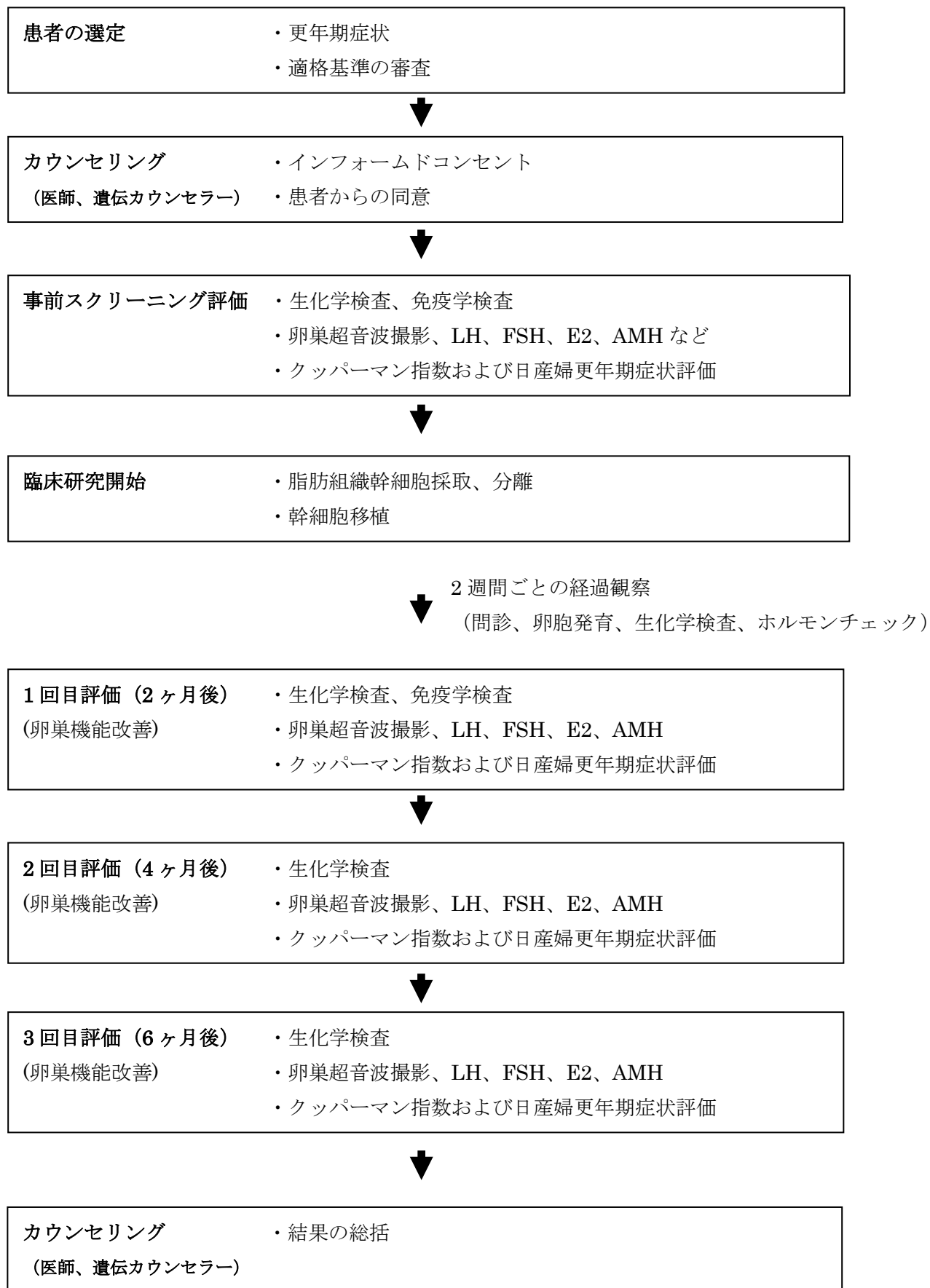
研究課題名	自己皮下脂肪由来間葉系幹細胞を用いた卵巣機能低下症の改善に関する臨床研究
申請年月日	平成24年7月13日
実施施設及び研究責任者	実施施設：Shinjuku ART Clinic 加藤 修
対象疾患	更年期障害を伴う卵巣機能低下症患者
ヒト幹細胞の種類	自己皮下脂肪由来間葉系幹細胞
実施期間及び対象症例数	登録期間：本研究計画の承認後3ヶ月、人数が満たない場合はさらに3ヶ月延長する。5症例。
治療研究の概要	下腹部または臀部より皮下脂肪組織を採取し、洗浄後コラゲナーゼで処理、遠心分離を行って間葉系幹細胞を含む細胞を得る。培養を行わず更年期症状を示す患者の卵巣に経膈超音波装置ガイド下に移植する。移植効果は移植後6ヶ月間、血液、超音波検査とクッパーマン更年期症状指数等を用い評価する。
その他（外国での状況等）	Fuらにより、抗がん剤を用い卵巣機能を低下させたラットに対し骨髄由来間葉系幹細胞が投与され、卵巣機能の改善が示されている。 更年期障害に対する治療法は完全には確立されておらず、対症療法として海外では主にホルモン補充療法が選択されるが、本邦ではあまり浸透していない。本研究では、卵巣自体の機能回復を試みることにより更年期障害の根本的な治療法の確立を目指す。
新規性について	間葉系幹細胞のヒト卵巣への移植例はない。

自己皮下脂肪由来間葉系幹細胞を用いた卵巣機能低下症の改善に関する臨床研究





治療計画

自己皮下脂肪由来間葉系幹細胞を用いた卵巣機能低下症の改善に関する臨床研究



ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	自己皮下脂肪由来間葉系幹細胞を用いた卵巣機能低下症の改善に関する臨床研究		
研究機関			
名称	Shinjuku ART Clinic		
所在地	〒163-6003 東京都新宿区西新宿6-8-1 住友不動産新宿オークタワー 3階		
電話番号	03-5324-5577		
FAX番号	03-5324-5580		
研究機関の長			
役職	Shinjuku ART Clinic院長		
氏名	長田 尚夫 (Shinjuku ART Clinic 院長)		
研究責任者			
所属	Shinjuku ART Clinic/加藤レディースクリニック		
役職	Shinjuku ART Clinic顧問/加藤レディースクリニック院長		
氏名	加藤 修		
最終学歴	金沢大学医学部卒業		
専攻科目	産婦人科学		
連絡先	Tel/Fax	Tel: 03 - 3366 - 3782 /Fax: 03 - 3366 - 3908	
	E-mail	n-aoyama @ towako-kato.com	
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	該当なし		
所在地	〒		
電話番号			
FAX番号			

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

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	該当なし
氏名	
臨床研究の目的・意義	<p>生殖適齢期の健全な女性の場合、卵巣では周期的に卵胞が発育し、その卵胞中の顆粒膜細胞がエストロゲン(女性ホルモン)などを分泌する。一般的に年齢が高くなり閉経期に近づくと卵巣は卵胞を発育させることができなくなり、それに従いエストロゲンの分泌量も減少し、更年期障害を起こす。更年期障害には、自律神経失調症、倦怠感、うつ、不眠、骨粗鬆症、動脈硬化などが挙げられるが、日常生活に著しい支障をきたす重篤な症例も散見される。これに対して、エストロゲン、プロゲステロンなどのホルモン補充療法、および漢方、向精神薬投与などの対症療法が行われるが、根治療法に至っていないのが現状である。本研究の目的は、更年期障害の根本的な原因である卵巣機能低下に対し、自己脂肪組織由来間葉系幹細胞を局所移植することにより、卵巣機能改善を試み、その有効性と安全性を評価することである。本治療方法の確立によって、重篤な更年期症状を回避し、多くの女性における生活の質(QOL)を向上させることが大いに期待される。</p>
臨床研究の対象疾患	
名称	更年期障害を伴う卵巣機能低下症患者
選定理由	<p>卵巣は、ホルモン分泌を司る非常に重要な臓器のひとつであるが、一般的に女性の年齢が高くなり閉経期に近づくと機能低下をきたす。機能低下した卵巣では卵胞が発育できず、卵胞中の顆粒膜細胞より産生されるエストロゲンなどの分泌が減少することにより更年期障害を引き起こすとされている。更年期障害は、更年期を迎えた女性の約半数が、何らかの治療対象者となると言われている。症状としては、自律神経失調を主とした不定愁訴を中心とし、月経不順、顔のほてり、のぼせ、手足の冷え、動悸、めまい、抑鬱、不眠、頭重感、疲労感、肩こり、腰痛、関節痛、手足のこわばりなどが挙げられるが、場合によっては重篤な骨粗鬆症や高脂血症などを引き起こすこともある。これまでのところ、根本的な治療法は確立されておらず、対症療法に頼らざるを得なかった。近年、機能低下させたラット卵巣への間葉系幹細胞移植によって、卵巣機能の回復が認められたとの報告が、Fuら別紙5 文献1)によってなされた。当院におけるラットの実験でも同様の効果を認め、明らかな副作用は認めなかった。これらのことから、ヒトにおいても間葉系幹細胞移植によって同様の卵巣機能改善効果が得られ、更年期障害の改善が期待される。更に、ヒトにおいては自己由来の脂肪組織を用いることから、免疫拒絶反応や感染症などの問題も起こりにくいと考えられる。</p>
被験者等の選定基準	<p>適格基準</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 更年期障害を認める者、且つ、月経3日目の血中FSH値が20mIU/ml以上のため、卵巣機能低下が認められる者を対象とする。 2) 60歳未満の女性 3) 患者本人の文書による同意が得られている者 <p>除外基準</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 事前のスクリーニング検査において肝炎およびHIV陽性者 2) 重度の精神疾患を有する者 3) アルコール、薬物中毒症を有する者 4) 妊娠している者 5) 慢性疾患を有する者 6) 卵巣腫瘍を有する者

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	7) 悪性疾患を有する者
臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	自己腹部皮下脂肪由来間葉系幹細胞を含む細胞 *細胞調製方法別紙2参照
由来	<input checked="" type="radio"/> 自己・ <input type="radio"/> 非自己・株化細胞 <input checked="" type="radio"/> 生体由来・ <input type="radio"/> 死体由来
採取、調製、移植又は投与の方法	<p>清潔区域の手術室において心電図、血圧計、酸素モニターを患者に装着する。腹部を消毒し、側腹部にキシロカインを用いて局所麻酔を行う。メスを用いて約5mmの小切開を皮膚に加えて美容外科で一般に行われている皮下脂肪吸引の手法により下腹部皮下脂肪組織を20～100ml吸引する。切開部は1針用いて縫合する。また、皮下吸引部は包帯により1日圧迫して皮下出血を防止する。採取した間葉系幹細胞を含む脂肪組織は滅菌生理食塩水で洗浄後、コラゲナーゼで処理を行う。その後、遠心分離を行って間葉系幹細胞を含む細胞集団を得る。得られた間葉系幹細胞を含む細胞集団は細胞数をカウント後、同日移植する。移植細胞数はラットの実験で用いた細胞数より算出し、ヒト卵巢(片側)あたり有核細胞数として3億6千万細胞を上限とする。移植に際しては、0.5mlの滅菌生理食塩水で細胞を調整後、卵巢に経膈超音波装置ガイド下に22Gのカテラン針で穿刺、局所移植を行う。移植する卵巢は左右のうち安全に注入できると確認された側を選択する。患者は移植後30分間安静、異常が無いことを確認した後に帰宅する。</p> <p>脂肪組織から分離された細胞は、血管内皮細胞や血球細胞、脂肪前駆細胞などの中に一部幹細胞を含む細胞集団である。分離された細胞の一部を用いてCFU-F(colony forming unit fibroblast: 繊維芽細胞コロニー形成単位)アッセイを行い、卵巢へ移植された細胞中の幹細胞数を算出する。</p>
調製(加工)行程	<input checked="" type="radio"/> 有 <input type="radio"/> 無
非自己由来材料使用	<input type="radio"/> 有 <input checked="" type="radio"/> 無 動物種()
複数機関での実施	<input type="radio"/> 有 <input checked="" type="radio"/> 無
他の医療機関への授与・販売	<input type="radio"/> 有 <input checked="" type="radio"/> 無
安全性についての評価	<p>本人由来の脂肪組織より回収し、卵巢に自家移植するため、拒絶反応は考えにくい。また、局所注入であるため、肺における脂肪塞栓のリスクは静脈投与に比べて極めて低い。さらに、培養せずに移植するため、コンタミネーションなどの培養に伴うリスクは除外出来る。当院におけるラットならびにマウスを用いた安全性試験においては、明らかな副作用は認めなかった(別紙9参照)。本臨床研究では、被験者に対して、経時的に診察、および血液検査を施行し、安全性と副作用のチェックを行う。患者本人由来の細胞を卵巢に自家移植・注入するため、拒絶反応が起こる可能性は極めて低いと考えられる。また、本分野において一般的に行われている治療・研究においても安全性と有効性が示されており、2010年6月28日に京都国際会議場で“The 4th International Symposium: Safety of adipose mesenchymal stem cells and efficacy on spinal cord injury”が開催されたが、この会議において、ヒトでの臨床研究の結果、脂肪由来間葉系幹細胞の安全性が多数報告された(別紙5 添付文献2: 学会抄録: 総ページ数142ページ)。その中で特に注目したいのはRa Jeong Chan, CEO, D.v.M., Ph.D., RNLBIO Co., Ltd. Koreaから、韓国のFDAに提出された報告で、「脂肪由来間葉系幹細胞をヒトに投与した結果安全性が確認できた」とするデータである(p124-p127)。</p>
臨床研究の実施が可能であると判断した理由	<p>抗がん剤により卵巢機能を低下させた実験ラットモデルに骨髓性間葉系幹細胞を投与したところ、卵胞発育やホルモン状況が回復したという文献(別紙5 文献1添付)が2008年に発表された。作用機序としては、間葉系幹細胞がVEGF等を</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>分泌することにより、卵巣局所における卵巣内の血管新生ならびに血流の促進が起こり、卵胞発育ならびにsteroidogenesisを刺激することが示唆されている。当院における検討でも同様の効果が得られ、ヒトにおいても十分に効果が期待できると考えられる。間葉系幹細胞には骨髄由来幹細胞のほかにも脂肪組織由来幹細胞があるが、共に、共通のポジティブマーカー（CD29, CD44, CD73, CD90, CD105）、およびネガティブマーカー（CD34, CD14b, c-kit, HLA-DR）の糖鎖の存在が確認されており、両者は同様の性質を有すると考えられる（別紙5文献3、文献4）。臨床的には骨髄由来間葉系幹細胞は採取が難しいが、皮下脂肪から採取する脂肪組織由来間葉系幹細胞は採取・分離が容易である。また、当院での実験結果では、脂肪組織由来幹細胞において、骨髄由来幹細胞よりも高い卵巣機能改善の効果を認めており、脂肪組織由来幹細胞を用いた卵巣機能改善に対する臨床研究は有用であると考えられる。また、マウスへの尾静脈からのMSCs全身投与では肺にはMSCs投与に起因する栓塞は見られなかったと報告されている（別紙5文献5）。更に当院はヒト卵子を用いた体外受精を長年に渡りおこなってきたため、幹細胞を無菌的かつ安全に分離、調整し、直接卵巣内に移植する技術は確立している。</p>
<p>臨床研究の実施計画</p>	<p>卵巣機能低下患者本人から採取した、皮下脂肪由来間葉系幹細胞を本人の卵巣に移植して卵巣機能の改善を試みる。 症例数は、5例とする。 細胞移植の効果を評価するため、細胞移植前および移植後2ヶ月間は2週間ごと、4ヶ月後および6ヶ月後に、血中E2、LH、FSH、AMH値、ならびに超音波検査による卵胞の発育状態を検査する。また、更年期障害の症状はクッパーマン指数と、日本産科婦人科学会作成の更年期症状評価を使用し評価する（別紙11参照）。 尚、被験者が異常を認めた時は、定期検査時でなくても速やかに受診してもらうものとする。</p>
<p>臨床研究の登録期間</p>	<p>本研究計画の承認後3ヶ月。3ヶ月以内に人数が満たない場合、さらに3ヶ月延長する。</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</p>	<p>実施責任者(若しくは分担医師)から直接患者に文書ならびに口頭で説明し、文書において署名・捺印を得る。</p>
<p>説明事項</p>	<p>本研究の目的・意義、当該試験の重要性及び被験者の当該試験への参加が当該試験を実施するに当たり必要不可欠な理由の説明。対象患者本人の皮下脂肪組織を局所麻酔を用いて採取し、脂肪組織由来間葉系幹細胞を分離後、体外受精時の採卵手技を用いて経腔超音波装置ガイド下に卵巣に移植する。被験者の受ける利益は、間葉系幹細胞の作用により、低下した卵巣機能が回復し、更年期障害の改善が認められる可能性である。 想定される不利益は、 ①幹細胞移植により期待される卵巣機能改善がおこらない場合があること。 ②脂肪吸引により皮下出血、一時的な局所の炎症ならびに細菌感染が起こる可能性があること。 ③皮下脂肪組織吸引後に、まれに痛みや腫れ、しこりなどの症状が出る場合がある。また、他院にて、腹部脂肪吸引時に腹膜炎、筋膜炎や、腸管損傷をきたした事故の報告がある。 ④間葉系幹細胞の卵巣への移植においては、卵巣穿刺の際に出血、炎症ならびに細菌感染等の副作用がおこる場合がある(当院での過去3年間の卵子採</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>取、胚の移植においては無い)。 ⑤脂肪組織からの間葉系幹細胞分離において、採取された脂肪組織から、目的とする幹細胞が十分量得られないことによって効果が期待できない場合もある。 ⑥対象患者の月経に伴って予想される不利益 a. 卵巣機能の回復を認めても、効果は一時的であり、再度卵巣機能が低下した際は、更年期障害をきたす可能性が想定される。 b. 卵巣機能の回復が見られた場合、不正出血や月経困難症を認める可能性がある。 ⑦当院における実験動物を用いた検討では、脂肪組織由来間葉系幹細胞を卵巣に移植後、現在まで重篤な副作用は認めていないが、必要に応じて長期的な観察を行う。 ⑧その他の予期せぬ有害事象が起こりうる可能性がある。 ⑨ホルモン療法などの一般的な更年期障害の治療法を説明する。</p>
<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>当臨床研究では対象外となる。</p>
<p>代諾者の選定方針</p>	
<p>被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法</p>	<p>研究に起因する有害事象が発生した場合、研究責任者が全ての責任をもって真摯に誠意をもって対応、補償する。具体的には、当該被験者の有害事象に対する治療費等は、Shinjuku ART Clinicが負担するものとする。</p>
<p>臨床研究終了後の追跡調査の方法</p>	<p>脂肪組織由来間葉系幹細胞移植後は、経時的な問診、診察等による更年期障害の評価と同時に、血中E2、LH、FSH、AMH値測定ならびに経腔超音波による卵胞の発育状態、卵巣の炎症等の副作用の有無を調査する。研究期間終了後も検査協力を依頼することがある。</p>
<p>臨床研究に伴う補償</p>	
<p>補償の有無</p>	<p style="text-align: center;">有 無</p>
<p>補償が有る場合、その内容</p>	<p>臨床研究の参加に際し要する経費のうち、自己皮下脂肪組織の採取、分離、移植にかかる費用、および、幹細胞の移植前後の卵巣機能を確認するための、内診並びにホルモン測定にかかる費用はShinjuku ART Clinicが負担する(被験者の費用負担はなし)。 脂肪吸引・細胞注入、予後調査の為に被験者が来院する際の交通費はShinjuku ART Clinicが負担する。 当研究に起因する有害事象が発生した場合、被験者の有害事象に対する治療費はShinjuku ART Clinicが負担するものとする。</p>
<p>個人情報保護の方法</p>	

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

連結可能匿名化の方法	個人識別情報管理者が同意書の日付順に、SACKR1-001から連番で登録を行う。
その他	
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</p> <p>①費用は、Shinjuku ART Clinicで全て負担し、この臨床研究に参加する被験者には、脂肪吸引、分離並びに注入に関する費用は請求しない。 ②この臨床研究に参加する被験者への報酬の支払いは無い。 ③脂肪吸引・細胞注入、予後調査の為に被験者が来院する際の交通費はShinjuku ART Clinicが負担する。 ④関連研究者、組織との起こりうる利害衝突などはない。</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</p> <p>間葉系幹細胞を用いた治療法は多くの症例に関して研究が進められているが、ヒトを対象に卵巣への移植例はない。当院、他施設での動物を用いた実験では有効性が認められている。</p>

備考1 各用紙の大きさは、日本工業規格A4とすること。

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 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 別紙8 登録機器バリデーション結果等
- 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 別紙9 ラットまたはボランティアサンプルを用いた実験結果
- 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況 別紙5 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 別紙6 研究内容を示した図および文章 (プロトコル関連資料)
- 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 別紙3
- その他(資料内容:プロトコル脂肪組織採取と間葉系幹細胞分離回収方法 別紙2)
- その他(資料内容:加藤レディスクリニック倫理委員会倫理審査申請書および議事録 別紙4)
- その他(資料内容:品質等に関する研究成果および製品概要 別紙7)
- その他(平成23年1月25日厚生労働省医政局会議 別紙10)
- その他(更年期症状の評価 別紙11)
- その他(研究施設の状況 別紙12)

「自己皮下脂肪由来間葉系幹細胞を用いた卵巣機能低下症の改善に関する臨床研究」

研究の概要

卵巣は、ホルモン(エストロゲンなど)分泌を司る非常に重要な臓器のひとつであるが、一般的に女性の年齢が高くなり閉経期に近づくとその機能が低下する。機能低下した卵巣では、エストロゲンなどのホルモン分泌が減少することにより更年期障害を引き起こすとされている。更年期障害は、更年期を迎えた女性の約半数が、何らかの治療対象者となると言われている。症状としては、月経不順、顔のほてり、のぼせ、手足の冷え、動悸、めまい、抑鬱、不眠、頭重感、疲労感、肩こり、腰痛、関節痛、手足のこわばりなどが挙げられるが、場合によっては重篤な骨粗鬆症や高脂血症などを引き起こすこともある。これまでのところ、根本的な治療法は確立されておらず、症状を和らげるだけの対症療法に頼らざるを得なかった。

本臨床研究では、患者本人の腹部ないしは臀部等から採取した皮下脂肪組織から幹細胞を滅菌状態で安全に分離、本人の卵巣に直接移植する、すなわち、自家脂肪幹細胞移植を実施する。

我々のラットを用いた動物実験において、機能を低下させた卵巣に脂肪組織由来の幹細胞を注入したところ、卵巣機能の改善を示す結果が得られた。よって、我々は、ヒトにおいても幹細胞を直接卵巣に注入する事により、卵巣内に新しい血管が作られ、血流が回復することによって機能が改善すると考えている。

自家脂肪幹細胞移植の優れている点は、患者本人の脂肪組織より分離した幹細胞であるため、拒絶反応などの問題点がない。また、皮下脂肪は誰もが持っている組織である為、全ての患者に適応でき、容易かつ安全な採取方法も既に確立されている。

本治療方法の確立によって、卵巣機能の低下に起因する重篤な更年期症状を回避し、多くの女性における生活の質(Quality of life: QOL)を向上させることが大いに期待される。