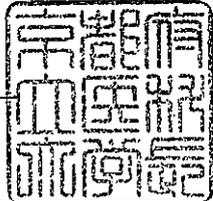


ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成 24 年 12 月 25 日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	〒602-8566 京都府京都市上京区河原町広小路上ル梶井町 465 TEL: 075-251-5578 FAX: 075-251-5663
	名称	京都府立医科大学
	研究機関の長 役職名・氏名	学長 吉川 敏 

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。

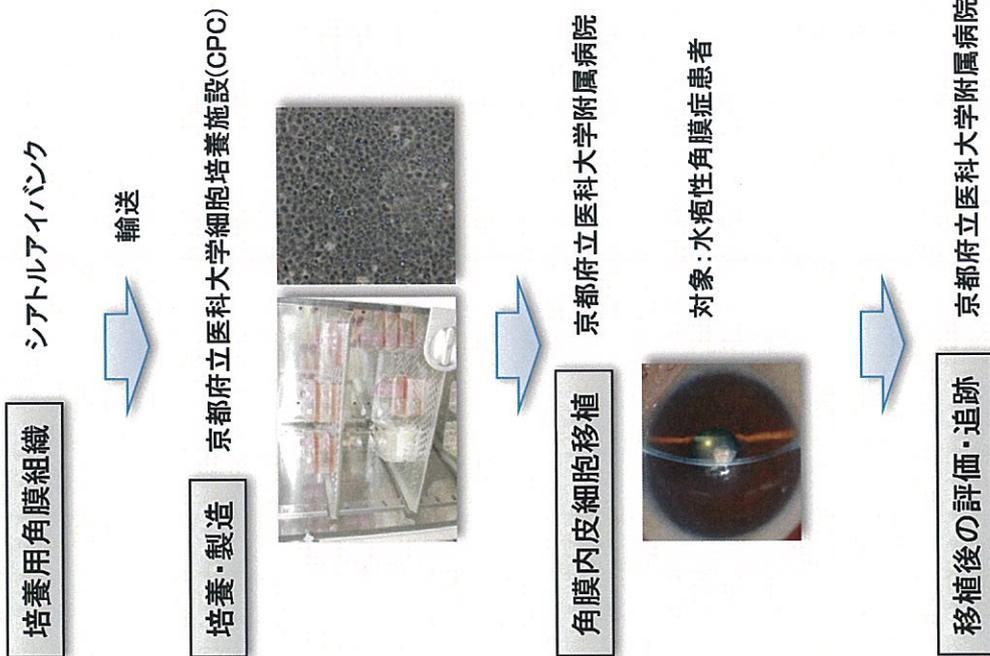
記

ヒト幹細胞臨床研究の課題名	研究責任者の所属・職・氏名
水疱性角膜症に対する培養角膜内皮細胞移植に関する臨床試験	京都府立医科大学 眼科学教室 教授 木下 茂

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	水疱性角膜症に対する培養角膜内皮細胞移植に関する臨床試験
申請年月日	平成24年12月25日
実施施設及び研究責任者	実施施設：京都府立医科大学 研究責任者：木下 茂
対象疾患	水疱性角膜症
ヒト幹細胞の種類	ヒト他家培養角膜内皮細胞
実施期間及び対象症例数	学長の実施許可通知から平成27年3月を被験者登録期間とし、移植後6カ月を観察期間とする。対象症例数は6例。
治療研究の概要	有効性・安全性の評価を行う。従来他家角膜移植の他有効な治療法がなかった本疾患の治療を、培養した角膜内皮細胞の前房内注射により行い、角膜内皮再生医療のパラダイムシフトをもたらそうとしている。
その他（外国での状況等）	申請者らはウサギのみならず、ヒトのように増殖能が非常に低いとされるカニクイザルから角膜内皮の培養を行い、疾患モデルの角膜を透明治癒させてきている。またROCK阻害剤を用いることでキャリアを用いない細胞移植による角膜内皮再生を可能にした。
新規性について	水疱性角膜症に培養角膜内皮細胞移植を行うところ。

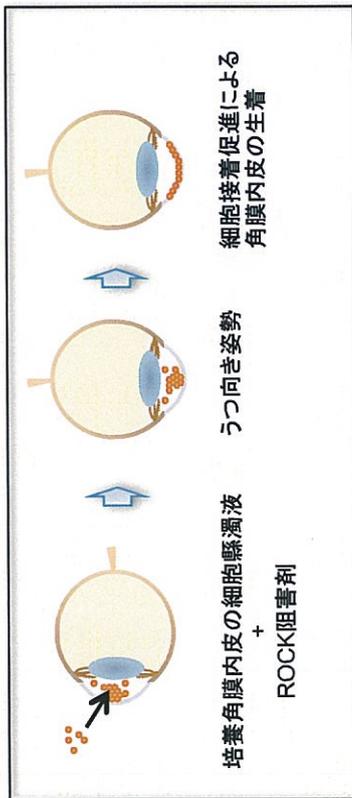
研究の流れを示した図やイラスト



登録までの流れ



培養角膜上皮細胞移植のシエーマ



エンドポイントの定義

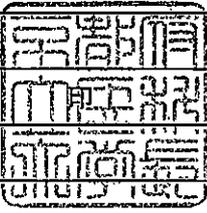
主要評価項目

- 1) 移植後24週の角膜上皮密度が 500 cells/mm^2 以上であること
- 2) 移植後24週の角膜厚が $650 \mu\text{m}$ 以下であること

副次評価項目

- 1) 移植前から移植後24週の視力改善率(2段階の以上の視力改善)
- 2) 移植前から移植後24週におけるVFQ-25スコアの変化

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	水疱性角膜症に対する培養角膜内皮細胞移植に関する臨床試験		
研究機関			
名称	京都府立医科大学		
所在地	〒 602-8566 京都市上京区河原町広小路上ル梶井町465		
電話番号	075-251-5578		
FAX番号	075-251-5663		
研究機関の長			
役職	学長		
氏名	吉川 敏一		
			
研究責任者			
所属	京都府立医科大学眼科学教室		
役職	教授		
氏名	木下 茂 印		
連絡先	Tel/Fax	Tel: 075-251-5577 / Fax: 075-251-5663	
	E-mail	shigeruk@koto.kpu-m.ac.jp	
最終学歴	1974年 大阪大学医学部 卒業		
専攻科目	眼科学		
その他の研究者	別紙1「研究者の氏名、所属、略歴及び研究業績等」に記載のとおり		
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			
臨床研究の目的・意義	<p>水疱性角膜症患者(後述の適用対象患者を総括して以後このように呼称する)に対する培養ヒト角膜内皮細胞移植に関する臨床試験(以後本試験という)の目的は、従来、唯一の治療法がアロドナー角膜(他家角膜)を用いた角膜移植である水疱性角膜症の患者を対象に、培養ヒト角膜内皮細胞移植の有効性と安全性を確認する。</p>		

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>本臨床研究における培養した角膜内皮細胞の前房内注射により内皮細胞を再生させるという医療概念は、角膜内皮再生医療のパラダイムシフトをもたらすものである。培養角膜内皮細胞移植が確立されることにより、これまで唯一の治療法がドナー角膜を用いた角膜移植しかなかった水疱性角膜症に対して、角膜移植の多くの問題点を克服できる可能性が広がる。以上のことから、水疱性角膜症の患者を対象とした培養角膜内皮細胞移植に対する適応取得を目標に据えて、移植を含めた医療技術体系の確立とその有効性と安全性を検討する本研究を実施する意義は高いと考えられる。</p>
臨床研究の対象疾患	
名称	水疱性角膜症(角膜内皮細胞密度の不可逆的な減少により角膜実質浮腫を生じ、角膜の透明性を維持できなくなったもの)
選定理由	水疱性角膜症の唯一の治療法は従来の角膜移植であるが、本臨床研究により十分かつ低侵襲な治療が可能であると期待できるため。
被験者等の選定基準	
別紙8「試験実施計画書 6. 適格規準」に記載のとおり	
<p>以下に本臨床試験の被験者適格基準の抜粋を示す。</p> <p><選択規準></p> <p>1) 下記の選択規準をすべて満たす患者を対象とする。水疱性角膜症と診断されており、以下の基準を満たすこと。</p> <p>① 最良矯正視力が0.5未満</p> <p>② 角膜内皮スペキュラーで角膜内皮細胞が観察できないか、もしくは内皮細胞密度が1平方ミリあたり500未満</p> <p>③ 角膜実質浮腫が存在し、角膜厚が700μm以上</p> <p>2) 同意取得時の年齢が、20歳以上90歳未満の患者</p> <p>3) 本人ないし代諾者から文書同意を得た患者</p> <p>なお、本研究において、代諾者の資格は次のように定義する。</p> <p>① 任意後見人、親権者、後見人や保佐人が定まっているときはその人</p> <p>② 配偶者、成人の子、父母、成人の兄弟姉妹若しくは孫、祖父母、同居の親族又はそれらの近親者に準ずると考えられる人</p> <p><除外規準></p> <p>下記の除外規準に一つでも当てはまる患者は対象としない</p> <p>1) 活動性の角膜感染症(細菌・真菌・ウイルスなど)を有する患者</p> <p>2) 妊娠またはその可能性のある患者、授乳中の患者</p> <p>3) 出血性の疾患を有する患者</p> <p>4) 精神的無能力(中等度および重度の認知症を含む)のため、担当医師により十分な理解と協力が得られないと判断された患者</p> <p>5) 眼圧のコントロールが不良な緑内障患者</p> <p>6) 血糖コントロール不良な糖尿病患者</p> <p>7) ステロイド剤に対する過敏症を有する患者</p> <p>8) 全身性の自己免疫疾患を合併する患者(SLE、ベーチェット病等)</p> <p>9) 他の原因による視力障害の関与が強く疑われる患者</p> <p>10) 既に本プロトコル治療を実施した患者</p> <p>11) 抗がん剤の使用および使用を予定された者</p> <p>12) 心疾患(心筋梗塞、心不全、コントロール不良の不整脈等)、脳血管障害(脳卒中)の既往を有する(及び/又は合併する)患者</p> <p>13) その他、合併症等のために本研究を実施するのに不相当と考えられる患者など、研究責任医師または研究分担医師が本研究の参加に支障があると判断した患者</p>	
臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	角膜内皮細胞
由来	自己・ 自己 ・株化細胞 生体由来・ 死体 由来

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

採取、調製、移植又は投与の方法	<p>1) 原料角膜組織 原料となるヒト角膜は、米国シアトルにあるSight Life社から入手し、提供者の死後に摘出されたヒト由来組織である。同施設において角膜提供者の適格性診断と摘出した角膜の試験により角膜移植に適合であると判断されたヒト角膜を原料とする。(詳細は別紙3「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」を参照)別紙11「製造に係る原材料等の品質保証関係書類」にSight Life社で実施の問診項目、血清学的検査等の資料を添付した。</p> <p>2) 骨髄由来間葉系幹細胞 角膜内皮細胞の培養の際、骨髄由来間葉系幹細胞(MSC)馴化培地を用いる。フィーダー細胞馴化培地作製に用いるヒト骨髄由来間葉系幹細胞は、米国Lonza社で適格性試験にパスしたドナーから採取した骨髄液を輸入して、日本ケミカルリサーチ社のGMP施設において分離、拡大培養し、さらに各種ウイルス試験等を実施し以下の表1-3に示す試験項目で安全性が確認された細胞を用いた。上記原材料製品に関する品質証明書類等については、別紙11「製造に係る原材料等の品質保証関係書類」に添付した。</p> <p>3) 培養角膜内皮細胞の作製 ヒト角膜よりデスメ膜ごと角膜内皮細胞を剥離して、1mg/mLコラゲナーゼAにて酵素処理した後に、細胞培養用培地に懸濁して培養皿に播種し、継代培養する。出荷時には、細胞を観察し、汚染や異常がないことを確認する。TrypLEによる酵素処理により細胞を回収してフェノールレッド不含Opti-MEM Iにより洗浄を行う。最終濃度が100µMになるようにY-27632を添加したOpti-MEM Iを用いて2.5×10^5 cells/mLの濃度に細胞懸濁液を調製しプロテオセーブに移植用として400µLを分注し、水中にて手術室へ移す。(詳細は別紙3「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」を参照)</p> <p>4) 培養角膜内皮細胞の移植 手術は原則として局所麻酔により行う。角膜輪部に約2mmの切開創を作成して、角膜内皮剥離用シリコンニードルにて直径5-10mmのレシピエントの角膜内皮細胞を剥離する。前房内をROCK阻害剤であるY27632を最終濃度100µMになるようOpti-MEM IIに添加したもので灌流する。ついで、培養角膜内皮細胞5.0×10^5個を200µLのY27632を最終濃度100µMになるようOpti-MEM IIに添加したものに懸濁し、前房内に26G針を用いて200µL注入する。手術終了直後より3時間以上のうつむき姿勢をとる。(詳細は別紙8「試験実施計画書」を参照)</p>
調製(加工)工程	有・無
非自己由来材料使用	有・無 動物種(ヒト・ウシ・マウス)
複数機関での実施	有・無
他の医療機関への授与・販売	有・無
安全性についての評価	京都府立医科大学CPCで製造する培養角膜内皮細胞の安全性について、1)原材料、2)製造・品質管理工程、3)最終製品の安全性試験、4)臨床実績、のそれぞれに関して、以下に簡単にまとめる。
	<p>1) 原材料 原料となるヒト角膜は、米国シアトルにあるSight Life社から入手し、提供者の死後に摘出されたヒト由来組織である。同施設において問診、血清学的検査等により角膜提供者の適格性診断と摘出した角膜の試験により角膜移植に適合であると判断されたヒト角膜を原料とする。製造関連物質として、フィーダー細胞馴化培地の作製に用いるヒト骨髄由来間葉系幹細胞は、米国Lonza社で適格性試験にパスしたドナーから採取した骨髄液を輸入して、日本ケミカルリサーチ社のGMP施設において分離、拡大培養し、さらに各種ウイルス試験等を実施し安全性が確認された細胞を用いた。また培地には、ウシ胎児血清(FBS)を添加する。FBSは、BSEの非産生国のウシ由来の製品であり、動物由来原料基準に適合したものを使用する。最終製品の出荷時には、BSAの濃度を測定することでFBSの残留濃度を評価する。 他の原材料に含まれる動物由来因子等については、その安全性を製造・販売元に確認しており、特に安全性に関して大きな問題のある因子は使用していない。(詳細は、</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>2) 製造・品質管理工程 培養角膜内皮細胞の製造・品質管理は、京都府立医科大学GPCにおいてGMPに準じて実施される。また各原材料の受入れ検査を実施し、工程内品質管理試験と出荷試験における安全性検査として、無菌試験・マイコプラズマ否定試験・エンドキシン試験を実施し、適合したものだけが出荷される。(詳細は、別紙3「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」参照)</p> <p>3) 最終製品の安全性試験 本品の製造工程中に、角膜内皮細胞に何らかの有害な変異が生じ、細胞の癌化が起きる可能性を検討するために、2つの異なるロットでかつ継代数の異なる培養ヒト角膜内皮細胞について核型解析を実施した。20細胞の核型分析において2個の細胞で違う核型を示すものの、通常培養細胞に見られる異常はクローン性のものであるのに対して、今回のものはクローン性のある異常ではないことを確認した。また本品は角膜裏面の患部に適用されるものであるが、免疫系への影響あるいは分泌される生理活性物質が全身の正常細胞または組織に与える影響等も考えられる。そこで、培養角膜内皮細胞のウサギ同等品をウサギの前房内に急性毒性試験として投与し眼局所、および血液生化学的検査を実施し、ウサギ同等品の移植に起因すると考えられる毒性学的に意味のある検査結果は認めなかった。 また、ヒト培養角膜内皮細胞をサル水疱性角膜症モデルへ投与し、体重測定、行動観察、血液検査により全身の有害事象を検討した。14日後に安楽死させ主要臓器を網羅的にサンプリングして(臓器パネル)、解析した。マクロ観察にて明らかな臓器の異常、腫瘍形成を認めず、組織切片による病理組織観察においても、腫瘍形成などの異常所見がないことを確認した。さらに、PCR法によりヒト由来細胞の検出を試みて、移植細胞の目的外臓器へのヒト由来細胞の異所性の腫瘍形成が無いことを確認した。(詳細は、別紙5「動物モデルを用いた非臨床試験の研究成果」参照)</p>
臨床研究の実施が可能であると判断した理由	本治療法は、本臨床試験の研究責任医師である木下茂・外園千恵らによって、京都府立医科大学附属病院にて既に多くの臨床研究の実績を積み重ねており(72症例以上)、有効性および安全性がある程度確立しているものである。木下らは、世界に先駆けて自家の培養口腔粘膜上皮シート移植を施行し、術後に拒絶反応が生じないため、安定した術後の眼表面が得られることを報告している。さらに培養口腔粘膜上皮シート移植術は、培養角膜上皮移植では予後不良な角化や高度癒着を伴う角膜上皮幹細胞疲弊症にも効果を示すことが明らかとなっている。(詳細は、別紙5「培養自家口腔粘膜上皮シートの臨床実績」を参照)
臨床研究の実実施計画	別紙8「試験実施計画書」に記載のとおり
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	研究担当医師は、患者本人に説明・同意文書を用いて口頭で本臨床試験の詳細について十分な説明を行い、同意を得る。同意文書には、説明を行った医師及び被験者が各自日付を記入し、記名捺印又は署名する。参加に同意できない場合には無理に本臨床試験に参加する必要のないこと、また参加を拒否しても何ら不利益を被ることはないことを理解していただく。また同意の意思はいつでも撤回できることも明確に伝える。ただし患者本人が理解、判断困難の場合は家族に、また15歳以上20歳未満の場合は代諾者にも同様の説明を行い、同意を得ることとする。また、同意を得る前に患者または代諾者が質問をする機会と、本臨床試験に参加するか否かを判断するのに十分な時間を与える。その際、研究者又は補足説明者としての研究協力者は、全ての質問に対して被験者が理解し満足するように回答する。 被験者の同意に関係する新たな情報が得られた場合、また説明・同意文書等の変更がある場合には、速やかに当該情報に基づき関係書類を改定し、各医療機関の倫理委員会等の承認を得て変更するとともに、研究への継続参加について改めて患者の同意を文書により得る。被験者が同意の撤回を申し出た場合は、同意撤回書に医師及び被験者が各自日付を記入し、記名捺印又は署名する。 また、採取・移植の際はその都度説明を行い、同意を得る。
説明事項	別紙7「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」に記載のとおり
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	高齢、認知症などの理由で医師の説明を十分に理解することが困難な患者では、手術困難な場合が多い一方で、中途失明はリハビリテーションが極めて困難であり高度の介護を要するほか、認知症の進行、うつ病の発症を助長するため。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

代諾者の選定方針	<p>本研究において代諾者の承認を許可する場合は、次のように規定する。 患者が認知症等により、有効なインフォームド・コンセントを与えることができないと客観的に判断される場合。ただし研究責任者は、患者本人にもわかりやすい言葉で十分な説明を行い、代諾者とともに患者本人からも文書による同意を得る。</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>1) 研究責任者の責務 研究責任者は重大な事態と判断した事象又は情報について、総括責任者および研究機関の長に対して速やかに報告しなければならない。また、研究責任者は総括責任者または研究機関の長の指示を受ける前に、必要に応じ、本臨床試験の中止またはその他の暫定的な措置を講ずることができる。 総括責任者は、重大な事態が発生した場合には、研究機関の長およびすべての研究責任者に対し、速やかに、その旨を報告する。また、総括責任者は、研究機関長の指示を受ける前に、必要に応じ当該臨床試験の中止または暫定的な措置を講ずることができる。</p> <p>2) 研究機関の長の責務 a) 研究責任者から重大な事態が報告された場合には、原因の分析を含む対処方針につき、速やかに倫理審査委員会等の意見を聴き、研究責任者に対し、中止その他の必要な措置を講ずるよう指示しなければならない。なお、必要に応じ、倫理審査委員会等の意見を聴く前に、研究機関の長は、研究責任者に対し、中止その他の暫定的な措置を講ずるよう、指示することができる。 b) 倫理審査委員会等の意見を受け、その原因を分析し、研究責任者に中止その他の必要な措置の指示を与えた上で、倫理審査委員会の意見、原因の分析結果および研究責任者に指示した措置の内容を厚生労働大臣に速やかに報告する。 c) 倫理審査委員会等若しくは厚生労働大臣の意見を受け(又は必要に応じ)、研究責任者に対して改善、中止、調査の実施その他の必要な措置を講ずるよう、指示するものとする。なお、倫理審査委員会等から当該臨床試験を中止するべきである旨の意見を述べられたときは、その中止を指示しなければならない。研究責任者が総括責任者と異なる場合、研究責任者は速やかに総括責任者に指示の内容を伝達する。 d) 報告を受けた研究機関の長は、研究責任者に対し、必要な措置を講ずるよう指示した上で、当該臨床試験を実施する他の全ての研究機関の長に対して、重大な事態および講じられた措置等について周知する。なお、当該臨床試験を実施するすべての研究機関の長は、共同で報告等の責務を行う。 e) 研究機関の長は、中止その他の必要な措置が講じられた後、その結果を厚生労働大臣に報告する。</p> <p style="text-align: center;">(詳細は、別紙8「試験実施計画書」の「11. 有害事象・重大な事態の評価・報告」を参照)</p>
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、安全性および有効性について確認をおこない、カルテに記載する。被験者に病原体感染等の有害事象が生じた場合は、適切な医療措置を行うとともに、最終調製物に関する確認を行い、原因究明に努める。なお、臨床試験終了後の定期的外来で得られた追跡調査のデータは、解析には含めない。</p>
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	<p>本臨床試験に起因して有害事象が発生し、被験者に何らかの健康被害が発生した場合には、実施医療機関は適切な治療その他必要な措置を講ずる。提供される治療等に要した医療費は、実施機関の研究費で負担する。金銭的な補償は保険見積書のとおりである。</p> <p>また、1)本臨床試験との関連性を否定された場合、2)被験者の故意もしくは過失により生じた場合、3)効能不発揮の場合については、上記の健康被害とは見做さない。なお、臨床試験に対応する保険については、賠償責任部分に加入する予定である。 (詳細は別紙15「臨床試験保険(株)損害保険ジャパン見積書」を参照)</p>
個人情報保護の方法	
連結可能匿名化の方法	<p>被験者識別コードを使用する。 被験者識別コードは、個人情報を含まず一意となる任意のコードを付ける。例えば、被験者の生年月日、イニシャル、カルテ番号、電話番号などは使用しない。</p>
その他	<p>本臨床試験にかかわるものは、被験者の個人情報の保護に最大限の努力を払う。</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

その他必要な事項	①当該研究に係る研究資金の調達方法
	本臨床試験は、国家基幹研究開発推進事業「再生医療の実現化プロジェクト 再生医療の実現化ハイウェイ」からの助成を受けて実施する。

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)

- 別紙1 : 研究者の氏名、所属、略歴及び研究業績等
- 別紙2 : 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況
- 別紙3 : 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4 : 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 : 動物モデルを用いた非臨床試験の研究状況
- 別紙6 : 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7 : 説明文書および同意文書
- 別紙8 : 試験実施計画書(重大な事態対応マニュアルを含む)
- 別紙9 : 研究の流れを示した図やイラストなど
- 別紙10 : 製品標準書・基準書・指図書・手順書
- 別紙11 : 製造に係る原材料等の品質保証関係書類
- 別紙12 : CPC設備バリデーション文書一覧
- 別紙13 : 倫理委員会関係書類(規定・名簿)
- 別紙14 : 倫理委員会関係書類(決定通知書・議事録・専門医略歴)
- 別紙15 : 臨床試験保険(株)損害保険ジャパン見積書

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

臨床研究の名称：

培養ヒト角膜内皮細胞移植による角膜内皮再生医療の実現化

京都府立医科大学視覚機能再生外科学

研究責任者：木下 茂

目次

1. 本臨床試験の目的.....	3
2. 角膜内皮疾患について.....	3
3. これまでの治療法.....	3
4. 水疱性角膜症に対する培養角膜内皮細胞移植に関する臨床試験.....	4
4.1 本試験の概要.....	4
4.2 被験者の適格基準.....	4
4.2.1 選択基準.....	4
4.2.2 除外基準.....	4
4.2.3 角膜内皮細胞の製造.....	5
4.2.4 製造した角膜内皮細胞の眼への移植.....	5
5. 臨床試験のスケジュール.....	7
6. 薬剤投与レジメン.....	8
6.1 全身投与.....	8
6.2 局所投与.....	8
7. 併用禁止薬・併用禁止療法.....	9
7.1 併用禁止薬.....	9
7.2 併用禁止療法.....	9
8. 併用制限薬.....	9
9. 有効性及び安全性評価.....	9
9.1 有効性評価.....	9
9.1.1 主要評価項目.....	9
9.1.2 副次的評価項目.....	9
9.2 安全性評価.....	9

1. 本臨床試験の目的

本臨床試験の目的は、試験参加基準を満たす水疱性角膜症患者を有する被験者を対象に、ドナー角膜より製造した培養角膜内皮細胞移植の安全性を確認するとともに、視力、角膜実質浮腫、角膜上皮障害を改善し、有効性を検討することである。

2. 角膜内皮疾患について

角膜の最内層を被覆する一層の角膜内皮細胞層は、角膜組織の含水率を一定に保ち、角膜の透明性を維持するために必須の細胞である。生体内では角膜内皮細胞が通常は増殖しないことが知られており、外傷や疾病、手術などの侵襲によって角膜内皮細胞が広汎に障害されると、角膜の透明性を維持することができなくなり、角膜が浮腫と混濁を生じる。このような病態を水疱性角膜症とよび、角膜混濁による視覚障害の主要原因疾患となっている。

水性角膜症の主要な要因として、白内障や緑内障などの内眼手術、レーザー虹彩切開術、フックス角膜内皮ジストロフィ等があげられる。2007年の the Japan Bullous Keratopathy Study Group の報告では、日本では白内障手術に次いで、レーザー虹彩切開術に基因する水疱性角膜症が多いことが報告された。一方、欧米では、40歳以上の人口におけるフックス角膜内皮ジストロフィの有病率が5%と高く、フックス角膜内皮ジストロフィが水疱性角膜症の主要な要因とされる。

3. これまでの治療法

水疱性角膜症に対するこれまでの唯一の治療法は、ドナー角膜を用いた角膜移植術である。水疱性角膜症は角膜移植患者の60%以上を占めるとされる。近年は Descemet's stripping (automated) endothelial keratoplasty (DSEK、DSAEK)などの角膜内皮パーツ移植が広く行われるようになり、角膜内皮細胞を含むデスメ膜のみを移植する Descemet's membrane endothelial keratoplasty (DMEK)も確立されつつある。しかし、日本をはじめ多くの国や地域では、ドナー角膜の不足のために角膜移植を受けられない患者が多く存在する。また水疱性角膜症患者では角膜移植後の角膜内皮密度減少が早く、長期予後が不良である。

4. 水疱性角膜症に対する培養角膜内皮細胞移植に関する臨床試験

4.1 本試験の概要

本臨床研究において、水疱性角膜症患者を対象として、患者の障害された角膜内皮を機械的に除去した後に、培養細胞を注射針により Rho キナーゼ (ROCK) 阻害剤とともに培養角膜内皮細胞前房内に注射する。角膜内皮細胞の細胞接着に対して促進的に働く薬剤のスクリーニングを行い、ROCK 阻害剤は、霊長類角膜内皮細胞の細胞接着を促進する効果を有する薬剤である。

水疱性角膜症の患者を対象とした培養角膜内皮細胞移植に対する適応取得を目標に据えて、移植を含めた医療技術体系の確立とその有効性と安全性を検討する

本研究では水疱性角膜症患者を対象に、培養角膜内皮細胞移植の安全性を確認するとともに、視力、角膜実質浮腫、角膜上皮障害を改善し、有効性を検討する。予定症例数は 6 人である。

4.2 被験者の適格基準

4.2.1 選択基準

下記の選択基準をすべて満たす患者を対象とする。

- 1) 水疱性角膜症と診断されており、以下の基準を満たすこと。
 - 最良矯正視力が 0.5 未満
 - 角膜内皮スペキュラーで角膜内皮細胞が観察できないか、もしくは内皮細胞密度が 1 平方ミリあたり 500 未満
 - 角膜実質浮腫が存在し、角膜厚が 700 μm 以上
- 2) 同意取得時の年齢が、20 歳以上 90 歳未満の患者
- 3) 本人ないし代諾者から文書同意を得た患者

なお、本研究において、代諾者の資格は次のように定義する。

- 任意後見人、親権者、後見人や保佐人が定まっているときはその人
- 配偶者、成人の子、父母、成人の兄弟姉妹若しくは孫、祖父母、同居の親族又はそれらの近親者に準ずると考えられる人

4.2.2 除外基準

下記の除外基準に一つでも当てはまる患者は対象としない。

- 活動性の角膜感染症（細菌・真菌・ウイルスなど）を有する患者
- 妊娠またはその可能性のある患者、授乳中の患者
- 出血性の疾患を有する患者
- 精神的無能力（中等度および重度の認知症を含む）のため、担当医師により十分な理

- 解と協力が得られないと判断された患者
- 眼圧のコントロールが不良な緑内障患者
 - 血糖コントロール不良な糖尿病患者
 - ステロイド剤に対する過敏症を有する患者
 - 全身性の自己免疫疾患を合併する患者（SLE、ベーチェット病等）
 - 他の原因による視力障害の関与が強く疑われる患者
 - 既に本プロトコル治療を実施した患者
 - 抗がん剤の使用者および使用を予定された者
 - 心疾患（心筋梗塞、心不全、コントロール不良の不整脈等）、脳血管障害（脳卒中）の既往を有する（及び／又は合併する）患者
 - その他、合併症等のために本研究を実施するのに不相当と考えられる患者など、研究責任医師または研究分担医師が本研究の参加に支障があると判断した患者

4.2.3 培養ヒト角膜内皮細胞の製造

原料の角膜組織として、米国アイバンクより角膜移植に準拠して採取されたヒト角膜を輸入したものをを用いる。角膜内皮組織を分離して、骨髄由来間葉系幹細胞（MSC）馴化培地を用いて細胞を培養する。作業は GMP 準拠の細胞培養施設である京都府立医科大学セルブrocessingセンター（CPC）において実施する。

移植に用いる角膜内皮細胞の品質保証試験項目は、下記の項目を確認する。

試験項目	判定基準
総細胞数	5×10^5 個 / 200 μ L
細胞生存率	70.0%以上
外観試験	顕微鏡観察にて目的外細胞のスコアが 10%以下 且つ異物の混入および変色が認められない
細胞純度	培養上清中の Collagen I 分泌量が 15 ng/mL 以下
細胞機能確認試験	ZO-1 陽性 / Na^+K^+ ATPase 陽性
培地由来成分否定試験	細胞洗浄後の残存 BSA 量が 125 ng/mL 以下
無菌性試験	菌の発育が見られない
マイコプラズマ否定試験	PCR 法で陰性
エンドトキシン否定試験	1.67EU/mL 未満
Parvovirus B19 否定試験	NAT 法で陰性

4.2.4 製造した培養ヒト角膜内皮細胞の眼への移植

手術は原則として局所麻酔により行う。角膜輪部に約 2 mm の切開創を作成して、角膜内皮剥離用シリコンニードル（イナミ）にて直径 5-10 mm のレシピエントの角膜内皮細胞を剥離する。前房内を ROCK 阻害剤である Y27632 を最終濃度 100 μ M になるよう Opti-MEM (Life Technologies) に添加したもので灌流する。ついで、培養角膜内皮細胞 5.0×10^5 個を 200

μL の Y27632 を最終濃度 $100\mu\text{M}$ になるよう Opti-MEM (Life Technologies) に添加したものに懸濁し、前房内に 26G 針を用いて $200\mu\text{l}$ 注入する。手術終了直後より 3 時間以上のうつむき姿勢をとる。

5. 臨床試験のスケジュール

はじめに、本臨床試験に参加する前に、医師により患者さんに対して説明・同意文書を用いて口頭で十分に詳しく説明し、本臨床試験の参加について自由意思による同意を文書により取得する。

そして、本臨床試験の対象者としての適格性を判断する検査を行い、適格と判断された場合には本臨床試験に登録し、プロトコル治療を開始する。

表 5-1 観察・検査・評価項目

検査実施 時期 検査項目	移植前	移 植 後									
	登録前	移植 当日	2day	1w	2w	4w	8w	12w	16w	20w	24w
被験者背景	○										
臨床検査	○					○		△			○
基本検査	○		△	○	△	○	△	○	△	△	○
眼科所見	○		△	○	△	○	△	○	△	△	○
自覚症状	○			△		○		○			○
薬剤使用状況	△	△	△	○	△	○	△	○	△	△	○
感染症検査	○										
症例報告時期	●			●		●		●			●
有害事象											

凡例 ○：症例報告書記載項目 △：症例報告書記載不要項目 ●：症例報告時期

6. 薬剤投与レジメン

通常の角膜移植における薬剤投与レジメンに準じて、術後炎症の制御と拒絶反応予防の目的で副腎皮質ステロイド薬（ステロイド薬）を投与する。以下に推奨レジメンを示す。

6.1 全身投与

- 1) 移植日、および術後2日にメチルプレドニゾロン（ソル・メドロール[®]）125 mg の静脈内投与を行う。
- 1) 術翌日から翌々日にベタメタゾン（リンデロン[®]）点滴 2 mg/日、術後3-7日にベタメタゾン（リンデロン[®]）内服 1 mg/日を投与する。感染予防のためにフロモキシセフナトリウム静注用（フルマリン静注用 1 g[®]）あるいはセフカペンピボキシル塩酸塩（フロモックス錠 100 mg[®]）の全身投与を、手術日を含めて3日間行う。

6.2 局所投与

- 1) 移植終了時に、抗菌眼軟膏を点入する。0.1%ベタメタゾン点眼（リンデロン[®]、リンデロン A[®]など）4回/日を移植後24週間行う。ただし眼圧上昇時には適宜変更してよい。その後は炎症の状態によって適宜減量し、フルオロメトロン点眼（フルメトロン点眼液 0.1%[®]）4回/日に移行する。
- 2) 感染予防のため、手術3日前より24週までガチフロキサシン（ガチフロ[®]）の点眼を行う。

表 6-1 本治療における薬剤投与推奨レジメン

				手術 3日前	手術 日	1-2 日後	3日 後	4-7 日後	24週 まで	24週 以降
局所 投与	抗生 物質	ガチフロ	1日 4回							
	ステロ イド薬	リンデロン	1日 4回							
		0.1%フル メトロン	1日 2-4回							
全身 投与	抗生 物質	フルマリン 静注用 1g	1日 1回							
		フロモック ス錠*	3錠分 3							
	ステロ イド薬	ソル・メド ロール	125 mg 静注							
		リンデロン	2 mg 静注							
		リンデロン	1 mg 分 1							

*フルマリン静注用あるいはフロモックス錠のどちらか一方を投与する。

7. 併用禁止薬・併用禁止療法

7.1 併用禁止薬

- 1) 悪性腫瘍治療目的の抗がん剤
- 2) 硝子体内投与等、移植眼に侵襲的に投与される薬剤全般

ただし、プロトコル治療期間に、新規の発がんが確認された場合には、この時点でプロトコル治療を中止し、後治療に移行する。

7.2 併用禁止療法

- 1) 本プロトコルで規定する追跡期間である移植後 24 週内に追加的に実施される角膜移植
- 2) 本プロトコル治療時以外に実施する白内障手術等の侵襲的療法

8. 併用制限薬

特になし

9. 有効性及び安全性評価

9.1 有効性評価

9.1.1 主要評価項目

- 1) 移植後 24 週の角膜内皮密度が 500 cells/mm² 以上であること
- 2) 移植後 24 週の角膜厚が 650 μm 以下であること

9.1.2 副次的評価項目

- 1) 移植前から移植後 24 週の視力改善率 (2 段階以上の視力改善)
- 2) 移植前から移植後 24 週の VFQ-25 スコアの変化

9.2 安全性評価

臨床試験期間内に発現した有害事象の発現頻度と重症度を評価する。