

平成 25 年 3 月 5 日

京都府立医科大学から申請のあった
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

京都府立医科大学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りまとめたので報告いたします。

記

1. 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

申請者：京都府立医科大学 学長 吉川敏一

申請日：平成 24 年 12 月 25 日

1. 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。

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（○）と主な変更内容（●）

0) 審査回数

1 回（平成 25 年 2 月）

1) 第 1 回審議

①開催日時： 平成 25 年 2 月 6 日（水）16:00～18:00

（第 24 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 24 年 12 月 25 日付けで京都府立医科大学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：水疱性角膜症）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）

2. 品質・安全性について

- Rock 阻害剤については、既に臨床開発等が行われていることから、これらの臨床開発での使用量、観察されている有害事象などをもとに、本臨床研究で使用する予定の投与量の安全性について説明してください。
 - 「ROCK 阻害剤として既に市販されている薬剤は、くも膜下出血術後の脳血管攣縮およびこれに伴う脳虚血症状の改善に対して使用されるエリル点滴静注液 30mg があります。本研究では Y27632 を 0.0169mg 投与することになり、塩酸ファスジル の 30mg の点滴静注と比較しても約 1/1775 に相当する量であり安全性の高い量と考えます。」との返答を得た。
- 有効性を裏付ける動物試験で、Y27632 添加した角膜内皮細胞投与群で有効性が認められています。ただ Y27632 単独群がないように思いましたが、Y27632 単独では有効性は期待できない（残存している角膜内皮細胞に対する作用）とかんがえてよいでしょうか。
 - 「指摘の通りで、Y27632 単独では有効性は期待出来ません。サルを用い

た試験で少数ですが Y27632 単独投与により有効性が無いことを確認しております。」との返答を得た。

- 前房内投与について、ポジティブコントロールでの眼圧上昇を確認されているでしょうか。それとも 14 日より長期の経過をみられていて眼圧上昇が起きないことを確かめておられるでしょうか。
- 「ウサギ水疱性角膜症モデルにおいて 5.0×10^6 個の過剰量の投与を行い、56 日間観察を行いました。眼圧の異常な上昇を認めておりません。過剰量投与においても眼圧の上昇を認めないため、ポジティブコントロールとの比較でなく、正常眼との群間比較において眼圧上昇が無いことを確認しております。さらには、サル水疱性角膜症モデルにおいて、培養サル角膜内皮細胞の前房内投与を行い、3 頭において 1 年間の観察を行いました。経過中に異常な眼圧の上昇を認めませんでした。」との返答を得た。

2) 第 2 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、京都府立医科大学の資料が適切に提出されたことを受けて、疑義を提出していただいていた委員との間で審議を行った結果、当該ヒト幹細胞臨床研究実施計画を了承した。

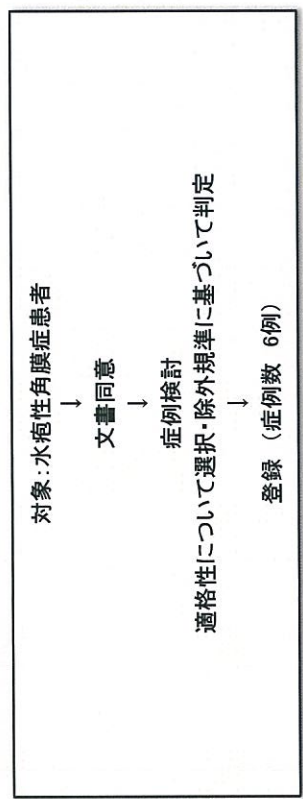
3. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会の検討結果

京都府立医科大学からのヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：水疱性角膜症）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。

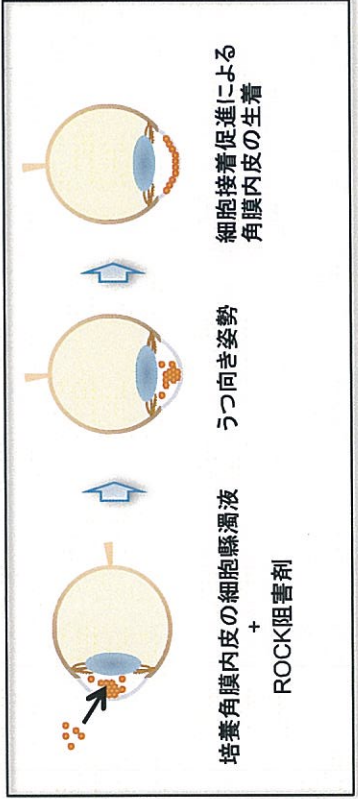
次回以降の科学技術部会に報告する。

研究の流れを示した図やイラスト

登録までの流れ

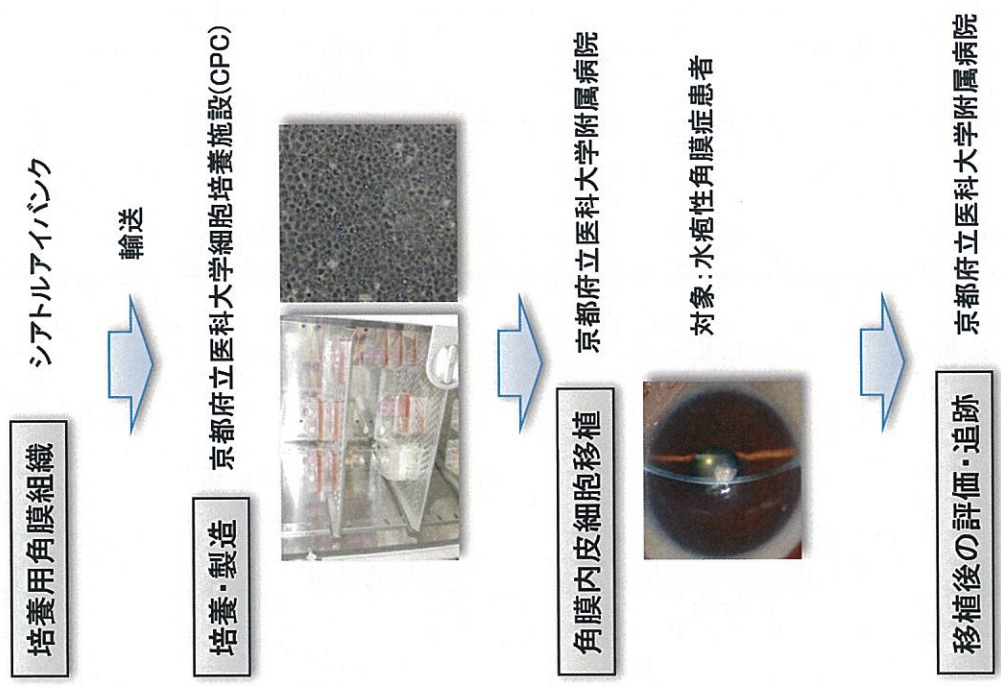


培養角膜内皮細胞移植のシエーマ



エンドポイントの定義

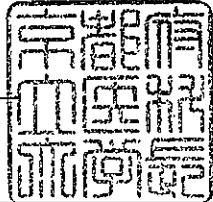
- 主要評価項目
- 1) 移植後24週の角膜内皮密度が ≥ 500 cells/mm²以上であること
 - 2) 移植後24週の角膜厚が ≥ 650 μ m以下であること
- 副次評価項目
- 1) 移植前から移植後24週の視力改善率（2段階の以上の視力改善）
 - 2) 移植前から移植後24週におけるVFQ-25スコアの変化



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 /Fax075-251-5663	
	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	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。		

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

		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。
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	
	以下に本臨床試験の被験者適格基準の抜粋を示す。 <選択規準> 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。 ① 最良矯正視力が0.5未満 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 ③ 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。 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 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 <除外規準> 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 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 2) 妊娠またはその可能性のある患者、授乳中の患者 3) 出血性の疾患を有する患者 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 5) 眼圧のコントロールが不良な緑内障患者 6) 血糖コントロール不良な糖尿病患者 7) ステロイド剤に対する過敏症を有する患者 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) 9) 他の原因による視力障害の関与が強く疑われる患者 10) 既に本プロトコル治療を実施した患者 11) 抗がん剤の使用者および使用を予定された者 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 13) その他、合併症等のために本研究を実施するのに不適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	
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・ 非自己 ・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	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。 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。 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2.5×10^6 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、氷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) 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100 μ M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200 μ LのY27632を最終濃度100 μ M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200 μ 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。(詳細は別紙8「試験実施計画書」を参照)
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。
	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の非発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、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)

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	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CPC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) 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的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)
臨床研究の実施が可能であると判断した理由	本研究責任者である木下茂らのグループでは難治性角結膜上皮症を対象に、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、京都府立医科大学附属病院にて臨床研究の実績を積み重ねてきており、国際的にも高い評価を得ている。その手法を本研究に応用し、確実に臨床研究を行うことが可能である。
臨床研究の実施計画	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	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。
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) 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研究の中止または暫定的な措置を講ずることができる。 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じ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じるよう、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じるよう、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、当該臨床研究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、当該臨床研究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。 （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）
臨床研究終了後の追跡調査の方法	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。
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。 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）
個人情報保護の方法	
連結可能匿名化の方法	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。
その他	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。

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適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プロセッシングセンター（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 100μM 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 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。

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 1 g	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。

説明文書および同意文書

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

説 明 文 書

様（代諾者の場合研究対象者との関係を記載： ）

1 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

2 実施責任者及び実施担当者の職・氏名

（研究責任者）	研究機関名	職 名	研究責任者名
	京都府立医科大学眼科	教授	木下茂
（研究担当者）	研究機関名	職 名	研究担当者名
所属	眼科学教室	職・氏名	教授 木下茂
所属	眼科学教室	職・氏名	講師 外園千恵
所属	眼科学教室	職・氏名	学内講師 稲富勉
所属	眼科学教室	職・氏名	助教 上野盛夫
所属	眼科学教室	職・氏名	客員講師 中村隆宏
所属	眼科学教室	職・氏名	客員教授 小泉範子
所属	眼科学教室	職・氏名	客員講師 奥村直毅
所属	眼科学教室	職・氏名	大学院生 中川紘子

3 実施計画の意義及び目的について（医学用語等、実施計画の概要の説明を含む）

「くろめ」とよばれる角膜が白く濁ることで、視力がひどく低下した場合（水疱性角膜症）には、角膜移植を行います。角膜移植により濁った角膜を透明にすることが可能ですが、角膜移植後に角膜内皮細胞が長期にわたり減少することや、ドナー不足などの問題が知られています。

私達、京都府立医科大学の眼科学教室では、動物をモデルとした研究を行い、角膜内皮細胞を培養して、Rho キナーゼ阻害剤という薬剤とともに眼の中に移植することで水疱性角膜症の治療が可能であることを確認しました。

本計画では水疱性角膜症の患者さんに対して、ドナー角膜から培養した角膜内皮細胞を Rho キナーゼ阻害剤とともに角膜の裏側に移植して、治療することを目的としています。

4 実施の方法について

水疱性角膜症の患者さんを対象として、Rho キナーゼ阻害剤を併用した培養角膜内皮細胞移植を行います。方法は、シアトルアイバンクより提供を受けた角膜より角膜内皮細胞を採取して培養したものを、前房と呼ばれる角膜の後ろ側に Rho キナーゼ阻害剤とともに注射します。注射後は3時間以上のうつむきをお願いします。

慎重な経過観察を行うことによって生じる合併症を可能な限り回避します。万一、重篤な副作用が生じた場合には、直ちに治療を中止し、副作用に応じた対応をさせていただきます。治療期間は、副作用が見られなければ角膜内皮の治療効果を確認して中止が可能と判断できるまでとします。治療効果は、視力、角膜の透明性、角膜内皮細胞密度、角膜の厚みなどの所見による評価を行い判定します。

5 研究対象者等からインフォームド・コンセントを受けるに当たっての説明事項

(1) 実施計画への参加は任意です

この計画への協力はあなたの自由意思で決定してください。決して強制いたしません。自由なお気持ちでご判断ください。

(2) 実施計画への参加に同意しないことにより不利益な対応は受けません

この研究に同意しなくても、あなたは何ら不利益を被りません。

(3) 同意した場合でも、いつでも文書により不利益を受けることなく撤回できます

一旦同意した場合でも、いつでも同意を文書により撤回することができます。その場合にあなたが不利益を受けることは一切ありません。

(4) 同意が撤回された場合、試料等及び研究結果は廃棄されます（連結不可能匿名化されている場合等を除く）

ただし、同意を取り消した時点で既に研究結果が論文などで公表されていた場合などのように結果を廃棄できない場合があります。

(5) 研究対象者等に選ばれた理由

本治療法による角膜内皮治療効果が動物を用いた研究で証明されています。人でも治療効果が安全に行われることを検討するため、角膜内皮障害のある方を対象としています。

(6) 実施期間

承認日 ~ 平成 27 年（西暦 2015 年）3 月 31 日

(7) 提供者本人からインフォームド・コンセントを受けることが困難な場合、その研究の重要性及び本人から試料等の提供を受けなければ研究が成り立たない理由及び代諾者等を選定する理由

対象者の利益になる可能性が高い場合には代諾者等を選定します。代諾者の資格は次のように定義しています。

(1) 親権者が定まっているときはその人

(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

(8) 予測される研究結果及び提供者等に対して予測される危険や不利益

本治療法による角膜内皮治療効果が動物を用いた研究で証明されており、今回の治療により、視力改善、角膜実質浮腫の改善、角膜上皮浮腫の改善などの水疱性角膜症に伴う症状が改善することが予測されます。一方で、治療効果が十分得られない可能性もあり、その場合は、通常の角膜移植が必要となる場合があります。角膜移植などの治療が新たに必要となった場合の医療費は、患者様本人の負担となり、あなたが加入している健康保険が使用されますので、一部ご負担いただくこととなります。

本研究の参加中または終了後に、本研究に参加したことが原因となって、副作用などの健康被害を受けた場合には、通常の診療と同様に適切に対処いたします。尚、予測しなかった重篤な後遺症を伴うような、本研究による健康被害への対応として、臨床研究に関する賠償責任保険に加入しています。

(9) 他の提供者等の個人情報の保護や研究の独創性の確保に支障が生じない範囲内で研究計画及び研究方法についての資料を入手又は閲覧することができます

希望があれば、この研究の計画や方法の詳細を見ることができます。

(10) 個人情報の保護方法

個人情報については、担当者（本大学講師・外園千恵）が鍵のかかる保管庫等で責任を持って管理します。個人情報を含むデータの分析を行ったパソコンはネットワークから隔絶された状態で管理いたします。

(11) 特許権等の知的財産権を生み出した場合の帰属先について

本研究の結果として特許権などが生じる可能性があります、その権利は国、研究機関、民間企業を含む共同研究機関及び研究遂行者などに属し、あなたには属しません。また、その特許権などをもととして経済的利益が生じる可能性があります、あなたはこれについても権利があるとはいえません。

(12) 試料・資料又は試料から得られた遺伝情報を他の機関へ提供する可能性その場合は京都府立医科大学医学倫理審査委員会により、個人情報の取扱い、提供先の機関名、提供先における利用目的が妥当であることについて審査されていること

本研究に特化したデータセンターを設置し、施設登録および症例登録は、データセンターにおける中央登録制とします。データセンターでは、研究対象者のデータはIDによる管理により匿名化し個人情報漏洩等が起こらないよう細心の注意を払い、担当者が保管します。この研究は京都府立医科大学医学倫理審査委員会において、適切な研究であると承認されています。

(13) 成果の公表について

あなたの協力によって得られた計画の成果は、提供者本人やその家族の氏名など個人を特定できる情報は一切明らかにされないようにした上で、学会発表や学術雑誌およびデータベース上等で公に発表されることがあります。

(14) 試料の保存及び使用方法について

移植に使用する培養角膜内皮細胞は、GMP 準拠の細胞培養施設である京都府立医科大学 CPC において培養したものを移植に使用し、保存試料として関連する法令、指針、規定に従い、30 年間冷凍保存します。保存期間終了後は、適切な方法で廃棄します。

(15) 費用負担に関する事項

ここで行われる実施計画についての必要な費用は文部科学省の科学研究費や厚生労働省の研究補助金などの研究費から支払われますので、あなたが負担することはありません。一般診察に要する費用のうち自己負担分については、あなたが負担することになります。また、交通費などの支給は行いません。

(16) 利益相反（産学公連携活動等に伴う利益と職務遂行の責任とが相反している状態）について

本研究は京都府立医科大学等の研究費によって行われる予定ですが、本研究に携わる全研究者によって費用を公正に使った研究が行われ、本研究の公正さに影響を及ぼすような利害関係はありません。

(17) 問い合わせ、苦情等の窓口の連絡先等について

この実施計画についてのお問い合わせ先は 京都府立医科大学眼科において受け付けております。

担当者名 外園千恵 上野盛夫 電話番号 (075)-251-5578

6 説明者の氏名、所属及び捺印並びに説明を行った日時、場所

氏名 _____ 印

所属 眼科学教室

日時 _____ 年 _____ 月 _____ 日

場所 眼科外来

同 意 書

実施責任者

所属・職 眼科学教室・教授
氏 名 木下 茂 様

私（氏名）_____は、（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の実施について（説明者）_____より
（日時）_____年 _____月 _____日、（場所）眼科外来 _____において説明文書を用いて説明を受け、実施計画の意義、目的、方法、個人情報の保護方法などについて十分理解しましたので計画に参加することを同意いたします。

1 説明を受け理解した項目（□の中にご自分でレを付けてください）

- | | |
|---|---|
| ☐ 計画の意義及び目的 | ☐ 計画の実施方法 |
| ☐ 計画への参加は任意であること | ☐ 参加に同意した場合でも、随時文書により撤回できること |
| ☐ 研究対象者等の選定方法 | ☐ 研究対象者等への説明及びインフォームド・コンセントの取得方法 |
| ☐ 予想される結果、危険性等 | ☐ 試料・資料の保管について |
| ☐ 個人情報の保護方法 | |
| ☐ 費用負担に関する事項 | |

平成 _____年 _____月 _____日

研究対象者

氏 名
生年月日
住 所
電話番号

印