

## 先進医療B評価用紙(第2号)

評価者 構成員：竹内 勤 先生

先進技術としての適格性	
先進医療の名称	自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法
社会的妥当性 (社会的倫理的問題等)	<input checked="" type="checkbox"/> A. 倫理的問題等はない。 <input type="checkbox"/> B. 倫理的問題等がある。
現時点での普及性	<input type="checkbox"/> A. 罹患率、有病率から勘案して、かなり普及している。 <input type="checkbox"/> B. 罹患率、有病率から勘案して、ある程度普及している。 <input checked="" type="checkbox"/> C. 罹患率、有病率から勘案して、普及していない。
効率性	既に保険導入されている医療技術に比較して、 <input type="checkbox"/> A. 大幅に効率的。 <input checked="" type="checkbox"/> B. やや効率的。 <input type="checkbox"/> C. 効率性は同程度又は劣る。
将来の保険収載の必要性	<input checked="" type="checkbox"/> A. 将来的に保険収載を行うことが妥当。なお、保険導入等の評価に際しては、以下の事項について検討する必要がある。 <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px 0;">           ガイドラインなどにも記載のない本技術を保険収載するにあたって、本技術の適応についての情報を収集するため、多施設共同研究などでこの点を明らかにする必要がある。         </div> <input type="checkbox"/> B. 将来的に保険収載を行うべきでない。
総評	総合判定： <input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ 条件付き適 ・ 否 コメント： 末梢動脈疾患に対する間葉系骨髄細胞移植は、大量の骨髄液を採取して行う取り組みがなされてきたが、骨髄液採取に伴う患者負担の課題があった。本技術は、自家多血小板血漿を用いて骨髄細胞を培養して増殖させるため、少量の骨髄液採取で実施でき患者負担軽減につながる可能性がある。先進医療として本技術の有効性、安全性を検証する意義があると考ええる。

「自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法（整理番号B120）」の有効性・安全性にかかる評価について

先進医療技術審査部会

座長 山口 俊晴

東京医科大学病院から申請のあった新規技術について、先進医療技術審査部会で安全性・有効性について検討を行い、その結果を以下の通りとりまとめたので報告いたします。

1. 申請医療機関からの申請に基づく先進医療の概要

先進医療の名称：自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法
適応症：末梢動脈疾患（閉塞性動脈硬化症）
<p>内容：</p> <p>（概要・先進性）</p> <p>近年、薬物治療や血行再建術に限界のある重症の末梢動脈疾患（閉塞性動脈硬化症）に対して、自己末梢血または自己骨髄由来の幹細胞を虚血四肢骨格筋へ筋肉内移植することにより、虚血部周辺の組織からの血管新生の増強や側副血行の発達を促すことで、虚血組織の血流を確保し、組織障害や壊死を軽減させようとする試みがなされている。現時点で国内で実施されている血管再生医療は、遺伝子治療薬を用いる方法、あるいは、G-CSF（顆粒球コロニー形成刺激因子）を投与し、アフェレーシスを用いる方法はあるが、安全性および侵襲性の点で問題が残されている。</p> <p>本試験では、下肢切断のリスクを有する、重症糖尿病や透析患者を含む重症末梢動脈疾患（閉塞性動脈硬化症）患者を対象に、患者自身より採取した骨髄間葉系細胞を、自己末梢血から調製した多血小板血漿を用い、細胞調製室で培養し、末梢動脈疾患患者の虚血下肢内へ筋肉注射にて移植を行う事で、下肢の血流を改善させる治療法の有効性について検討する。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 主要評価項目：救肢率（細胞移植後1年） <ul style="list-style-type: none"> <li>細胞移植時に施行される局所創傷処置（デブリードマン、計画された小切断など）を除き、未計画で実施された標的肢大切断を患肢切断と定義</li> </ul> </li> <li>・ 副次評価項目：1)皮膚潰瘍の大きさ(皮膚潰瘍を有している場合)、2)6分間歩行距離テスト、3)visual analog scale(VAS)、4)TcPO<sub>2</sub> (Transcutaneous partial pressure of oxygen)、5)SPP (Skin perfusion pressure)、6)ABPI (Ankle brachial pressure index)、7)SF-12 (12-item short form health survey)、8)Fontaine 分類、9)Rutherford 慢性虚血肢</li> </ul>

### 臨床分類

予定試験期間：研究承認日から5年

(登録期間3年間、経過観察期間1年、データ固定期間1年)

予定症例数：50例

#### (効果)

従来の幹細胞移植では、骨髄中に存在する幹細胞は非常に少ないために、大量の骨髄を採取することが問題とされている。その為、骨髄穿刺により患者から得た少量の骨髄液から、細胞を培養する研究が行われつつある。細胞を培養する事で、大量の骨髄を採取する必要が無く、患者への負担を軽減した低侵襲治療と言える。細胞培養には通常、ウシ胎児血清を用いることが多いが、自己末梢血から血小板を濃縮した多血小板血漿を用いる培養法が開発されている。この方法では動物由来の試薬を使わず患者自身の細胞を使用するために、安全性が高く免疫学的拒絶反応などを避けることが可能である。本研究では、患者から少量の骨髄液を採取し、患者自身の末梢血から調製した多血小板血漿を用いて培養を行うことで治療に必要な量の細胞数を確保する事を目的としている。この方法は他施設では行っていない新しい試みである。以上から、重症糖尿病や慢性腎不全の併存の有無にかかわらず、末梢動脈疾患に対し有用な治療法になると考える。

#### (先進医療にかかる費用)

本技術に係る総費用は2,450,233円である。先進医療に係る費用は2,008,463円(このうち研究者負担(研究費等)は0円)となり、入院費用や検査の費用を含む患者負担額は2,144,210円(保険外併用療養費の患者負担分135,747円)である。

申請医療機関	東京医科大学病院
協力医療機関	なし

## 2. 先進医療技術審査部会における審議概要

(1)開催日時：令和3年12月9日(木) 16:00～

(第126回 先進医療技術審査部会)

#### (2)議事概要

東京医科大学病院から申請のあった新規医療技術について、申請書を基に、有効性・安全性等に関する評価が行われた。

その結果、当該技術を「適」とし、先進医療会議に報告することとした。

#### (本会議での評価結果)

(別紙) 第126回先進医療技術審査部会資料1-2, 1-3参照

### 3. 先進医療技術審査部会での検討結果

東京医科大学病院からの新規医療技術に関して、先進医療技術審査部会は、主として有効性・安全性等にかかる観点から論点整理を進め、それらの結果を申請書に適切に反映させ、その内容については全構成員が確認を行った。その結果、事前の指摘事項に対して試験計画等を適切に修正いただいたことを踏まえ、個々の被験者での再生医療等製品の品質と有用性評価項目の相関についても検討することで次のステップである治験に向けた有用なデータが蓄積されることを望むとして、当該新規技術の申請内容が先進医療として妥当であると判断した。なお、特定認定再生医療等委員会での審査が不十分である旨の指摘が多数あったことから、本部会での指摘事項を申請医療機関の施設長、特定認定再生医療等委員会にもお伝えいただくこととなった。

**先進医療 B 実施計画等評価表（番号 B120）**

評価委員 主担当：松山  
副担当：後藤 副担当：飛田 技術専門委員：一

先進医療の名称	自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法
申請医療機関の名称	東京医科大学病院
医療技術の概要	<p>近年、薬物治療や血行再建術に限界のある重症の末梢動脈疾患（閉塞性動脈硬化症）に対して、自己末梢血または自己骨髄由来の幹細胞を虚血四肢骨格筋へ筋肉内移植することにより、虚血部周辺の組織からの血管新生の増強や側副血行の発達を促すことで、虚血組織の血流を確保し、組織障害や壊死を軽減させようとする試みがなされている。</p> <p>現時点で国内で実施されている血管再生医療は、遺伝子治療薬を用いる方法、あるいは、G-CSF（顆粒球コロニー形成刺激因子）を投与し、アフエレーシスを用いる方法はあるが、安全性および侵襲性の点で問題が残されている。</p> <p>本試験では、下肢切断のリスクを有する、重症糖尿病や透析患者を含む重症末梢動脈疾患（閉塞性動脈硬化症）患者を対象に、患者自身より採取した骨髄間葉系細胞を、自己末梢血から調製した多血小板血漿を用い、細胞調製室で培養し、末梢動脈疾患患者の虚血下肢内へ筋肉注射にて移植を行う事で、下肢の血流を改善させる治療法の有効性について検討する。</p> <p>○主要評価項目：救肢率（細胞移植後1年） 細胞移植時に施行される局所創傷処置（デブリードマン、計画された小切断など）を除き、未計画で実施された標的肢大切断を患肢切断と定義</p> <p>○副次評価項目：1)皮膚潰瘍の大きさ（皮膚潰瘍を有している場合）、2)6分間歩行距離テスト、3)visual analog scale (VAS)、4)TcPO<sub>2</sub> (Transcutaneous partial pressure of oxygen)、5)SPP (Skin perfusion pressure)、6)ABPI (Ankle brachial pressure index)、7)SF-12 (12-item short form health survey)、8)Fontaine 分類、9)Rutherford 慢性虚血肢臨床分類</p> <p>○安全性の評価：移植後1年までにおける有害事象を「有害事象共通用語規準 v5.0 日本語訳 JCOG 版（略称：CTCAE v5.0 - JCOG）」7)に従い評価し、Grade 2 以上の有害事象の発生頻度を求める。</p>

	<p>○予定試験期間： 研究承認日から5年 （登録期間3年間、経過観察期間1年、データ固定期間1年）</p> <p>○目標症例数：50例</p>
--	--

【実施体制の評価】 評価者：  松山

1. 実施責任医師等の体制	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ <input type="checkbox"/> 不適
2. 実施医療機関の体制	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ <input type="checkbox"/> 不適
3. 医療技術の有用性等	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ <input type="checkbox"/> 不適
コメント欄：（「不適」とした場合には必ず記載ください。）	
実施条件欄：（修正すれば適としてよいものは、その内容を記載ください。）	

【倫理的観点からの評価】 評価者：  後藤

4. 同意に係る手続き、同意文書	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ <input type="checkbox"/> 不適
5. 補償内容	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ <input type="checkbox"/> 不適
コメント欄：（「不適」とした場合には必ず記載ください。）	
<p>最初の段階では、どのような患者さんが対象となるのか不明確であったこと、臨床研究のスケジュールがあいまいで、採血や骨髄採取から細胞移植にいたる過程で、患者さんが何をどのようにすればよいのかが不明確であったこと、研究の離脱と患者さんの負担金額との関係が明確でなかったことなど、説明同意文書としては、不十分な点が散見されたが、何回かのやり取りによって、それが是正されたことから、適と判断した。</p>	
実施条件欄：（修正すれば適としてよいものは、その内容を記載ください。）	

【試験実施計画書等の評価】 評価者：  飛田

6. 期待される適応症、効能及び効果	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ <input type="checkbox"/> 不適
7. 予測される安全性情報	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ <input type="checkbox"/> 不適
8. 被験者の適格基準及び選定方法	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ <input type="checkbox"/> 不適
9. 治療計画の内容	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ <input type="checkbox"/> 不適
10. 有効性及び安全性の評価方法	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ <input type="checkbox"/> 不適
11. モニタリング体制及び実施方法	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ <input type="checkbox"/> 不適

12. 被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ 不適
13. 試験に係る記録の取扱い及び管理・保存方法	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ 不適
14. 患者負担の内容	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ 不適
15. 起こりうる利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ 不適
16. 個人情報保護の方法	<input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ 不適
<p>コメント欄：（「不適」とした場合には必ず記載ください。）</p> <p>有効性の評価方法として、主要評価項目である救肢率に関して、死亡例であっても切断されていなければ救肢として評価される定義に基づいた試験計画でしたが、その点を含めた照会事項のやりとりを踏まえて、1年間の経過観察前に追跡終了した患者、死亡した患者、後治療が提供された患者は、救肢には含めず切断例と同様に扱う評価に修正され、かつ、修正された救肢率に基づく閾値、目標症例数なども計画書が修正されました。</p> <p>また、被験者の適格基準及び選定方法でも、当初は著しくQOLが障害されている患者とか、適応症例は医師の合議で決定するなど、曖昧かつ非定量的な設定がなされておりましたが、本試験の目的を達成するための本医療技術の対象となり得る集団を適切に選択できるような基準に修正するように求め、その修正がなされましたので、いずれも適と判断しております。</p> <p>認定再生医療等委員会で承認されていますが、臨床研究法や指針とのズレが大きいと感じる評価でした。</p>	
<p>実施条件欄：（修正すれば適としてよいものは、その内容を記載ください。）</p>	

【1～16の総評】

総合評価	<input checked="" type="checkbox"/> 適	条件付き適	継続審議	不適
予定症例数	50例	予定試験期間	研究承認日から5年 （登録期間3年間、経過観察期間1年、データ固定期間1年）	
実施条件：				
<p>コメント欄（不適とした場合は、その理由を必ず記載ください。）</p> <p>（修正すれば適となる場合は、修正内容を記載ください。）</p> <p>当初の申請では、治療と研究の混同と思われる記載が多々あり、適切に修正いただきました。また、治験に移行するという前提での先進医療であるため、当該技術に用いる細胞の品質規格、作用機序の明確化について、議論させていただきました。</p>				

本研究での個々の被験者での品質と有用性評価項目の相関についても検討することで、次のステップである治験にむけ、有用なデータが蓄積されることを望みます。

また、本審査でのやり取りは、先進医療技術の検討にあたり最低限検討すべき事項と考えます。これからの再生医療・細胞治療を先進医療に申請するにあたり、特定認定再生医療等委員会で参考にしていただきたいと思います。



先進医療審査の事前照会事項に対する回答1

先進医療技術名： 自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管  
 新生療法

2021年 10 月 8 日

所属・氏名： 東京医科大学病院 心臓血管外科 福田尚司

※照会に伴い変更が生じた場合は、関係書類も併せて修正して下さい。

1. 試験実施計画書

Verification は何回行われたでしょうか。また、verification により、製造工程および品質規格の範囲は設定されているでしょうか。細胞加工物そのものの品質規格と評価方法が不明です。先行研究の詳細データを検討し、本研究計画にどのように反映されたのか、ご教授ください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

本プロトコールに準じて行ったヒト MSC の多血小板血漿を用いた培養は、健常人で5回、患者で6回の実施経験があります。

また、FACS 解析(陽性:CD105、CD73、CD90、陰性:CD45、CD34、CD11b、CD14、CD19)および染色体検査を健常人3名のMSCに対し実施、MSCの均一性と遺伝子異常が無いことを確認しました。

私の理解不足であった場合は恐縮いたしますが、製造工程、品質規格、評価方法が示された書類「8 特定細胞加工物標準書\_東京医科大学\_Ver.0.2.」を添付いたします。以下に概要を示します。

また、試験実施計画書に、「3 細胞加工物の検証」として記載を追加しました。

検証データ (健常人5回、患者6回)

細胞形態	全例接着性の紡錘型の細胞
増殖性	全例80 %コンフルエント以上
細胞数	10 <sup>7</sup> ~ 10 <sup>9</sup> 個
生細胞率	85 %以上
無菌試験(間葉系細胞回収時)	全例陰性
エンドトキシン試験(間葉系細胞回収時)	0.5 EU/mL 未満
マイコプラズマ否定試験(間葉系細胞回収時)	全例陰性

「特定細胞加工物標準書」から転記

## 細胞加工物品質規格

検査項目	評価方法	判定基準
細胞形態	顕微鏡下での目視	接着性の紡錘型の細胞
増殖性	顕微鏡下での目視	80 %コンフルエント以上
細胞数	トリパンブルー染色法	$1.0 \times 10^7 \sim 9$ 個
生細胞率	トリパンブルー染色法	85%以上
無菌試験(スケールアップ時)*	寒天培養法	陰性
エンドトキシン試験(スケールアップ時)*	比色法(外部委託)	0.5 EU/mL 未満
マイコプラズマ否定試験(スケールアップ時)*	PCR 法(外部委託)	陰性

\*:最終製造工程である間葉系細胞回収時での検査結果は移植後に判明するため、移植時の品質評価はスケールアップ時での検査結果で判定を実施する。移植後にスケールアップ時の結果が判定基準を満たさないことが判明した場合、適切な抗生物質の投与等による感染症発生の予防や治療等を行う。

「特定細胞加工物標準書」から転記

基礎検討5例、臨床研究6例の全例において、最終製造工程である間葉系細胞回収時での安全性に関する検査結果に問題は認められませんでした。基礎検討時から細胞加工物の製造手順に大きな変更はないことから、移植時までには検査結果が得られスケールアップ時での安全性に関する検査結果を細胞加工物の品質規格としても問題はないと考えております。

培養期間および培養細胞数にばらつきを認めたため、細胞加工物の投与タイミング(入院日や手術室利用)、投与細胞数(規格)に幅を持たせる必要がありました。

また、無菌、エンドトキシンおよびマイコプラズマ否定試験では異常を認めなかったため、「特定細胞加工物標準書」に則った製造工程の順守により、品質の維持が可能と考えます。

### 2. 試験実施計画書

補償保険への加入が義務付けられていますが、補償保険に関する記載がありませんので、試験実施計画書(と同意説明文書)に記載をお願いします。

### 【回答】

研究計画書の「14 健康被害に対する補償」に以下のとおり追記いたしました。同意説明書の「8 健康被

害が発生した場合」にも同様の追記をいたしました。

(修正前)

補償の対象となる死亡・後遺障害に対しては契約している保険の規定に従い補償金を支払う。

↓

(修正後)

補償の対象となる死亡・後遺障害に対しては研究代表者が契約している補償保険の規定に従い補償金を支払う。

### 3. 試験実施計画書 P.4 細胞培養

予め凍結保存しておいた多血小板血漿を用いられませんが、多血小板血漿の無菌性はどのように担保されますでしょうか。多血小板血漿保存の方法(温度・環境等)、保存期限は設定されておられるでしょうか。目標細胞数が  $1.0 \times 10^7 \sim 9$  と幅が広いのですが、これだけの window のなかで有効性をどのように評価するのでしょうか。目標細胞数の  $1.0 \times 10^7 \sim 9$  は、verification あるいは先行試験により得られた成績でしょうか。BM20mL 程度からの MSC 培養で、1~2 週間で  $1.0 \times 10^9$  まで増殖するのだろうかという疑問です。

【回答】

無菌操作により採取された血液を、クラス 100 のアイソレーター内で操作し 2ml のクライオバイアルに分注することにより無菌性の担保と考えております。また、多血小板血漿を用いて培養する MSC に関し、培地交換時、スケールアップ時、および培養間葉系細胞回収時に、それぞれ無菌試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験を実施します。

使用期限は手順書内に 1 年とありますが、5 例の先行臨床研究では、血液採取から骨髄採取の期間は 10 日以内でした。

目標細胞数に関しては、先行臨床研究の患者検体 6 回の培養では、1 回は  $1.0 \times 10^7$  個に達せず、残りの 5 回は  $2.8 \times 10^7$  個から  $3.7 \times 10^7$  個、予備実験での健常人検体 5 回の培養では、 $1.0 \times 10^7$  個から  $5.8 \times 10^7$  個であったことを踏まえて設定いたしました。もし、 $1.0 \times 10^8$  個を超えた場合を想定したという考えです。

以上の旨について、試験実施計画書の「3 細胞加工物の検証」に記載を追加しました。

#### 4. 試験実施計画書 P.4 中間評価

無菌関連 3 試験については細胞加工物の品質試験であり、「中間評価」という項目名は混乱を招く恐れがあるため、「品質試験」など適切な項目名に修正をお願いします。

#### 【回答】

ご指摘ありがとうございます。ご指摘のとおり修正いたしました。

(修正前) 5.2.5 中間評価 →(修正後)6.2.5 品質試験

#### 5. 試験実施計画書 P.4 細胞の移植

細胞懸濁液の細胞濃度の規格をご教授ください。1箇所につき0.3~0.5mLの筋肉内注射とあります。液量は一定にするのが通常かと思いますが、いかがでしょうか。この投与量は適切でしょうか。細胞を懸濁する基液とその取扱いについてもご教授ください。

#### 【回答】

ご指摘をありがとうございます。

1か所の筋注量を0.3~0.5mlといたしましたのは、次の理由があります。

基本的には全て一か所0.5mlを投与いたします。

しかし、本治療法では、投与直前に1mlシリンジに分注しますが、最後の1本の量が0.5mlに達しない場合があります。廃棄せず利用できるように、先行研究では、4本のシリンジにそれぞれ0.5ml、0.5ml、0.5ml、0.3mlと薬液が入っている場合、調整して0.45ml×4本あるいは0.4ml×4本にして投与しました。細胞懸濁液の基液は生理食塩水です。

CPCで最終沈殿部に20mlの生理食塩水を加え懸濁液として出荷し、手術室で総量25mlになるようにさらに生理食塩水を加えます。

以上の旨について、試験実施計画書の「3 細胞加工物の検証」に記載を追加しました。

#### 6. 試験実施計画書 P.4 最終調製時の評価

無菌関連 3 試験については、細胞が貴重であることから、洗浄液を用いても構いません。ただし、培養して得られた細胞の品質評価がなされていることは大前提ですので、規格と verification の成績をお示しください。特に完全自家療法とされているので、資材取り違えに対する手当は必要で、そのための方策の一環としても品質規格が重要であるという思想です。

【回答】

規格を定めるにあたり、まず、健常人 3 名の MSC を用い、それぞれ FACS 解析(陽性: CD105、CD73、CD90、陰性: CD45、CD34、CD11b、CD14、CD19)および染色体検査を実施し、均一性と安全性を検討しました。(添付資料「Fukuda S et al. 2015 Mar 23(1) 72-79.」参照)

次に、先行研究などを参考に細胞加工物の全製造工程に関する特定細胞加工物標準書(添付資料参照)などを作成し、その手順に沿ってイヌの骨髄を培養し、虚血モデル実験に使用し効果と安全性を確認しました。

健常人 3 名の MSC も同様に、同標準書の手順に則り培養し、①細胞形態が接着性の紡錘形であること、生細胞率が85%以上であることを確認し、②無菌試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験が陰性であることを確認し、③SCID マウスに移植し、3 か月後に造腫瘍性のないことを確認しました。また、④SCID マウス虚血肢モデルにヒト培養 MSC を投与し有効性と安全性を確認しました。

マウスおよびイヌの動物実験を経て、2016 年から前向き介入臨床研究として、同一の標準書に則り作成した自家 MSC を用い、本治療法を 5 名の患者に実施し主要評価項目である安全性と副次評価項目である有効性を確認しました。

この研究期間中、同時に複数の患者の検体が CPC に存在することはありませんでしたが、複数の患者検体を同時期に扱う場合、CPC 施設手順書の「チェンジオーバー時の対応に関する手順書」に沿い除染を行い、また、インキュベータを患者ごとに分けて管理することで検体の取り違えを予防します。

以上の旨について、試験実施計画書の「3 細胞加工物の検証」に記載を追加しました。

7. 試験実施計画書 P.4 細胞の保管

原因究明用試料を研究用に転用するとあります。この記載では廃棄できなくなるかもしれませんが、転用後の取り扱いについて追記をご検討ください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。以下のとおり追記いたしました。

(修正前)

その後、原因究明用試料は研究用に転用する。

↓

(修正後)

その後、原因究明用試料は研究用に転用する。また、研究用に利用しない場合は廃棄することができる。

8. 試験実施計画書 P.8 統計解析方法

移植後に通院されなくなった患者さん、他院に転院された患者さんの取り扱いは、研究として保守的に取り扱われるべきと考えます。

切断率 0.3 人/年をヒストリカルデータとして考えておられますが、この数値の根拠をお示してください。当該研究が開始されてからの医学の進展を加味しておられるか、という背景です。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

添付資料「末梢閉塞性動脈疾患の治療ガイドライン\_2015\_日循」の P.11、左の列 1.3 患肢の予後に黄色ハイライトにあるように、2015 年のガイドラインに、重症虚血肢の 1 年切断率は 30%とあります。

9. 試験実施計画書 P.9 倫理基準の遵守

遵守すべき規範として臨床研究法の追記をお願いします。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。ご指摘のとおり追記いたしました。

(修正前)

ヘルシンキ宣言の精神に基づき、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」(厚生労働省 平成26年11月25日施行)に従って実施される。

↓

(修正後)

ヘルシンキ宣言の精神に基づき、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」(厚生労働省 平成26年11月25日施行)、「臨床研究法」(平成29年法律第16号)に従って実施される。

10. 試験実施計画書 P.14 参加施設への報告

現時点では単施設ですので、削除又は適切な修正をお願いします。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。以下のとおり追記いたしました。

(修正前)

研究代表者および研究責任者、研究協力者は年に1回、報告書を提出する。また、研究が終了、中止、中断、再開した場合には、随時、その報告書を提出する。

↓

(修正後)

研究参加施設が複数になった場合は、以下を遵守する。

研究代表者および研究責任者、研究協力者は年に1回、報告書を提出する。また、研究が終了、中止、中断、再開した場合には、随時、その報告書を提出する。

以上

## 先進医療審査の事前照会事項に対する回答2

先進医療技術名：自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管  
新生療法

2021年10月29日

所属・氏名：東京医科大学病院 心臓血管外科 福田尚司

※照会に伴い変更が生じた場合は、関係書類も併せて修正して下さい。

1. 試験実施計画書「2. 研究の背景」で、閉塞性動脈硬化症に対する治療アルゴリズムや他の治療方法(その治療成績を含む)を説明し、当疾患のうち本医療技術が対象とする臨床像を詳細にお示しください。

また、研究者が実施した先行試験の試験成績の詳細、バージャー病との相違点なども含めて、本試験に至った経緯についての詳細をお示しください。

### 【回答】

ご指摘をありがとうございます。

閉塞性動脈硬化症に対する治療アルゴリズムや他の治療方法に関して、2021年「包括的高度慢性下肢虚血の診療に関する Global Vascular Guidelines ポケットガイド日本語訳版」(日本血管外科学会雑誌 2021; 30: 141-162)および同ガイドラインの原著「Global Vascular Guidelines on the Management of Chronic Limb-Threatening Ischemia」(Eur J Vasc Endovasc Surg (2019) 58, S1eS109)にて検討いたしました。

本試験の対象である重症下肢虚血患者に対しての血行再建に関しては、カテーテルのアクセスができない場合や、吻合する血管が無い場合、あるいは代用血管とする静脈が無い場合など、解剖学的に血行再建が可能でない状況では、血行再建でなく切断あるいは対症療法となっております。

本試験における適格基準において、「既存の血行再建術が困難であるか適応の無い患者」という項目が、特定認定再生医療等委員会とのやり取りの中で脱落しておりました。前述の、一定の径を持った血管が無くカテーテルのアクセスができない場合や、吻合する血管が無い場合、あるいは代用血管とする静脈が無い場合など、解剖学的に血行再建が可能でない患者を対象とすることを適格基準に追記いたしました。



(修正前)

#### 4 対象患者

##### 4.1 末梢動脈疾患(閉塞性動脈硬化症)患者

Fontaine 分類ⅢあるいはⅣ度、Rutherford 慢性虚血肢臨床分類Ⅱ度4群からⅢ度6群に属し、安静時疼痛または虚血性潰瘍、壊死を有する患者で、著しくQOLが障害されている患者。

(修正後)

##### 5.1 適格基準

###### 閉塞性動脈硬化症患者

Fontaine 分類ⅢあるいはⅣ度、Rutherford 慢性虚血肢臨床分類Ⅱ度4群からⅢ度6群に属し、安静時疼痛または虚血性潰瘍、壊死を有する患者で、既存の血行再建術が困難であるか適応の無い患者。

また、先行試験の試験成績の詳細、バージャー病との相違点なども含めて、本試験に至った経緯についての詳細を下記のとおり試験計画書に追記いたしました。

(追加文)

#### 2.2 重症下肢虚血を有する患者の予後

閉塞性動脈硬化症は全身性に生じた動脈硬化の一部分症であり、特に重症虚血肢はその程度が進行した病態であることから、動脈硬化病変は冠動脈や脳血管を始め全身に及ぶ。重症虚血肢を有する患者の生命予後は不良であり、症状の初発後 1 年以内の死亡率は25%と言われている。

本邦においても Kumakura らによる末梢動脈疾患患者652人(平均年齢71.3 歳)の予後の調査の結果、5年生存率は間歇性跛行患者70.4%、重症虚血肢患者27.2%(同年代の一般人口87.4%)であり、重症虚血肢患者の予後は間歇性跛行患者と比較し有意に悪いことが明らかにされている。この重症虚血肢患者の5年生存率は、難治性のがんの生存率に匹敵するものである。

重症虚血肢に対する治療が不成功であった場合、下肢の最終的な転帰は切断である。大切断(足関節より上位)は一般的には「患者の生命を脅かすような抗し難い感染がある場合」、「安静時疼痛が管理できない場合」、あるいは「広範囲にわたる壊死が足部を破壊しているような場合」に行われる。重症虚血肢を有する患者の下肢の予後について、国内における大規模な疫学調査は行われていない。大阪で重症虚血肢を調査した松尾らの報告では、肢切断の発生頻度は人口10万人あたり年間1.3肢であり、それぞれ足関節以下が0.7肢、膝下0.4肢、膝上0.1肢の頻度であった。この報告をもとに国内での肢予後を推計すれば、人口1億2,512万人(令和3年5月1日現在)とした場合、年間の切断は約1,600肢程度と推定される。

重松らの全国140施設のアンケート調査によると、ASO の24.7% (Fontaine III度:5.0%、Fontaine IV度:38.6%)が最終的に下肢切断に至ったと報告されている。下肢切断が生命予後に及ぼす影響は大きく、大和らの報告によると閉塞性動脈硬化症が原因で下肢を切断した患者の切断後6か月以内の死亡が37.5%、2年以内の死亡が65.6%であった。さらに岡山県での長島らの下肢切断患者の実態調査でも、5年生存率は動脈硬化による大腿切断及び下腿切断でそれぞれ46.7%および25.0%であり、下肢切断後の生命予後が非常に悪いことを裏付けている。

## 2.3 先行試験の試験成績

### 2.3.1 対象(本試験と同様)

### 2.3.2 除外基準(本試験と同様)

### 2.3.3 目的

主要評価項目:安全性(有害事象の有無)

副次評価項目:有効性(救肢の有無、Fontaine 分類の推移、皮膚潰瘍の大きさ、6分間歩行距離、疼痛スケール、皮膚毛細血管かん流圧)

### 2.3.4 細胞加工物(本試験と同様)

### 2.3.5 安全性及び有効性の評価(本試験と同様)

### 2.3.6 結果

患者背景を表1に示す。

男性/女性	5/0
年齢(歳)(平均±標準偏差)	67.4±14.5
閉塞性動脈硬化症	4
バージャー病	1
糖尿病	4
慢性人工透析	3
虚血性心疾患	4
脳梗塞	1
高血圧	5
脂質異常症	5
過去の喫煙	5

表1 患者背景

安全性の指標である有害事象を表2に示す。

特定認定再生医療等委員会において、記載した有害事象と細胞投与の関係性は低いと判断された。

有害事象	症例数（名）
狭心症	1
肺炎	1
下肢切断	1
死亡	1

**表2 細胞投与後1年間における有害事象：**  
有害事象に関し、特定認定再生医療等委員会で細胞治療確認との関連は低いと判断された。

有効性の指標に関しては、Fontaine 分類における重症下肢虚血患者数が細胞投与後に減少した。(表3)

	投与前	投与後1か月	2か月	6か月	12か月
症例1	IV	IV	IV	IV	II
症例2	IV	IV	IV		
症例3	III	III	II	II	II
症例4	IV	IV	IV	IV	
症例5	III	III	II	II	I

	重症下肢虚血
	非重症下肢虚血

**表3 Fontaine分類の推移：**重症下肢虚血の割合が減少している。

虚血皮膚潰瘍を呈した3名の患者に関し、細胞投与後の潰瘍最大径の推移を表4に示す。症例2は既往症の悪化により細胞投与後 5 か月で死亡し、症例4は細胞投与後7か月で下肢切断となった。

	投与前	投与後1か月	2か月	6か月	12か月
症例1	71	60	60	7	0
症例2	24	10	8		
症例4	17	10	12	12	

**表4 潰瘍の最大径（mm）：**細胞投与前に比べ潰瘍最大径に改善傾向を認める。症例2は投与6か月を前に死亡、症例4は12か月を前に下肢切断となった。

また、細胞投与と6分間歩行距離(図1)および皮膚毛細血管かん流圧(図2)の関係を示す。

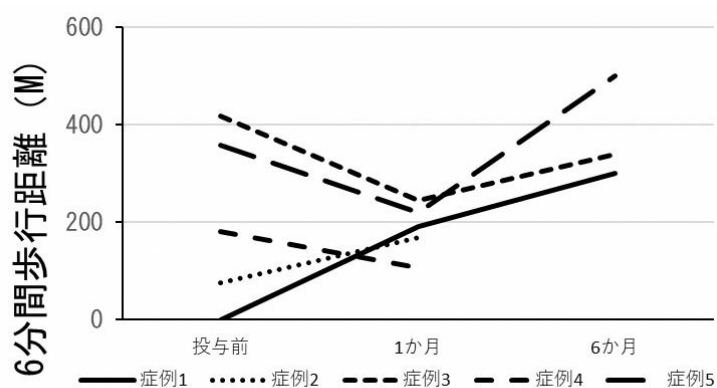


図1 6分間歩行距離：細胞投与後、改善傾向を示した。

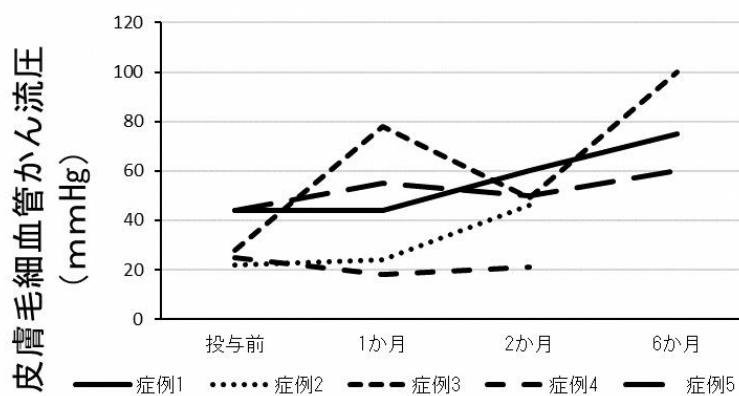


図2 皮膚毛細血管かん流圧：細胞投与後、改善傾向を示した。

## 2.4 臨床研究の結論

重症下肢虚血患者5名(閉塞性動脈硬化症4名、バージャー病1名)に本細胞治療を実施し、1年間の観察を行った。

この治療法が原因と考えられる有害事象は認めなかった。

1年間の救肢率は80%であった。また、Fontaine 分類、虚血皮膚潰瘍最大径、6分間歩行距離、皮膚毛細血管かん流圧に関して概ね改善傾向を示した。

## 2.5 本研究の対象患者について

閉塞性動脈硬化症の重症例である重症下肢虚血肢に対する治療法には、あまり選択の余地が無く、薬物治療が不十分であれば外科的バイパス術、カテーテルによる血管内治療等の血行再建術が選択される。重症虚血肢における外科的バイパス術と血管内治療の比較試験(Bypass versus Angioplasty in Severe Ischemia of the Leg: BASIL trial)では、3年間の予後には差がなかった。しかしながら、重症下

肢虚血肢の病態を取り巻く因子は多岐に渡っており、治療対象となる動脈病変は、病変長や性状や石灰化の程度等が患者毎に異なり、また病状も安静時疼痛とともに潰瘍の形態や感染の有無等多彩な病態を示す。このことから、血行再建術の選択も制限されることになる。

更に、外科的バイパス術では、自家静脈(多くの場合で大伏在静脈)を使用するが、質が不良な場合はそれにかわる優れた代用血管が見当たらない点が障害となる。血管内治療は低侵襲で繰り返しの治療が可能であるが、鼠径靭帯以下の動脈においては再狭窄や再治療率が比較的高い点が問題で、石灰化病変や長い閉塞病変では必ずしも成績が良好でない。重症虚血肢での好発部位である膝下動脈病変に対する血管内治療の成績は、その手技の難しさもあり、特定の限られた施設のみで実施されている。

薬物治療の効果が不十分な重症下肢虚血における治療の第一選択は、一般的に血管内治療及びバイパス術の血行再建術である。血行再建術は一定度の成績を示しているが、手技者の技能に依存する点や多彩な患者の病態像を考えると、必ずしも血行再建術が適応となる患者ばかりではなく、血行再建術そのものが施行できないあるいは施行が困難であると判断される患者や、血行再建術を施行しても十分な血行動態の改善が得られず、満足すべき症状改善効果が得られない場合が少なからず存在する。現在このような、血行再建術が不適応となった患者に対して下肢救済に有用な治療選択肢はなく、保存的治療での経過観察を余儀なくされ、最終的に下肢切断に至る患者が少なくないのが臨床現場の実情である。さらに、下肢切断を受けた患者の予後は不良で、下肢切断の回避は症状改善とともに生命予後の観点から重要な課題である。

本試験で Fontaine 分類ⅢあるいはⅣ度、Rutherford 慢性虚血肢臨床分類Ⅱ度4群からⅢ度6群に属し、安静時疼痛または虚血性潰瘍、壊死を有する患者で、既存の血行再建術が困難であるか適応の無い患者に限定した理由は、同患者群では、既存の標準治療を実施したが、その効果が不十分で、あるいは、グラフト血管の問題などで血行再建術が実施困難で、下肢切断の可能性が高いためである。

## 2.6 本試験に至った経緯

前述にあるように、閉塞性動脈硬化症の最重症例である重症下肢虚血の患者さんの足を1本でも多く残すことを目指して試験を立案した。

我々の細胞治療は先行研究によると虚血肢筋肉内に投与することで、血管の増生をもたらすと考える。非臨床試験におけるラットおよびイヌを用いた実験での検討から、培養間葉系細胞の筋肉内投与により、血管数を増生させること等により下肢血流を改善させることが示されている。また、血行再建術の適応が無く、下肢切断が予想される患者5例を対象とした臨床研究での検討では、本治療法の安全性および一定の有効性が示された。薬物治療の効果が不十分で血行再建術の施行が困難な閉塞性動脈硬化症患者において、我々の治療法は虚血部位における血管数と血流を増加することにより虚血状態

を改善する可能性を持っており(2.3.6結果の項を参照)、このような他の治療選択肢がない閉塞性動脈硬化症患者に対する治療法の1つとして考える。

先行臨床研究では、バージャー病も対象疾患としており、Fontaine 分類はⅢからⅠに改善を認めたが、本研究では、疾患の病因や経過が閉塞性動脈硬化症のそれとは異なり、本治療法の有効性を評価するうえで1つの疾患に絞る必要性を考慮し、より重症な閉塞性動脈硬化症のみを対象疾患とした。

2. 試験実施計画書「4. 対象患者」で、「著しく QOL が障害されている患者(4.1)」、「適応症例を当院医師等で決定する(4.4)」とありますが、4.1～4.5 を設定した根拠を追記すると共に、照会事項 2-1 の回答を踏まえて、本医療技術の対象となり得る集団を適切に選択するために、曖昧な基準ではなく具体的な検査値や QOL 値など定量的な基準を設ける必要がないかについてご検討ください。

なお、同意説明文書では既存の薬物治療、内科的治療、バイパス術などが施行できないか、十分な効果が認められない場合と記載されておりますので、試験実施計画書の記載内容との整合性がとれた記載をする必要があります。

#### 【回答】

ご指摘をありがとうございます。

適格基準のうち、「閉塞性動脈硬化症患者」の項を下記のように修正しました。設定根拠としましては、確立された既存治療の可能性があるのであれば、その治療方法を行うべきと考えました。

既存の血行再建術が困難であるか適応の無い重症下肢虚血患者さんにおいては、安静時痛あるいは虚血皮膚潰瘍があり Q O L は高度に制限されているため、Q O L の記載は削除しました。

(修正前)

#### 4 対象患者

##### 4.1 末梢動脈疾患(閉塞性動脈硬化症)患者

Fontaine 分類ⅢあるいはⅣ度、Rutherford 慢性虚血肢臨床分類Ⅱ度4群からⅢ度6群に属し、安静時疼痛または虚血性潰瘍、壊死を有する患者で、著しく QOL が障害されている患者。

(修正後)

#### 5 適格基準

##### 5.1 適格基準

- 閉塞性動脈硬化症患者

Fontaine 分類ⅢあるいはⅣ度、Rutherford 慢性虚血肢臨床分類Ⅱ度4群からⅢ度6群に属し、安静時疼痛または虚血性潰瘍、壊死を有する患者で、既存の血行再建術が困難であるか適応の無い患者。

3. 被験者保護の観点から、照会事項 2-1 の回答を踏まえて併用療法、併用禁止療法や後治療などに関する記載の追加をご検討ください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。試験実施計画書に下記を追加いたしました。

(追加文)

11 併用禁止薬・併用禁止療法・後療法

11.1 併用禁止薬

- 血管新生遺伝子治療薬やタンパク治療薬

11.2 併用禁止療法

- この治療以外の細胞移植治療 ・他の臨床試験薬および臨床試験機器
- 交感神経節ブロック
- 下肢の血管形成術、バイパス手術

11.3 併用制限薬

- 1). 臨床研究参加時の使用量を変更しないもの（ただし症状が改善していれば、減量・中止が可能）
  - 抗血小板薬(商品名:バイアスピリン®等)
  - ビタミン E 製剤(商品名:ユベラ N®等)
  - トラフェルミン製剤(商品名:フィブラストスプレー ®等)
  - プロスタグランジン E1 注射剤(商品名:パルクス 注®等)
- 2). 使用期間が制限されるもの（減量または休薬が可能）
  - ワルファリンカリウム(商品名:ワーファリン ®等)

11.4 後療法

救肢のための後療法は許容する。  
統計解析には交絡因子として扱う。

4. 本試験の対象被験者の登録方法に関する記載が試験実施計画書に記載されていないので、「6.3 スタディカレンダー」の研究前、研究期間との整合性も含めたシェーマも含めて詳細の追記をご検討ください。

## 【回答】

ご指摘をありがとうございます。

試験実施計画書に「研究登録」の項を立てました。

以下に示します。

### 13 研究登録

#### 1) 通常診察

外来で下肢虚血に対する通常診療を行う。

#### 2) 研究の説明・同意

試験適格基準に合致していれば、試験に関する説明を行い同意を得る。

#### 3) スクリーニング(試験適合)検査

試験適合検査として悪性腫瘍の可能性や網膜増殖性疾患の有無について確認する。

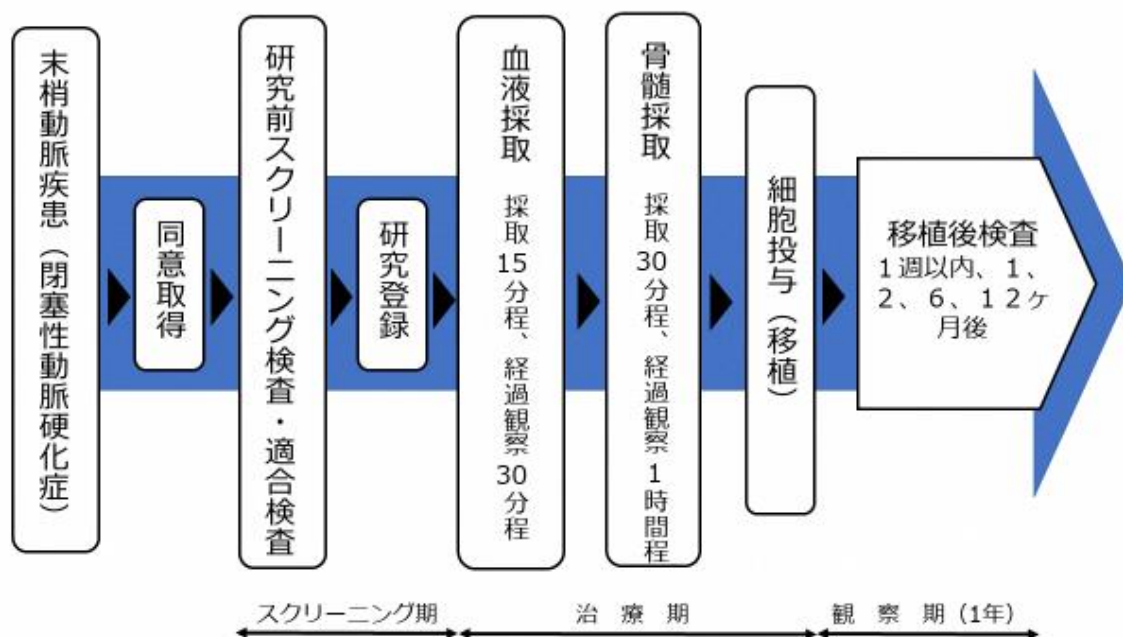
#### 4) 研究登録

上記検査で試験適合性が確認できれば研究登録を行う。

#### 5) 細胞培養準備開始

血液や骨髄の採取などを開始

治療期および観察期





5. 試験実施計画書 11.4, 4), 5)で、症例報告書は紙媒体と電子ファイル媒体の両方があり、すべての症例報告書はデータセンターのデータベースに保管される、と記載されていますが、データの流れや保管に関する情報や説明が乏しいため、詳細をご記載ください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

データは電子カルテから紙媒体として抽出され、データセンター内のデータベースに電子媒体として入力し保管されます。以下のように修正いたしました。

また、保管あるいは廃棄に関しましては同項7)に記載があります。

14.4(修正前 11.4) 個人情報の保護と被験者識別

4)

(修正前)

データの収集に当たっては、予め匿名化を行った後、症例報告書に記録する。すべての症例報告書は紙媒体に記録して手渡しするか、もしくは電子ファイルにてデータセンターに提出する。症例報告書には、研究用 ID 以外に個人を識別する情報を保持しない。研究業務に際して一時的に作成するコンピューターファイルについても同様とする。

(修正後)

データは電子カルテから紙媒体として抽出され、データセンター内のデータベースに電子媒体として入力し保管される。

データの収集に当たっては、予め匿名化を行った後、症例報告書に記録する。すべての症例報告書は紙媒体に記録し、データセンターに提出する。症例報告書には、研究用 ID 以外に個人を識別する情報を保持しない。研究業務に際して一時的に作成するコンピューターファイルについても同様とする。

6. ガイドラインから下肢切断率(1年予後の切断)を30%と仮定し、主要評価項目である救肢率の閾値を70%に設定しているとのことですが、救肢率は細胞の移植を行った全患者のうち「患肢切断がないことが確認されている患者(1年の経過観察前に追跡終了した患者は含まない)」と定義されていますので、切断された患者の他に中止例や死亡例(上記ガイドラインでは25%と記載)など切断以外の追跡終了/不能例が多くなると、救肢率の閾値としては70%よりも低下する可能性について考慮する必要がないかご説明ください。

また、本医療技術における救肢率の期待値を 88%とした根拠についての詳細もお示しください。

#### 【回答】

ご指摘をありがとうございます。

まず死亡例について、ご説明します。

ガイドラインでは、1 年後の転帰として、「救肢45%・切断30%・死亡25%」と明記されています。本研究は、ガイドラインの定義に倣い、死亡例は切断に含めないこととします。

また、中止例についてご説明します。本医療技術の対象者は、下肢切断リスクの高い重症患者であり、本試験参加後も定期的な通院が必要となります。転院等があった場合でも、転院先の医療機関と連絡をとることで、対象者の転帰を把握することが可能です。これらのことから、治療開始後 1 年未満で追跡不明となる可能性は極めて少ないと見込まれます。そのため、本研究では、中止例を、「切断無し」とみなします。なお、感度分析により、中止例を「切断有り」とみなした場合の分析も行います。

最後に、救肢率の期待値は、比較できる他の医療技術がなく、研究代表者が実施した先行研究のデータでは細胞投与後 3 年での切断数は1例であったという治療経験に基づき、現在の切断率(30%)を、少なくとも半分からそれ以上(50~60%程度)下げられると見込みました。すなわち、期待される切断率は  $30\% \times (1-0.6) = 12\%$  となり、救肢率は  $100\% - 12\% = 88\%$  と設定しました。

統計解析計画書を以下のように修正いたします。

#### 4 統計解析項目及び方法

(修正前)

##### (ア) 主要評価項目

[解析対象集団:FAS、PPS]

主要評価項目について、要約統計量を算出するとともに、人年法を用いて1年後救肢率を求める。また、経時的な切断の発生は、 Kaplan-Meier 曲線を描画することにより図示する。

細胞加工物の移植を行った患者を最大の解析対象集団(Full Analysis Set: FAS)として、移植後 1 年時点における救肢率(=「患肢切断がないことが確認されている患者(1 年の経過観察前に追跡終了した患者は含まない)」/「細胞の移植を行った全患者」)の点推定値ならびに Clopper-Pearson による95%信頼区間ならびに90%信頼区間を算出する。対照として想定する救肢率 0.7 人/年であることから、90%信頼区間の下限が70%を上回る場合に有効ありと判断する。

なお、FAS を主解析、PPS を副解析とする。

(修正後)

##### (オ) 主要評価項目

[解析対象集団:FAS、PPS]

主要評価項目について、要約統計量を算出するとともに、人年法を用いて1年後救肢率を求める。また、経時的な切断の発生は、 Kaplan-Meier 曲線を描画することにより図示する。

細胞加工物の移植を行った患者を最大の解析対象集団 (Full Analysis Set: FAS) として、移植後1年時点における救肢率(=「患肢切断がないことが確認されている患者(1年の経過観察前に追跡終了した患者は含まない)」/「細胞の移植を行った全患者」)の点推定値ならびに Clopper-Pearson による95%信頼区間ならびに90%信頼区間を算出する。対照として想定する切断率0.3人/年であることから、90%信頼区間の下限が70%を上回る場合に有効ありと判断する。なお、感度分析として、「1年の経過観察前に追跡終了した患者」を救肢率の分子に含む解析を行う。

FASを主解析、PPSを副解析とする。

7. 研究の中断については、試験実施計画書では、切断患者数が12例に達した時点と記載されていますが、統計解析計画書では8例発生時と異なっています。この理由についてご説明ください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

統計解析計画書の修正時に、試験実施計画書の修正が漏れておりました。正しくは8例で中断です。

以下のように修正いたします。

#### 20.4 研究の中断

(修正前)

切断患者数が12例に達した時点で、目標症例数に占める切断患者数が、日本脈管学会が示す標準治療における切断割合に達するため、研究を中断し、その旨特定認定再生医療等委員会へ報告の上、継続の可否の審議を依頼する。同委員会が継続可の判断があった場合でも、切断患者数が18例に達した時点で、従来よりも有意に救肢率が低下する可能性が統計的に示唆されるため、研究を中断する。その上で、特定認定再生医療等委員会へ報告し、研究の中止について、審議を依頼する

(必要症例数の計算に用いた設定)

片側アルファエラー0.1、切断率0.3(救肢率0.7)、検出力0.8、症例数40例とした二項検定を用いた場合、有意差が出る割合は0.4632となり、期待値としては $0.4632 \times 40 = 18.53$ 人である。

(修正後)

目標症例数 40 例のときに、切断患者数が 8 例発生した時点で主要評価項目において本治療の有効性を統計学的に示すことができなくなるため、本研究を中断のうえ、特定認定再生医療等委員会へ報告し、研究の中止について審議を依頼する。

(切断患者数設定の根拠)

目標症例数 40 例のときに、閾値である切断率 0.3 よりも本治療が有意に優れていることを示せるのは切断患者数が 7 例までである。切断患者数が 8 例以上となると  $p>0.05$  となり目標症例数を達成しても本治療の優越性を統計学的に示すことができない。

・目標症例数 40 例のうち切断患者数 7 例のときの切断率： $7/40=0.175(p=0.0422)$

・目標症例数 40 例のうち切断患者数 8 例のときの切断率： $8/40=0.200(p=0.0838)$

8. 骨髄採取・培養が 2 回まで可能とされていますが、1 回目から 2 回目までの期間の規定や骨髄採取における被験者の状態(改善/悪化)の判断規定について追記をご検討ください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

先行研究における 5 例のうち、下肢疼痛のため食事摂取困難な患者さんの細胞培養において、規定日数に達しても細胞数が細胞加工物の規定に達しませんでした。栄養サポート後、再培養を行い、問題なく規定を満たしました。

他の 1 例では、菌血症、骨髄炎で抗菌薬投与下に培養を行った患者さんでは、1 回目の培養で問題なく既定を満たしました。

この経験から、2 回目の骨髄採取・培養には全状態の改善が必要と考えますが、その評価方法として食事摂取量、および、血清総蛋白値あるいはアルブミン値の改善が必要と考えます。

患者さんにより差が大きいため、同値に絶対的な設定は困難なため、1 回目の値より改善していることが条件と考えます。

試験実施計画書、「20.1 被験者における研究の中止」を以下のように修正いたします。

(修正前)

次の場合は、該当する被験者の研究を中止する；

ただし、骨髄採取・培養は2回まで可能とし、2回目で移植に進めない場合は研究を中止する。この場合、別途の取り扱いとし次項に示す。

(修正後)

次の場合は、該当する被験者の研究を中止する;

ただし、骨髄採取・培養は2回まで可能とし、2回目で移植に進めない場合は研究を中止する。この場合、別途の取り扱いとし次項に示す。

(2回目を実施する条件は、食事摂取量、および、血清総蛋白値あるいはアルブミン値の改善が必要)

以上

### 先進医療審査の事前照会事項に対する回答3

先進医療技術名：自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管  
新生療法

2021年10月29日

所属・氏名：東京医科大学病院 心臓血管外科 福田尚司

※照会に伴い変更が生じた場合は、関係書類も併せて修正して下さい。

#### 1. (照会回答1-1に関連して①)

verification で FACS 解析を行い、CD105、CD73、CD90 陽性、CD45、CD34、CD11b、CD14、CD19 陰性を確認されたとのことです。目的細胞の同定と、目的細胞が製造されているかが肝要ですので、これら FACS 解析を特定細胞加工物の品質規格に加えてください。

#### 【回答】

ご指摘をありがとうございます。

試験実施計画書「6. 2. 5 品質試験」を以下の通り修正いたしました。

(修正前)

- 移植前の継代時にエンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験、無菌試験を行う。

(修正後)

- 採取した骨髄液に対し生物活性検査として FACS 解析を行い、CD73、CD90 陽性細胞がそれぞれ 95%以上であること、CD11b、CD14、CD19、CD34、CD45、CD79a 陽性細胞がそれぞれ 10%未満であることを確認する。
- 移植前の継代時にエンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験、無菌試験を行う。

#### 2. (照会回答1-1に関連して②)

また、作用機序の提示がなければ治験に進むことは困難であると想定されますので、MSC の作用機序について検討し、分泌物が作用機序に寄与するのであれば、当該分泌物を同定し、品質規格に加えてください。

#### 【回答】

ご指摘をありがとうございます。

また、ご指摘の通り MSC の作用機序は治験に進む上の今後の重要課題と言えます。

直接的な回答にはならないので恐縮いたしますが、まず、MSC の作用機序としては2通りあると考えます。

まずは投与した MSC が血管内皮細胞に分化し血管新生を呈する場合と、もう1つは MSC が血管新生メディエーターを分泌して血管が増生する場合です。

その割合には言及しておりませんが、前者は私たちの動物実験で確認しており(Fukuda S et al. 2015 Mar 23(1) 72-79.)、後者に関しては、落谷(東京医科大学)らによると、MSC の培養上清には血管新生物質である VEGF、VEGF2、HGF の発現が認められています(Banas A et al. STEM CELL 2008;26:2705-2712)。

さらに、前述の落谷先生と MSC 培養上清中に含まれるエクソソームやタンパクなどのメディエーターを対象にした基礎検討を科研費(課題番号:20K09133、課題名:完全自家血管新生療法における間葉系細胞培養に係るシグナル伝達に関する検討)のもと実施中で、まさに、作用機序の解明に貢献できるのではないかと考えております。(現時点では、前述の VEGF、VEGF2、HGF タンパクの他、いくつかのマイクロRNA が関与していることが分かっております。)

本試験の対象患者さんたちも、これらの2つの作用が関係していると考え次第で、現在実施中の基礎検討がもう少し進み、血管新生に関与するタンパクやマイクロRNA が解明されたならば、本試験で保存される予定である研究検体を然るべき手続きの上で利用し、MSC と血管新生の関係を明らかにして機序の解明に貢献して参りたいと存じます。

### 3. (照会回答1-1に関連して③)

無菌試験、エンドキシン試験、マイコプラズマ否定試験ですが、すべて特定細胞加工物で実施してください。なお、これら品質評価は被験者への投与後に判明すると思われることから、説明同意文書にも追記をお願いします。

#### 【回答】

ご指摘をありがとうございます。

試験実施計画書「6. 2. 5 品質試験」を以下の通り修正し、先進医療実施届出書にも同旨の修正をいたしました。また、同意説明書も以下のとおり修正いたしました。

(修正前)

- 移植前の継代時にエンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験、無菌試験を行う。

(修正後)

- 移植前の継代時にエンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験、無菌試験を行う。
- 特定細胞加工物に対しエンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験、無菌試験を行う。  
基準を満たさない場合は、適切な抗生物質の投与等による感染症発生の予防や治療等を行う。

## 同意説明書

(修正前)

### viii. 最終調製時の評価

培養して得られた細胞の一部で無菌試験、マイコプラズマ否定試験、エンドトキシン定量を実施します。

(修正後)

### viii. 最終調製時の評価

培養して得られた細胞の一部で無菌試験、マイコプラズマ否定試験、エンドトキシン定量を実施します。

基準を満たさないことが細胞投与後に分かった場合、適切な抗生物質の投与等による感染症発生の予防や治療等を行います。

#### 4. (照会回答1-1に関連して④)

「培養期間および培養細胞数にばらつきを認めたため、細胞加工物の投与タイミング(入院日や手術室利用)、投与細胞数(規格)に幅を持たせる必要がありました。」とのことです。このお考えであれば、培養期間を延長すること等で細胞数の幅をより狭く規定することが可能です。本試験は用量設定試験、あるいは用量による有効性への影響を検討されない単一 dose ですので、薬事への bridging が困難となってしまいます。照会回答1-3に「もし、 $1.0 \times 10^8$ 個を超えた場合を想定したという考えです。」とありますので、投与細胞数上限を $1.0 \times 10^8$ 個とすることをお勧めします。

## 【回答】

ご指導ありがとうございます。

健常人においても $10^8$ 個未満でしたので、関係書類において下記のように修正いたします。



(修正前)

$1.0 \times 10^{7\sim 9}$ 個

(修正後)

$1.0 \times 10^{7\sim 8}$ 個

5. (照会回答1-1に関連して⑤)

品質規格に総細胞数は規定があります。投与される細胞濃度の規定がありません。薬事へ展開されるとのことですので、細胞濃度を一定に保つことをご検討ください。これは、投与時の注射針を通過時のシアストレスにより、高濃度だと細胞生存率が低下するためです。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

先行研究では20ml 細胞懸濁液を手術室で投与直前に25mlに調整し、1箇所あたり0.5mlを50箇所前後に投与しました。

先進医療では先行研究の経緯を踏まえ、正確に均一の濃度、シアストレスになるように、試験実施計画を下記の如く修正いたしました。また、先進医療実施届出書および同意説明書にも同旨の修正をいたしました。

(修正前)

6.2.6 細胞の移植

手術室にて静脈麻酔下に、培養した骨髄細胞約 $1.0 \times 10^{7\sim 9}$  個、総量約10～50mlの懸濁液を、27G 針等を用いて1箇所につき0.3～0.5mlずつ、虚血下肢骨格筋に約40～60箇所に分割して筋肉内注射を行う。

(修正後)

6.2.6 細胞の移植

手術室にて静脈麻酔下に、培養した骨髄細胞約 $1.0 \times 10^{7\sim 8}$ 個/20ml の懸濁液を、総量25mlになるように調整し、27G 針を用いて1箇所につき0.5mlずつ、虚血下肢骨格筋に50箇所に分割して筋肉内注射を行う。

なお、穿刺部位の位置や深度の決定には超音波を使用する。

6. (照会回答1-3に関連して①)

多血小板血漿のコンタミネーションリスクは、採血時の初流血への菌の混入です。このリスクへの対応についてご教授ください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

多血小板血漿作成にかかる感染対策について再検討しました。

採血時の注意点として、自己血採取センターで局所消毒はイソジンを用い、採取者はマスク、帽子および滅菌手袋を着用して採血を実施いたします。

また、作成され分注された多血小板血漿の一部で無菌性検査を実施する方針といたしました。

それに伴い、試験実施計画書を以下のように修正いたしました。また、先進医療実施届出書および同意説明書においても同旨の修正をいたしました。

(修正前)

6.2.1 静脈血採取

約200ml程度の静脈血を採取する。

6.2.5 品質試験

<多血小板血漿についての記載無し>

(修正後)

6.2.1 静脈血採取

約200ml程度の静脈血を採取する。

標準予防策を実施し、採取者は滅菌手袋を使用する。

6.2.5 品質試験

- 作成し分注した多血小板血漿の一部で無菌試験を行う。

7. (照会回答1-3に関連して②)

「無菌操作により採取された血液を、クラス 100 のアイソレーター内で操作し 2mlのクライオバイアルに分注することにより無菌性の担保と考えております。」という点について、コンタミネーションリスクの低減は可能ですが、クラス 100 のアイソレーター内での操作で無菌性は担保できません。ですから、分注された多血小板血漿についての無菌性検査は必須となります。培養で抗生物質を使われている

ので、コンタミネーションをマスクングしてしまう可能性があり、より丁寧な無菌性担保に向けた対策が不可欠です。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

前述3-8と同様の回答といたします。

8. (照会回答1-6に関連して)

「SCID マウスに移植し、3 か月後に造腫瘍性のないことを確認しました」とありますが、当該仕様では造腫瘍性を評価できません。一方で、MSC ですので in vivo での造腫瘍性は不要で、in vitro で超長期培養による過剰増殖細胞の出現の有無を検討すれば事足りますが、こちらは検討されていますでしょうか。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

ご指摘いただいた点について正確に申し上げれば残念ながら検討しておりません。

ただ、購入したヒト MSC を3系統×3で合計 9 回、継代数と細胞数を他の研究の中で観察しております。全てにおいて3継代と6継代に比べ9継代では細胞数が著しく減少し、直接的な癌化の観察ではございませんが過剰増殖細胞の可能性は低いのではないかと考えております。

9. (照会回答1-8に関連して①)

移植後に通院されなくなった患者さん、他院に転院された患者さんの取り扱いは、研究として保守的に取り扱われるべきですので、切断患者と同じく event としてカウントするように計画を変更してください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

あらためて計画書を見直したところ、救肢率の計算式内で、分子は「患肢切断がないことが確認されている患者(1年の経過観察前に追跡終了した患者は含まない)」となっていました。これは、追跡不要となった患者は「救肢された患者に含まない」という意味であり、当初より追跡不能者は切断患者とすると、

定義としておりました。そこで、このことが明確になるよう、表現を改めました。計画書内の表現が紛らわしかった点、お詫びいたします。

(関連書類)

試験実施計画書、統計解析計画書

下に示すように、救肢率の計算の際、通院されなくなった患者さんは救肢に加えないように、分かりやすく試験実施計画書を修正いたしました。

(修正前)

細胞加工物の移植を行った患者を最大の解析対象集団(Full Analysis Set: FAS)として、移植後1年時点における救肢率(=「患肢切断がないことが確認されている患者(1年の経過観察前に追跡終了した患者は含まない)」/「細胞の移植を行った全患者」)の点推定値ならびに Clopper-Pearson による95%信頼区間ならびに90%信頼区間を算出する。対照として想定する切断率0.3人/年であることから、90%信頼区間の下限が70%を上回る場合に有効ありと判断する。

なお、FASを主解析、PPSを副解析とする。

(修正後)

細胞加工物の移植を行った患者を最大の解析対象集団(Full Analysis Set: FAS)として、移植後1年時点における救肢率(=「患肢切断がないことが確認されている患者(1年の経過観察前に追跡終了した患者は救肢された患者に含まない)」/「細胞の移植を行った全患者」)の点推定値ならびに Clopper-Pearson による95%信頼区間ならびに90%信頼区間を算出する。対照として想定する切断率0.3人/年であることから、90%信頼区間の下限が70%を上回る場合に有効ありと判断する。なお、感度分析として、「1年の経過観察前に追跡終了した患者」を救肢された患者に含む解析を行う。

なお、FASを主解析、PPSを副解析とする。

10. (照会回答1-8に関連して②)

「2015年のガイドラインに、重症虚血肢の1年切断率は30%とあります」とのことです。2015年以降の医学の進歩、ならびに貴学施設でのデータ蓄積についても検討し、「重症虚血肢の1年切断率は30%」として研究を進めることが適切であることをお示しください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

欧州、米国及びアジアの広範囲からのデータを基にした、2007年に発表された末梢血管疾患の診療指針 TASC II (The Trans-Atlantic Inter-Society Consensus Document on Management of Peripheral Arterial Disease II) においては、重症虚血肢の1年切断率は30%と記載されております。

2015年に日本循環器学会から発表された邦文のガイドラインも同様です。

学術論文上では切断率の改善が発表されておりますが、施設ごとの研究である場合や、地域での研究に過ぎず、evidence levelの高いものは見当たらないように思われます。

ちなみに当施設のデータについてですが、2006年からの7年間で65例の重症下肢虚血患者さんにカテーテル治療実施した結果で、1年切断率は10%程度であった、というデータを持ち合わせております。これに、アクセス血管の問題や感染の罹患などで手術適応が無く下肢切断になった患者、および、バイパス術を受けた後に下肢切断になった症例を加えると、やはり30%程度の切断率になると思われます。

また、わが国では、血管原性切断だけでなく切断者の全国的な疫学調査は行われておらず、2006年の厚生労働省「身体障害児・者実態調査」で、身体障害者総数、肢体不自由者数、上肢切断者数、下肢切断者数について述べられているに過ぎません。

したがって、現時点でevidenceに足ると思われる、重症下肢虚血患者さんにおける下肢切断率は上述のものと思われます。

以上

先進医療審査の事前照会事項に対する回答4

先進医療技術名： 自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管  
新生療法

2021年10月29日

所属・氏名： 東京医科大学病院 心臓血管外科 福田尚司

※照会に伴い変更が生じた場合は、関係書類も併せて修正して下さい。

1. 説明同意文書 6 頁

「今回の臨床研究の目的は、重症糖尿病や維持透析療法を受けており、かつ従来の内科的な薬物治療、血管形成術、または外科的なバイパス手術では症状の改善がみられなかった慢性重症下肢虚血(閉塞性動脈硬化症)の患者さまに…」とあるのに、その下の項目「4.1 対象となる患者さま」において、研究の対象となる患者さまとして、以下の記述があります。両方の記載が一致していないので、どのような患者を対象としているか明確にしてください。

「1) 末梢動脈疾患(閉塞性動脈硬化症)と診断され、歩行距離が著しく短く、あるいは、安静時の疼痛または皮膚潰瘍、壊死を有する方

既存の薬物治療、内科的治療(カテーテル治療)、そしてバイパス術などが施行できないか、あるいは、十分な効果が認められない場合」

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

「3.4 この臨床研究の目的および意義」の中で誤解を与えてしまいました。

適格基準の1つといたしましては、「Fontaine 分類ⅢあるいはⅣ度、Rutherford 慢性虚血肢臨床分類Ⅱ度4群からⅢ度6群に属し、安静時疼痛または虚血性潰瘍、壊死を有する患者で、既存の血行再建術が困難であるか適応の無い患者。」でございます。(照会事項2-2に対し修正あり)

同意説明書につきまして、以下のように修正いたしました。また、試験実施計画書および先進医療実施届出書においても同旨の修正をいたしました。

3.4 この臨床研究の目的および意義

(修正前)

今回の臨床研究の目的は、重症糖尿病や維持透析療法を受けており、かつ従来の内科的な薬物治

療、血管形成術、または外科的なバイパス手術では症状の改善がみられなかった慢性重症下肢虚血(閉塞性動脈硬化症)の患者さまに、局所麻酔を用いて採取したご自身の少量の骨髄液を、やはり、ご自身の血液で培養した細胞を、虚血下肢に移植したときの安全性および下肢の痛みや下肢の潰瘍・壊死が改善するかどうかといった治療の有効性について調べることです。(下線部を削除)

(修正後)

今回の臨床研究の目的は、従来の内科的な薬物治療、血管形成術、または外科的なバイパス手術では症状の改善がみられなかった慢性重症下肢虚血(閉塞性動脈硬化症)の患者さまに、局所麻酔を用いて採取したご自身の少量の骨髄液を、やはり、ご自身の血液で培養した細胞を、虚血下肢に移植したときの安全性および下肢の痛みや下肢の潰瘍・壊死が改善するかどうかといった治療の有効性について調べることです。

## 2. 説明同意文書 6 頁

除外基準の「1) 合併症により余命が著しく短いと考えられる患者」ですが、これは誰がどのように判断するのでしょうか。また、患者さんにはそれは必ず告げられるのでしょうか。また、その判断の根拠はどのようなものなのでしょうか。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

曖昧な表現であり修正が必要と考えます。

ここでは癌以外に関する状況について指し示しました。

疾患に関しましては、心不全による心カヘキシーなどを想定しました。

ただ、客観的指標に乏しく、余命の判断、告知の問題など考慮いたしますと、除外基準の 1) は関係書類から削除し、「8) 研究担当医師によりこの臨床研究への参加が不相当と判断された方」に包含することにいたしました。

## 3. 説明同意文書 7 頁

採血と骨髄採取は同時に行うのでしょうか。それぞれどのくらい時間がかかるのでしょうか。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。採血と骨髄採取は別日程で実施いたします。

骨髓採取後、速やかに培養工程に入るためです。

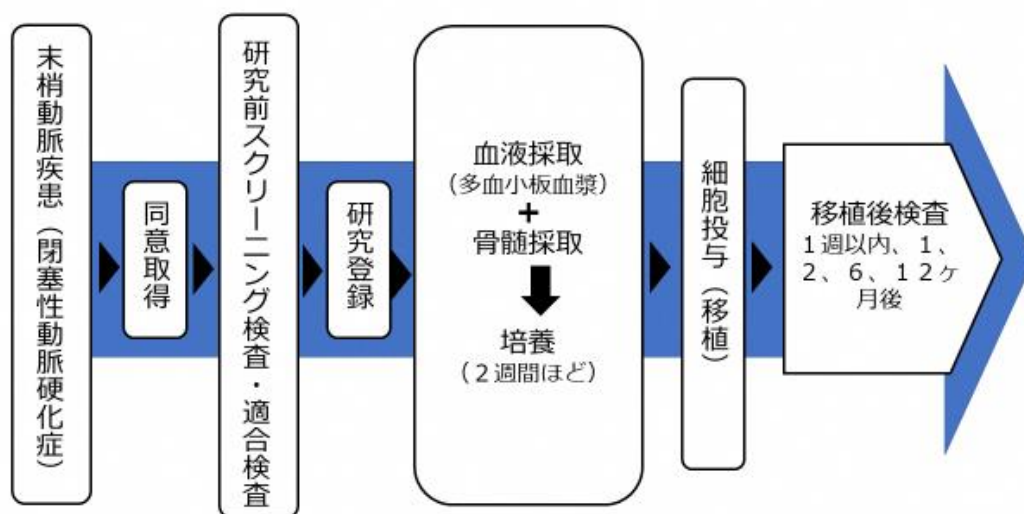
その間隔は、先行研究 6 例では、最短 3 日、最長 7 日でした。(外来に来院される患者さんの都合に依存します。)

所要時間は、自己血採血は 15 分程度、その後、30 分程度経過観察いたします。

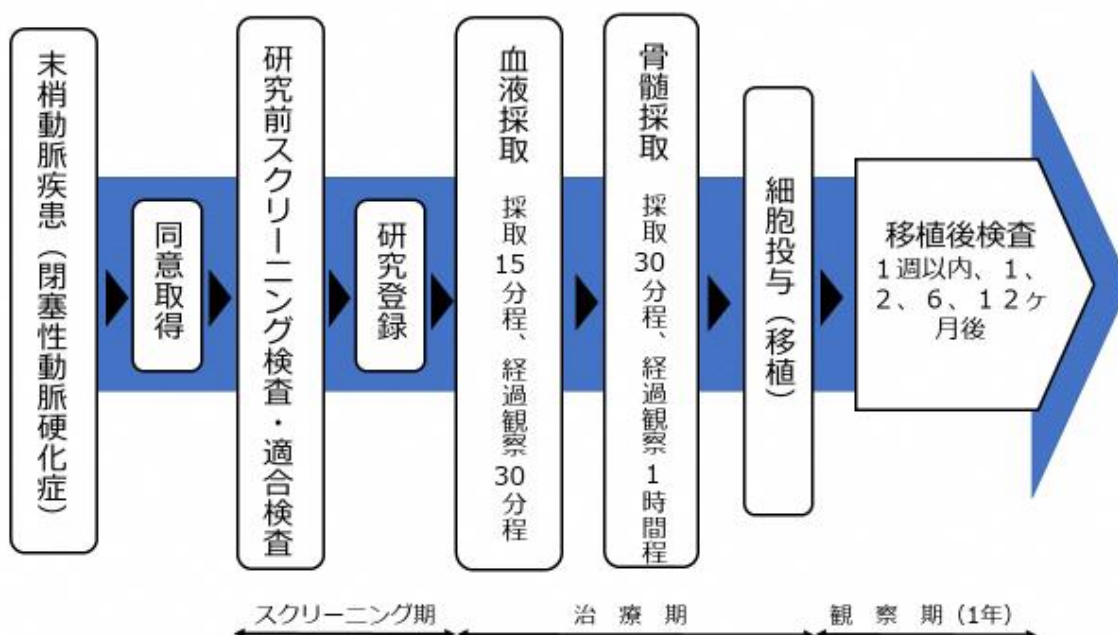
骨髓採取は、30 分程度です。先行研究 6 例では、全例が抗血栓療法を受けておりましたので、骨髓採取後、1 時間の仰臥位安静による仙骨圧迫後、出血の無いことを確認して帰宅していただきました。

シエーマを修正いたしました。

(修正前)



(修正後)





4. 説明同意文書 13 頁 「6.1 予想される効果」

有効性についてはまだわかりませんが、安全性があるかどうかは、わからないのではないのでしょうか。安全性があるという根拠を教えてください。また、それについては、説明同意文書に明記してください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

先行臨床研究 5 症例を 1 年間観察し、細胞移植に関連した有害事象が無かったこと、動物実験においても同様の結果であったため、一定の安全性はあると考えました。しかし、症例数は少なく、観察期間も短いため、その安全性は著しく限定的であると言わざるを得ませんでした。

「安全性」の記載を削除いたします。

5. 説明同意文書 14 頁 「癌化について」

「移植後1ヶ月後、2ヶ月後、6ヶ月後に経過観察を行います」とありますが、癌化のリスクについては、1年たてばなくなるということでしょうか。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

癌化のリスクは一生のあいだ続くと考えます。

同意説明書を以下のように修正いたしました。また、関係書類にも同旨の修正をいたしました。

P.14 ◆その他の副作用情報 ①癌化について

(修正前)

CT 検査は、診察により腫瘍形成が疑われる場合に行い、腫瘍化が疑われる場合には生検を行います。

(修正後)

CT 検査は、診察により腫瘍形成が疑われる場合に行い、腫瘍化が疑われる場合には生検を行います。

また、研究観察期間終了後も、癌化についての注意意識持って経過観察します。

6. 説明同意文書 15 頁 「7. 慢性重症下肢虚血に対する他の治療」

照会事項4-1に抜粋した記載にあるように、手術等何をして改善が見られなかった患者さんが対象だとすれば、ほかの治療の可能性はないとも理解できるのですが、ほかの治療の可能性はあるのでしょうか。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

分かりにくく誤解を与えてしまうため以下のように修正いたしました。

P.15 7. 慢性重症下肢虚血に対する他の治療

(修正前)

慢性重症下肢虚血のほかの治療法としては、血管形成術・バイパス手術や末梢血管改善薬による治療等があります。しかしながら、血管形成術・バイパス手術では、手術が適応となる血管が限られることと、末梢の小血管の閉塞に対しては実施できないなどから十分な効果が得られない場合が考えられます。また、遺伝子治療に関して、本研究と比較した検討はなされていないので、どちらが優れているかはわかっていません。

(修正後)

一般的には、慢性重症下肢虚血の治療法としては、血管形成術・バイパス手術や末梢血管改善薬による治療等があります。しかしながら、今回は血管形成術・バイパス手術や末梢血管改善薬投与の実施では効果が不十分で、あるいは、実施が困難であったため、下肢虚血の状態が継続しております。

この状況における他の治療法としては、2021年現在、保険適用となっている下肢の血流を増加させる治療には遺伝子治療薬があります。これに関して、本研究と比較した検討はなされていないので、どちらが優れているかはわかっていませんが、ご希望があれば、その遺伝子治療薬による治療を選択いただくことも可能です。ただし、併用はできません。(「3.2 従来の治療法について」をご参照ください。)

7. 説明同意文書 20 頁 「14.研究治療の中止について」

医学的理由で培養後に治療を中止しても、費用は発生するのでしょうか。2 回目の費用については、同じだけかかるのでしょうか。また、検査は同じように行うのでしょうか。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

研究中止の場合の費用については、「11.臨床研究の費用」で記載してありますが、少しわかりにくいいため修正いたしました。

基本的には、中止した時点で実際にかかった費用を負担していただくというコンセプトです。

同意説明書を以下のように修正いたしました。また、試験実施計画書にも「20.4 中止の場合の費用負担について」という項目を新規追加いたしました。

#### P.20 14. 研究治療の中止について

(新規追加)

◆患者さま個人の状態に関する理由での中止、医学的理由での中止の場合、費用は中止した時点までの負担となります。

#### 【医療費に係る内訳】

医療費総額・・・ 2, 450, 233円

(医療総額費 2, 450, 233円の内訳)

保険者負担額・・・ 306, 023円

患者負担総額・・・ 2, 144, 210円

(患者負担総額 2, 144, 210円の内訳)

保険算定分(3割で計算)・・・ 135, 747円

先進医療分・・・ 2, 008, 463円

(先進医療分 2, 008, 463円の内訳)

細胞培養・・・ 1, 364, 256円

細胞投与・・・ 644, 207円

また、2回目の費用に関しては、かかった費用を負担していただきます。ただ、検査に関しては、バイタルサインチェック、一般採血検査、胸部レントゲン検査、心電図検査のみ再実施いたします。先行研究では、1例が2回目の培養を行いました。が、前述の検査を実施いたしました。

同意説明書を以下のように修正いたしました。また、試験実施計画書にも同旨の修正をいたしました。

P.18 11. 臨床研究の費用

(修正前)

ただし、研究中止の場合は、その時期により以下に従うものとします。

- 1) 研究参加～培養前: 中止までの診療は保険診療の範囲内であるため、加入している健康保険に応じた患者負担分のみ費用が発生します。
- 2) 培養～投与前: 培養までの診療は保険診療の範囲内であるため、加入している健康保険に応じた患者負担分のみ費用が発生しますが、培養に関しては先進医療に該当するため全額患者負担となります。
- 3) 投与以降: 培養及び投与までは先進医療に該当するため全額患者負担となります。

(修正後)

ただし、研究中止の場合は、その時期により以下に従うものとします。

- 1) 研究参加～培養前: 中止までの診療は保険診療の範囲内であるため、加入している健康保険に応じた患者負担分のみ費用が発生します。
- 2) 培養～投与前: 培養までの診療は保険診療の範囲内であるため、加入している健康保険に応じた患者負担分のみ費用が発生しますが、培養に関しては先進医療に該当するため全額患者負担となります。
- 3) 投与以降: 培養及び投与までは先進医療に該当するため全額患者負担となります。
- 4) 2度目の培養に係る費用(細胞培養関連費 1,364,256円)は全額患者負担となります。

以上

## 先進医療審査の事前照会事項に対する回答5

先進医療技術名： 自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管  
新生療法

2021年 11月 4日

所属・氏名： 東京医科大学 心臓血管外科 福田尚司

※照会に伴い変更が生じた場合は、関係書類も併せて修正して下さい。

### 1. (照会回答2-6に関して)

提示されているガイドラインでは、1年後の転帰として、「救肢45%・切断30%・死亡25%」とされているにも関わらず、観察期間中の死亡例を切断ではなく救肢例に含めた閾値として設定しています。つまり救肢率の閾値や期待値の設定を、切断例の割合のみに基づいて設定していますが、閾値を $100\% - 30\% = 70\%$ ではなく、死亡例を考慮した45%に近い値として設定する必要はないでしょうか。同様に期待値およびそれに伴う目標症例数の設定に関して再考する必要はないでしょうか。

### 【回答】

ご指摘に沿って、死亡例は救肢率に含めないこととし、閾値を45%と設定のうえ、目標症例数、ならびに中止基準の症例数(切断または死亡患者数)を計算いたしました。

統計解析計画書を以下のように修正いたします。また、下記と同様の修正を試験実施計画書および先進医療実施届出書に加えました。

#### P.1 (イ) 目標症例数の設定根拠

##### (修正前)

以下の設定により、算出された目標症例数は40例であった。

(必要症例数の計算に用いた設定)

閾値 70%、期待値 88%とし、有意水準片側 5%の二項検定を用いる場合に、37例以上あると検出力が80%を保證できる。脱落を5%程度想定し、40例とする。

##### (修正後)

以下の設定により、算出された目標症例数は50例であった。

(必要症例数の計算に用いた設定)

救肢率(死亡を除く)の閾値 45%、期待値 63%とし、有意水準片側 5%の二項検定を用いる場合に、

47 例以上あると検出力が 80%を保証できる。脱落を 5%程度想定し、50 例とする。

#### P.1 (エ)臨床研究の中止基準

(修正前)

目標症例数 40 例のときに、切断患者数が 8 例発生した時点で主要評価項目において本治療の有効性を統計学的に示すことができなくなるため、本研究を中断のうえ、特定認定再生医療等委員会へ報告し、研究の中止について審議を依頼する。

(切断患者数設定の根拠)

目標症例数 40 例のときに、閾値である切断率 0.3 よりも本治療が有意に優れていることを示せるのは切断患者数が 7 例までである。切断患者数が 8 例以上となると  $p > 0.05$  となり目標症例数を達成しても本治療の優越性を統計学的に示すことができない。

・目標症例数 40 例のうち切断患者数 7 例のときの切断率： $7/40=0.175(p=0.0422)$

・目標症例数 40 例のうち切断患者数 8 例のときの切断率： $8/40=0.200(p=0.0838)$

(修正後)

目標症例数 50 例のときに、切断(死亡を含む)数が 22 例発生した時点で主要評価項目において本治療の有効性を統計学的に示すことができなくなるため、本研究を中断のうえ、特定認定再生医療等委員会へ報告し、研究の中止について審議を依頼する。

(切断患者数設定の根拠)

目標症例数 50 例のときに、閾値である救肢率 0.45 よりも本治療が有意に優れていることを示せるのは切断(死亡を含む)数が 21 例までである。切断(死亡を含む)数が 22 例以上となると  $p > 0.05$  となり目標症例数を達成しても本治療の優越性を統計学的に示すことができない。

・目標症例数 50 例のうち切断患者数 21 例のときの切断率(死亡を含む)： $21/50=0.42(p=0.0323)$

・目標症例数 50 例のうち切断患者数 22 例のときの切断率(死亡を含む)： $22/50=0.44(p=0.0590)$

2. 照会事項2-3に対する回答の中で、後治療法を交絡因子として扱うと記載されていますが、治療後に発生する可能性がある要因について、どのような取り扱いを行うのか、具体的に説明し、必要があれば統計解析の項にも詳細を追記してください。

【回答】

ご指摘を踏まえ、後治療法が提供された場合、切断例と同様として評価することとします。なお、感度

分析として、切断例に含めない解析を実施いたします。

統計解析計画書を以下のように修正いたします。また、下記と同様の修正を試験実施計画書に加えました。

#### P.3～4 (オ)主要評価項目

(修正前)

救肢率(=「患肢切断がないことが確認されている患者(1年の経過観察前に追跡終了した患者は救肢された患者に含まない)」…

なお、感度分析として、「1年の経過観察前に追跡終了した患者」を救肢された患者に含む解析を行う。

(修正後)

救肢率(=「患肢切断がないことが確認されている患者(1年の経過観察前に追跡終了した患者、死亡した患者、後治療が提供された患者は、救肢された患者に含まない)」…

なお、感度分析として、「1年の経過観察前に追跡終了した患者」「死亡した患者」および「後治療が提供された患者」を、救肢された患者に含む解析を行う。

以上

先進医療審査の事前照会事項に対する回答6

先進医療技術名： 自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管  
新生療法

2021年 11月 8日

所属・氏名： 東京医科大学 心臓血管外科 福田尚司

※照会に伴い変更が生じた場合は、関係書類も併せて修正して下さい。

1. (照会回答3-1に関連して)

verification で FACS 解析を行い、CD105、CD73、CD90 陽性、CD45、CD34、CD11b、CD14、CD19 陰性を確認されたとのことでした。ご回答には、「採取した骨髄液に対し生物活性検査として FACS 解析を行い、CD73、CD90 陽性細胞がそれぞれ 95 %以上であること、CD11b、CD14、CD19、CD34、CD45、CD79a 陽性細胞がそれぞれ 10 %未満であることを確認する。」とあります。

骨髄液は heterogeneous な集団であるため、その FACS では当該データは取得できません。特定細胞加工物での細胞表面マーカーの誤記だと思いますので、修正をお願いします。

また、CD105 が抜け落ちていますが、これも記載漏れと思われるので、追記をお願いします。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

ご指摘の通り、誤記および記載漏れです。

以下のように試験実施計画書を修正いたします。また、下記と同様の修正を先進医療実施届出書に加えしました。

P.11 6.2.5 品質規格 (※「品質試験」を「品質規格」に変更しました。)

(修正前)

採取した骨髄液に対し生物活性検査として FACS 解析を行い、CD73、CD90 陽性細胞がそれぞれ 95 %以上であること、CD11b、CD14、CD19、CD34、CD45、CD79a、HLA クラス II 陽性細胞がそれぞれ 10 %未満であることを確認する。



(修正後)

特定細胞加工物に対し生物活性検査として FACS 解析を行い、CD105、CD73、CD90 陽性細胞がそれぞれ 95 %以上であること、CD11b、CD14、CD19、CD34、CD45、CD79a、HLA クラス II 陽性細胞がそれぞれ 10 %未満であることを確認する。

2. (照会回答3-2に関連して)

MSC は血管内皮細胞に分化するわけではないと思われます。現段階で Mode of Action が不明であり、本試験をどのように薬事承認への bridging 試験とするか不明です。MOA を担保する生理活性物質の測定をお願いします。具体的には、Banas らの論文を引用されておられるので、VEGF、VEGF2、HGF が MOA に寄与するとお考えと思われますので、これら物質を品質規格として設定することは 1 案であろうと思われます。

また、Extracellular vesicles (EVs)も作用に寄与するとお考えなので、それらについてはモニタリング項目として測定することをお勧めします。

【回答】

ご指摘ありがとうございます。

VEGF、HGF の発現を品質規格に加えます。

また、我々が基礎検討で得た知見として、血管新生に関与した複数の Extracellular vesicles (EVs)があり、これらについてもモニタリング指標として測定いたします。

以下の通り、試験実施計画書を修正いたしました。また、下記と同様の修正を先進医療実施届出書に加えまました。

P.11 6.2.5 品質規格 (※「品質試験」を「品質規格」に変更しまました。)

(以下を追加)

- 培養上清中に VEGF、HGF が発現していることを確認する。

設定理由:

Banas によると骨髓間葉系細胞培養上清中に VEGF、HGF が発現していることが示された。

発現していない場合を除外する目的で上記設定とした。

- Extracellular vesicles (EVs)を単離し、血管新生に関与するマイクロ RNA をモニタリング項目として測定する。

3. (照会回答3-5に関連して)

細胞濃度を一定にせず、投与用量(投与場所数)を一定にすると理解しました。薬事への bridging のため、特定細胞加工物の細胞濃度、細胞生存率を品質規格に設定されていることを確認してください。

【回答】

細胞加工物の品質規格を、細胞数 $1.0 \times 10^7 \sim 8$ 個/20ml の懸濁液、生細胞率85%以上、無菌試験及びマイコプラズマ否定試験で陰性、エンドトキシン試験で0.5 EU/mL 未満とします。

特定細胞加工物標準書の一部を下記に示します。

4.2.2. 特定細胞加工物の概要

(1) 特定細胞加工物の特性及び規格

試験項目	判定基準
1) 細胞形態	接着性の紡錘形の細胞
2) 細胞数	$1.0 \times 10^7 \sim 8$ 個
3) 生細胞率	85 %以上
4) 無菌試験	微生物の増殖を認めないこと
5) エンドトキシン試験	0.5 EU/mL 未満であること
6) マイコプラズマ否定試験	マイコプラズマ特異的DNA が検出されないこと
7) 生物活性	CD105、CD73、CD90 陽性細胞がそれぞれ95 %以上であること CD11b、CD14、CD19、CD34、CD45、CD79a、HLA クラスII 陽性細胞がそれぞれ10 %未満であること
8) 生理活性	培養上清中に VEGF、HGF が発現していることを確認する。
9) モニタリング指標	血管新生に関与するマイクロ RNA を測定すること

最終調製物の検査結果が出るのは患者への移植後となる。判定基準を満たさないことが判明した場合、適切な抗生物質の投与等による感染症発生の予防や治療等を行う。

4. (照会回答3-6に関連して)

PVP-I で消毒しても、毛包に存在する菌は一部残存します。献血での手技を参考に、初流血(5-10ml 程度)を破棄するよう、採血手順を作成してください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

以下のように、試験実施計画書を修正いたしました。また、下記と同様の修正を同意説明書、先進医療実施届出書に加えました。

P.11 6.2.1 静脈血採血

(以下を追加)

ただし、初流血(5-10ml 程度)を破棄する。

5. (照会回答3-7に関連して)

BSC 内であっても、操作が煩雑になると資材へのコンタミリスクが上昇するという懸念からお聞きしました。2mL のチューブですが、分注されたのちのシーリングなど、ご検討ください(助言として取り扱っていただいてもよいです)。

【回答】

ご助言ありがとうございます。

多血小板血漿へのコンタミネーションリスクに対しまして、リスクアセスメントを実施し、ご助言いただきましたシーリングなどのリスク低減策を検討いたします。

6. (照会回答3-8に関連して)

購入した MSC と、完全自家培養 MSC は異なった細胞集団であるため、現段階で造腫瘍関連試験はなされていないと理解しました。薬事申請では造腫瘍関連試験の成績を求められますので、本研究が先進医療として行われている間に PMDA と相談の上、実施してください。

【回答】

ご助言をありがとうございます。

本研究の実施にあたりまして、速やかに PMDA と相談を行います。

以上

先進医療審査の事前照会事項に対する回答7

先進医療技術名： 自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管  
新生療法

2021年 11月 25日

所属・氏名： 東京医科大学 心臓血管外科 福田尚司

※照会に伴い変更が生じた場合は、関係書類も併せて修正して下さい。

1. (照会回答2-2に関連して)

適格基準の4つ目に記載されている「適応症例：当院医師(循環器科、心臓血管外科、血液内科等)、協力施設医師、および研究代表者、研究協力者で合議し恣意的にならないように配慮し決定し記録を残す。」については、本試験の目的(PICO)から想定される適切な対象 Patients を、合議することなく、かつ、恣意的にならないように選択基準で設定すべきであり、本治療を一般化するためにもより定量的な基準を設ける必要があると思われます。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

適応症例欄を設定した意図は、一定以上のADLの患者さんを治療対象とするためです。

先行研究5名ではADLの評価を行っていませんでしたが、カルテから追える範囲でバーセルインデックス(下記参照)を算出した結果、40点が最小値と思われました。

そのため、試験実施計画書を以下のように修正いたしました。

また、同様の修正を先進医療実施届出書に加え、患者同意説明書に追記いたしました。

試験実施計画書 P.10 5.1 適格基準

(修正前)

適応症例：当院医師(循環器科、心臓血管外科、血液内科等)、協力施設医師、および研究代表者、研究協力者で合議し恣意的にならないように配慮し決定し記録を残す。

(修正後)

以下に示す日常生活動作を有する患者。

バーセルインデックス(Barthel Index)  $\geq 40$

※下にバーセルインデックスを示す。

【設定根拠】

先行研究 5 名において、カルテから追える範囲でバーセルインデックスを算出した結果、40点が最小値であったため。

<※試験実施計画書においては、後述でバーセルインデックス表を引用>

2. (照会回答5-2に関連して)

後治療が行われた症例は切除例と同様に評価する回答に異論はありませんが、11.4 の後治療に「統計解析には交絡因子として扱う」と記載されている点について、後治療は交絡因子ではなく本治療実施後に発生する中間因子となります。また、救肢率は、切断イベントを切断した症例の他に追跡中止例、死亡例、後治療例もイベントと定義していますので(9.2 統計解析方法)、交絡因子として扱うというより、イベントの定義を明確にした対応がされていることになるため、この 1 文は削除し、代わりに「7.1 主要評価項目」に「9.2 統計解析方法」で記載されている救肢率を算出する定義を追記するなど、適切な記載に修正してください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

ご指摘に沿って、試験実施計画書を以下のように修正いたしました。

また、同様の修正を先進医療実施届出書に加えました。

試験実施計画書 P.12 7.1 主要評価項目

(修正前)

・救肢率(細胞移植後1年)

(修正後)

細胞移植後 1 年時点における救肢率とする。

なお、救肢率は、「患肢切断がないことが確認されている患者(1年の経過観察前に追跡終了した患者、死亡した患者、後治療[11.4 項に示す]が提供された患者は、救肢された患者に含まない)」「細胞の移植を行った全患者」と定義する。

試験実施計画書 P.15 11.4 後治療

「統計解析には交絡因子として扱う。」を削除

先進医療審査の事前照会事項に対する回答8

先進医療技術名： 自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管  
新生療法

2021年 11月 29日

所属・氏名： 東京医科大学 心臓血管外科 福田尚司

※照会に伴い変更が生じた場合は、関係書類も併せて修正して下さい。

1. 説明同意文書「3.1 あなたの病気について」及び「3.2 従来の治療法について」

試験実施計画書やほかの箇所では、「従来の治療法」の1)から3) (内科的な薬物治療、血管形成術、外科的なバイパス手術)について施行できないか、あるいは、十分な効果が認められない患者さんが対象となっているとされています。

ですが、研究参加者である「あなた」には既に「従来の治療法」1)から3)の適応又は効果がなかったにもかかわらず、当該項目においては将来的な書き方がされているためにそのことが読み取れず、違和感があります。

例えば「あなた」という記載を削除することで、一般的な書きぶりとすることをご検討ください。

【回答】

ご指摘をありがとうございます。

ご指摘に沿い、患者同意説明書を修正いたしました。

患者同意説明書 P.4 3.1 あなたの病気について

(修正前)

3.1 あなたの病気について

あなたの病気は、慢性重症下肢虚血と診断されています。

(修正後)

3.1 この臨床研究が対象とする病気について

この臨床研究が対象とする病気は、慢性重症下肢虚血です。

同様に、3.2 従来の治療法について

(修正前)

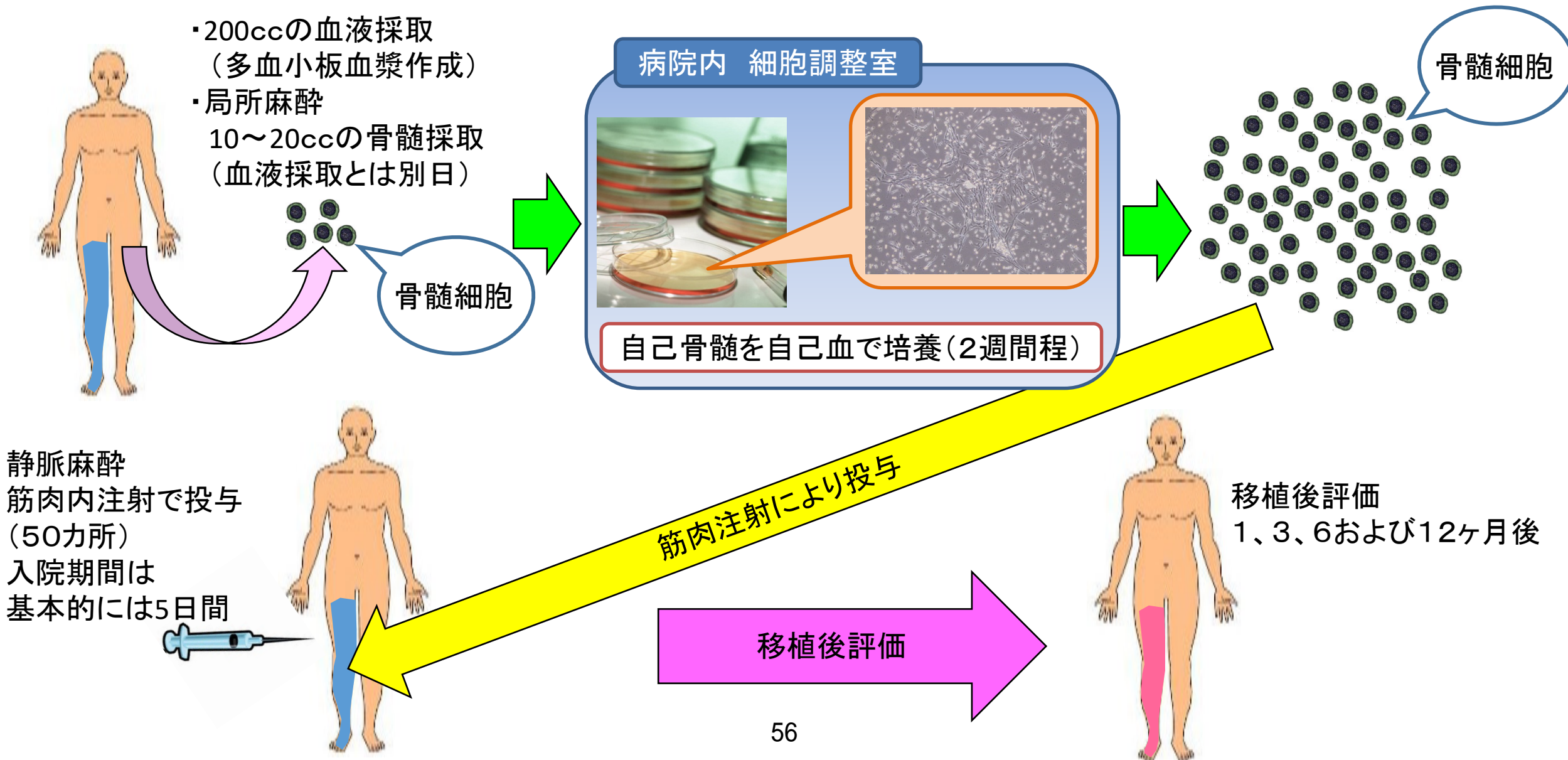
しかし、これらの治療法は、症状の軽い患者さまには有効ですが、あなたのような重症の場合、1)の治療についてはあまり良い効果が期待できませんし、2)、3)の治療については、手術が適応できる血管が限られることと、末梢の小血管の閉塞に対しては実施できないこと等から、十分な効果を期待することができません。4)に関しては 2019 年 9 月に保険収載されました。ただし、2024年までの期限付きの承認となっています。

(修正後)

しかし、これらの治療法は、症状の軽い患者さまには有効ですが、重症の場合、1)の治療についてはあまり良い効果が期待できませんし、2)、3)の治療については、手術が適応できる血管が限られることと、末梢の小血管の閉塞に対しては実施できないこと等から、十分な効果を期待することができません。4)に関しては 2019 年 9 月に保険収載されました。ただし、2024年までの期限付きの承認となっています。

以上

# 自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による完全自家血管新生療法





# 薬事承認申請までのロードマップ

## 「自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による完全自家血管新生療法」

先進医療での適応症：重症閉塞性動脈硬化症

### 臨床研究

「自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する血管新生治療」

- ・試験デザイン：単施設、非対象試験
- ・実施期間：3年間
- ・実施症例数：5例
- ・主要評価項目：安全性評価  
有害事象の有無
- ・副次評価項目：有効性評価（血流改善）  
救肢率（切断回避率）  
潰瘍の大きさ  
痛みの程度  
6分間歩行距離  
皮膚還流圧（SPP）  
組織酸素分圧（TcPO<sub>2</sub>）

臨床研究の結果：

男性5例、平均年齢67.4歳、透析3例  
1年間の観察期間中、有害事象なし  
救肢4例（80%）  
潰瘍の大きさや痛みの程度は改善  
SPP 26.4（投与前） → 38.0（投与後）  
TcPO<sub>2</sub> 6.0（投与前） → 20（投与後）

東京医科大学CPC

### 先進医療B

「自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法」

- ・試験デザイン：単施設・単群前後比較試験（ヒストリカルデータ）
- ・期間：承認後5年間
- ・対象患者数：50例
- ・患者選択基準：20～80歳、性別不問  
重症閉塞性動脈硬化症  
内科的・外科的治療に抵抗性
- ・主要評価項目：有効性評価（救肢率）
- ・副次評価項目：
  - ① 有効性（SPP、TcPO<sub>2</sub>など）
  - ② 安全性（有害事象）

東京医科大学CPC

### 治験

- ・試験デザイン：オープン試験  
非盲検・単群前後比較試験（ヒストリカルデータ）
- ・被験者数：200例（予定）
- ・評価項目：有効性評価  
救肢率  
有効性・安全性評価  
潰瘍改善率  
疼痛改善率  
6分間歩行距離  
皮膚還流圧（SPP）  
組織酸素分圧（TcPO<sub>2</sub>）など  
有害事象の有無

PMDA  
薬事戦略相談

企業CPC

薬事承認申請

#### 海外などの現状

- ・薬事承認：米国 無、欧州 無
- ・ガイドライン記載：無
- ・他の再生医療等製品：コラテジエン（HGFを発現するプラスミドDNAを主成分とする、さきがけ承認期間中）
- ・進行中の関係臨床試験：有（先進医療2件）
  - ① 自家骨髄単核球移植による下肢血管再生治療、対象：パージャー病（京都府立医科大学病院）
  - ② 自家末梢血CD34陽性細胞移植による下肢血管再生療法、対象：閉塞性動脈硬化症、維持透析治療を行っているものに限る（沖縄徳洲会 湘南鎌倉総合病院）

**【別添 1】「自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法」の申請医療機関等（申請書類より抜粋）**

1. 申請医療機関

- ・東京医科大学病院

2. 協力医療機関

- ・なし

3. 予定協力医療機関

- ・国立研究開発法人 国立国際医療研究センター

**【別添2】「自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法」の期待される適応症、効能及び効果（申請書類より抜粋）**

**3. 期待される適応症、効能及び効果**

適応症：末梢動脈疾患（閉塞性動脈硬化症）

効能・効果：

慢性虚血肢を有する患者に対し下肢血流を改善させる目的で使用する。

近年、薬物治療や血行再建術に限界のある重症の末梢動脈疾患に対して、自己末梢血または自己骨髄由来の幹細胞を虚血四肢骨格筋へ筋肉内移植することにより、虚血部周辺の組織からの血管新生の増強や側副血行の発達を促すことで、虚血組織の血流を確保し、組織障害や壊死を軽減させようとする試みがなされている。しかし骨髄中に存在する幹細胞は非常に少ないために、大量の骨髄を採取することが問題とされている。その為、骨髄穿刺により患者から得た少量の骨髄液から、細胞を培養する研究が行われつつある。細胞を培養する事で、大量の骨髄を採取する必要が無く、患者への負担を軽減した低侵襲治療と言える。細胞培養には通常、ウシ胎児血清を用いることが多いが、自己末梢血から血小板を濃縮した多血小板血漿を用いる培養法が開発されている。この方法では動物由来の試薬を使わず患者自身の細胞を使用するために、安全性が高く免疫学的拒絶反応などを避けることが可能である。本研究では、患者から少量の骨髄液を採取し、患者自身の末梢血から調製した多血小板血漿を用いて培養を行うことで治療に必要な量の細胞数を確保する事を目的としている。この方法は他施設では行っていない新しい試みである。以上から、重症糖尿病や慢性腎不全の併存の有無にかかわらず、末梢動脈疾患に対し有用な治療法になると考える。

**【別添3】「自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法」の被験者の適格基準及び選定方法（申請書類より抜粋）**

**5. 被験者の適格基準及び選定方法**

**【適格基準】**（以下の基準すべてを満たすものを適格とする）

- ・ 閉塞性動脈硬化症患者  
Fontaine 分類ⅢあるいはⅣ度、Rutherford 慢性虚血肢臨床分類Ⅱ度4群からⅢ度6群に属し、安静時疼痛または虚血性潰瘍、壊死を有する患者で、既存の血行再建術が困難であるか適応の無い患者。
- ・ 性別：男性および女性（妊娠中および妊娠の可能性のある女性を除く）
- ・ 年齢：20歳以上80歳まで
- ・ 以下に示す日常生活動作を有する患者。  
バーセルインデックス（Barthel Index）  $\geq 40$

**【設定根拠】**

先行研究5名において、カルテから追える範囲でバーセルインデックスを算出した結果、40点が最小値であったため。

**【除外基準】**（以下のいずれかに該当するものは除外する）

- ・ 過去3ヶ月以内にアルコールもしくは薬物依存の既往のある患者
- ・ 悪性新生物を有する患者および5年以内にその既往のある患者
- ・ 諸検査により悪性腫瘍の可能性があると判断された患者
- ・ 重症の糖尿病性網膜症を有する患者
- ・ インフォームドコンセントを得られない患者
- ・ その他、主治医等が不相当と判断した患者

候補となる患者がいる場合、上記適格基準に該当するか確認を行い、該当する場合は、文書による試験参加に対する同意を取得する。同意取得後、スクリーニングを行い、移植のための手順に進む。

## 【別添 4】「自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法」の有効性及び安全性の評価（申請書類より抜粋）

### 7-1. 有効性及び安全性の評価

#### 主要評価項目

- 細胞移植後 1 年時点における救肢率とする。

なお、救肢率は、「患肢切断がないことが確認されている患者（1 年の経過観察前に追跡終了した患者、死亡した患者、後治療が提供された患者は、救肢された患者に含まない）」／「細胞の移植を行った全患者」と定義する。

また、細胞移植時に施行される局所創傷処置（デブリードマン、計画された小切断など）を除き、未計画で実施された標的肢大切断を患肢切断と定義する。

#### 副次評価項目

- 皮膚潰瘍の大きさ(皮膚潰瘍を有している場合)
- 6 分間歩行距離テスト
- visual analog scale(VAS)
- TcPO<sub>2</sub> (Transcutaneous partial pressure of oxygen)
- SPP (Skin perfusion pressure)
- ABPI (Ankle brachial pressure index)
- SF-12 (Physical and mental health scores)
- Fontaine 分類
- Rutherford 慢性虚血肢臨床分類

#### 安全性の評価

移植後 1 年までにおける有害事象を「有害事象共通用語規準 v5.0 日本語訳 JCOG 版（略称：CTCAE v5.0 - JCOG）」7)に従い評価し、Grade2 以上の有害事象の発生頻度を求める。

#### 臨床研究の中止基準

目標症例数 50 例のときに、切断（死亡を含む）数が 22 例発生した時点で主要評価項目において本治療の有効性を統計学的に示すことができなくなるため、本研究を中断のうえ、特定認定再生医療等委員会へ報告し、研究の中止について審議を依頼する。

（切断患者数設定の根拠）

目標症例数 50 例のときに、閾値である救肢率 0.45 よりも本治療が有意に優れていることを示せるのは切断（死亡を含む）数が 21 例までである。切断（死亡を含む）数が 22 例以上となると  $p>0.05$  となり目標症例数を達成しても本治療の優越性を統計学的に示すことができない。

- ・ 目標症例数 50 例のうち切断患者数 21 例のときの切断率（死亡を含む）：21/50=0.42(p=0.0323)
- ・ 目標症例数 50 例のうち切断患者数 22 例のときの切断率（死亡を含む）：22/50=0.44(p=0.0590)

**【別添 5】「自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法」の予定の試験期間及び症例数（申請書類より抜粋）**

7-2. 予定の試験期間及び症例数

予定試験期間：研究承認日から5年（登録期間3年間、経過観察期間1年、データ固定期間1年）

予定症例数：50例

既に実績のある症例数：5例

予定試験期間及び予定症例数の設定根拠：

救肢率（死亡を除く）の閾値45%、期待値63%とし、有意水準片側5%の二項検定を用いる場合に、47例以上あると検出力が80%を保証できる。脱落を5%程度想定し、50例とする。また、適格患者50例を1施設で組み入れる場合、患者数より登録には3年程度要すると考え、登録期間3年、経過観察期間1年、データ固定期間1年の合計5年間とした。

【別添6】「自己骨髓由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法」の治療計画（申請書類より抜粋）

6. 治療計画

① 細胞加工物調製方法

i. 静脈血採取：約200ml程度

ただし、初流血（5-10ml程度）を破棄する。

標準予防策を実施し、採取者は滅菌手袋を使用する。

ii. 多血小板血漿の調製：遠心分離により多血小板血漿を調製し、分注後、 $-30^{\circ}\text{C}$ 以下で凍結保存する。

iii. 骨髓液採取：局所麻酔下に患者腸骨より骨髓液を10～20ml程度採取する。

iv. 細胞培養：比重遠心分離法にて骨髓細胞を分離・濃縮し、予め凍結保存しておいた多血小板血漿を用いて調製した培地にて、目標細胞数約 $1.0 \times 10^{7\sim 8}$ 個になるまで約1～2週間程培養する。

v. 品質規格：

- 作成し分注した多血小板血漿の一部で無菌試験を行い陰性を確認する。
- 移植前の継代時にエンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験、無菌試験を行い陰性を確認する。
- 特定細胞加工物に対し生物活性検査としてFACS解析を行い、CD105、CD73、CD90陽性細胞がそれぞれ95%以上であること、CD11b、CD14、CD19、CD34、CD45、CD79a、HLAクラスII陽性細胞がそれぞれ10%未満であることを確認する。
- 特定細胞加工物に対しエンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験、無菌試験を行い陰性を確認する。

基準を満たさない場合は、適切な抗生物質の投与等による感染症発生の予防や治療等を行う。

- 培養上清中にVEGF、HGFが発現していることを確認する。

設定理由：

Banasらによると骨髓間葉系細胞培養上清中にVEGF、HGFが発現していることが示された。

発現していない場合を除外する目的で上記設定とした。

- Extracellular vesicles (EVs) を単離し、血管新生に関与するマイクロRNAをモニタリング項目として測定する。

② 細胞の移植

手術室にて静脈麻酔下に、培養した骨髓細胞約 $1.0 \times 10^{7\sim 8}$ 個/20mlの懸濁液を、総量25mlになるように調整し、27G針を用いて1箇所につき0.5mlずつ、虚血下肢骨格筋に50箇所に分割して筋肉内注射を行う。

なお、穿刺部位の位置や深度の決定には超音波を使用する。

最終調製時の評価：培養して得られた細胞の一部で無菌試験、マイコプラズマ否定試験、エンドトキシン定量を実施する。

③ 細胞の保管

培養後の細胞（最終調製物）および多血小板血漿は研究用と有害事象発生時の原因究明用の二つにわけ、細胞調製室の液体窒素に凍結保管とする。研究用試料は保管期限を特に定めず、有害事象が発生した場合の原因究明用の試料は10年保管とする。その後、原因究明用試料は研究用に転用する。また、研究用に利用しない場合は廃棄することができる。

本研究は再生医療を受ける患者自身の骨髄及び末梢血を使用する。培養後の細胞を保管することで、患者が感染症を発症した際の原因究明は可能であるので、採取した骨髄及び末梢血の損失を避けるためにもこれらの保管は行わない。



**【別添7】「自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法」の先進医療を実施可能とする保険医療機関の要件として考えられるもの（申請書類より抜粋）**

先進医療名及び適応症： 自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する完全自家血管新生療法 適応症：末梢動脈疾患（閉塞性動脈硬化症）	
<b>I. 実施責任医師の要件</b>	
診療科	<input checked="" type="checkbox"/> （心臓血管外科あるいは循環器科）・不要
資格	<input checked="" type="checkbox"/> （3学会構成心臓血管外科専門医あるいは日本循環器学会認定循環器専門医）・不要
当該診療科の経験年数	<input checked="" type="checkbox"/> （ 10 ）年以上・不要
当該技術の経験年数	要（ ）年以上・ <input type="checkbox"/>
当該技術の経験症例数 注1)	実施者〔術者〕として（ ）例以上・ <input type="checkbox"/> [それに加え、助手又は術者として（ ）例以上・ <input type="checkbox"/> ※ただし、実施にあたり初めの1例は、研究代表医師の立ち合いによる指導のもと実施する。
その他（上記以外の要件）	
<b>II. 医療機関の要件</b>	
診療科	<input checked="" type="checkbox"/> （心臓血管外科または循環器内科を標榜していること）・不要
実施診療科の医師数 注2)	<input checked="" type="checkbox"/> ・不要 具体的内容：実施診療科において、常勤の医師が2名以上配置されていること
他診療科の医師数 注2)	<input checked="" type="checkbox"/> ・不要 具体的内容：血液内科、麻酔科、皮膚科および形成外科の常勤医師が配置されていること
その他医療従事者の配置 （薬剤師、臨床工学技士等）	<input checked="" type="checkbox"/> （専任の細胞培養を担当する者が配置され、院内で細胞培養を実施していること）・不要
病床数	<input checked="" type="checkbox"/> （ 200 床以上）・不要
看護配置	<input checked="" type="checkbox"/> （ 7 対1看護以上）・不要
当直体制	<input checked="" type="checkbox"/> （内科系、外科系を含む常勤医師による当直体制が配置されていること）・不要
緊急手術の実施体制	<input checked="" type="checkbox"/> ・不要
院内検査（24時間実施体制）	<input checked="" type="checkbox"/> ・不要
他の医療機関との連携体制 （患者容態急変時等）	<input checked="" type="checkbox"/> ・不要 連携の具体的内容：ただし、自施設で対応可能な場合は不要
医療機器の保守管理体制	<input checked="" type="checkbox"/> ・不要
倫理審査委員会による審査体制	審査開催の条件：

医療安全管理委員会の設置	<input checked="" type="checkbox"/> 要・不要
医療機関としての当該技術の実施症例数	要 (            症例以上)・ <input checked="" type="checkbox"/> 不要
その他 (上記以外の要件、例；遺伝カウンセリングの実施体制が必要 等)	
<b>Ⅲ. その他の要件</b>	
頻回の実績報告	要 (    月間又は    症例までは、毎月報告)・ <input checked="" type="checkbox"/> 不要
その他 (上記以外の要件)	

注 1) 当該技術の経験症例数について、実施者〔術者〕としての経験症例を求める場合には、「実施者〔術者〕として (    ) 例以上・不要」の欄に記載すること。

注 2) 医師の資格 (学会専門医等)、経験年数、当該技術の経験年数及び当該技術の経験症例数の観点を含む。例えば、「経験年数〇年以上の△科医師が□名以上」。なお、医師には歯科医師も含まれる。