

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	難治性四肢潰瘍患者を対象とした自己末梢血単核球生体外培養増幅細胞移植による血管・組織再生治療に関する第I相試験臨床研究
新規申請年月日	平成 26 年 6 月 23 日
実施施設及び 研究責任者	順天堂大学 田中 里佳
対象疾患	難治性四肢潰瘍
ヒト幹細胞の種類	自己末梢血単核球に含まれる血管内皮前駆細胞
実施期間及び 対象症例数	厚生労働大臣意見発出日から 2年間 平成 年 月 日 まで 10 症例 (被験者群 症例 対照群 症例)
治療研究の概要	難治性四肢潰瘍に対する自己末梢血単核球生体外培養増幅細胞移植の安全性を評価する。 血液は2回にわけて計200ml採取し、単核球を単離し、7日間培養を行い、患部周辺の筋肉に注射する。
その他 (外国での状況等)	潰瘍部の血管新生を促す治療として、慢性閉塞性動脈硬化症、バージャー病に対して骨髄細胞や末梢血単核球を移植する血管再生療法が行われている (Lancet, 2002)。 しかしながら、骨髄からの細胞採取やG-CSFの投与は患者に負担がかかり、特に糖尿病などの基礎疾患がある場合には血管再生療法に用いる細胞の機能や数の低下が指摘されている (Circulation, 2002)。
新規性	投与細胞を末梢血から採血により採取し培養するところ。

難治性四肢潰瘍を対象とした自己末梢血単核球生体外培養増幅細胞移植による血管・組織再生治療

【本療法の特徴】

- ・ 自己細胞使用（拒絶反応がない）
- ・ 末梢血からの採取（負担が少ない採取）
- ・ 増幅培養した細胞を移植（質の高い細胞）

1日目

形成外科外来

1日に血液100 mlを2回
（合計200 ml）

通常の採血と同じ方法
で負担軽減のため2回
にわけて採血します。



難治性四肢潰瘍
を持つ患者さん

安全性試験

細菌試験
エンドキシン試験
マイコプラズマ試験

細胞調製施設

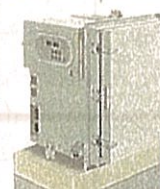
1日目
～
7日目



末梢血



末梢血単核球
分離



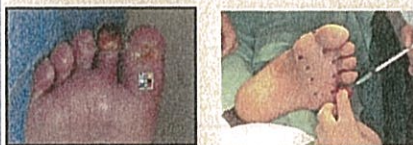
培養
（7日間）



生体外増幅
末梢血単核球
回収

患者さんに移植するための専用培養施設で血液から末梢血単核球を取り出し、7日間培養します。

手術室



移植

患者さんには7日後再度
病院に来て頂き、手術室
にて全身麻酔下で細胞を
患部周辺の筋肉へ注射
します。

7日目
～

病室



移植後観察

移植を受けられた患
者さんには、術後の
観察と安静にして頂
くため、3日以内の入
院をお願いします。

退院



経過観察

退院後は、一定
の期間経過観察
と検査の為来院
して頂きます。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書


平成 26 年 6 月 23 日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	〒113-8421 東京都文京区本郷2丁目1-1
	名称	順天堂大学
	研究機関の長 役職名・氏名	順天堂大学 医学部長 新井 一

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
難治性四肢潰瘍患者を対象とした 自己末梢血単核球生体外培養増幅 細胞移植による血管・組織再生治 療に関する第I相試験臨床研究	順天堂大学 形成外科 准教授 田中 里佳 

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称		難治性四肢潰瘍患者を対象とした自己末梢血単核球生体外培養増幅細胞移植による血管・組織再生治療に関する第I相試験臨床研究		
研究機関				
	名称	順天堂大学		
	所在地	〒113-8421 東京都文京区本郷2丁目1-1		
	電話番号	03-3813-3111		
	FAX番号	03-3813-3622		
研究機関の長				
	役職	医学部長		
	氏名	新井 一 印		
研究責任者				
	所属	形成外科		
	役職	准教授		
	氏名	田中里佳 印		
	連絡先	Tel/Fax	Tel: 03-3813-3111 (ext 71084) /Fax: 03-5802-1225	
		E-mail	rtanaka@juntendo.ac.jp	
	最終学歴	東海大学大学院医学研究科		
専攻科目	形成外科 再生医療科学			
その他の研究者		別紙2参照		
共同研究機関（該当する場合のみ記載してください）				
	名称			
	所在地	〒		
	電話番号			
	FAX番号			
共同研究機関の長（該当する場合のみ記載してください）				
	役職			
	氏名			
臨床研究の目的・意義		<p><目的></p> <p>本研究の目的は、従来の薬物療法・手術療法に抵抗性を示す難治性四肢潰瘍の患者を対象に、患者本人の末梢血管内皮前駆細胞（自己末梢血血管内皮前駆細胞という）を移植する治療法の安全性を評価することである。副次評価項目として有効性を検証する。なお、本研究は、細胞の採取・製造・投与・評価のすべてを自施設で実施する。</p> <p><意義></p> <p>難治性四肢潰瘍（治りにくい創傷）は有効な治療手段がなく、悪化すれば切断を余儀なくされる疾患である。この疾患の原因は様々であるが、糖尿病をはじめとして、閉塞性動脈硬化症（ASO）、膠原病等が挙げられる。</p> <p>日本において糖尿病治療を受けている人は218万人であり（厚生労働省の平成8年報告）、その内、足壊疽の合併率は2.2～5.9%（約47,000～120,000人）とされている。また、「糖尿病足病変に関する国際ワーキンググループ（1999）」による調査では、非</p>		

外傷性の下肢切断の約 40～60%は糖尿病患者であり、これは人口 10 万人対 5～24 人の頻度である。

動脈硬化症に占める重症虚血肢の頻度は 15～20%程度であり、四肢切断となるのはその 25%、また膠原病における四肢切断の発症率は強皮症で最大 60%との報告がある。

上記の状況から、本研究の対象となる潜在的な国内患者数は、足壊疽を合併する糖尿病患者約 47,000～120,000 人に、動脈硬化症や膠原病により四肢切断に至る発症数を加えた規模と想定される。

これまで難治性四肢潰瘍に対しては、基礎疾患の治療と局所の軟膏治療、外科的治療が行われてきたが、特に末梢循環不全が高度で四肢末梢の血流が悪い患者については、これらの治療によって十分な治療効果が得られてこなかった。

難治性四肢潰瘍は血管修復機能の低下による末梢血管の減少や、創傷治癒の遅延などにより発症し、最近の研究では、これらの原因因子として血管内皮前駆細胞 (Endothelial progenitor cell : EPC) の機能異常が報告されている (Tamarat R, Am J Pathol, 2004)。また、基礎的な疾患 (糖尿病等) を持つ患者は、健常人と比較して末梢血管幹細胞数が減少しその機能低下が報告されており、そのため、従来の自己血管幹細胞移植血管再生療法は十分な効果が期待できない可能性がある。

本研究の責任者らは虚血性疾患に対する次世代型の無血清条件下生体外増幅培養 (Quality and Quantity Control Culture : QQ 培養法) による血管幹細胞移植血管再生療法 (以下本療法) を開発した (Tanaka R, Diabetes, 2013)。本療法は末梢血単核球を一週間継代、培地交換をしない無血清培地を用いた浮遊系培養を行う QQ 培養法に供することで血管・組織再生に重要な役割を担う EPC を増幅し、疾患により低下した血管再生能を改善する。本技法により 200 mL の血液からより多くの機能的な細胞を簡便に採取でき移植に供することができることから、患者に負担の掛かる G-CSF 投与、アフレーシス (成分採血) の必要がなく、外来における自己血液の採血のみで移植細胞の採取が可能である。以上のことから本療法は簡便で患者への負担が少ない治療法となり得る。本技法による新しい血管再生治療は従来の血管再生治療の問題点を改善できる新規的な血管再生治療法と考える。

本療法が、四肢切断の回避、患者 QOL の向上、介護費の軽減というライフインベションをもたらし、医療費の削減や患者の社会復帰による生産性の向上が望め、社会的意義は大きいと考える。

臨床研究の対象疾患

名称	難治性四肢潰瘍
選定理由	<p>本療法が適用可能と考えられる潜在的な国内患者数は、足壊疽を合併する糖尿病患者約 47,000～120,000 人に、動脈硬化症や膠原病により四肢切断に至る発症数を加えた規模と想定され、難治性四肢潰瘍患者を救済する安全性の高い治療法が期待されている。</p> <p>本疾患は保存的治療にて経過を診て、創傷処置やデブリードマン (感染した組織や壊死した組織を切除して創傷部位をきれいにす) 等の局所的治療をおこない経過を観察するが、それらによっても潰瘍・壊疽の改善や安静時の疼痛改善が認められない場合には切断術の適応となり、本疾患に対する有効な治療法は未だない。</p> <p>本提案の療法は、本研究責任者を含む研究グループのモデル動物</p>

	<p>(マウス : Masuda H, et al. J Am Heart Assoc, 2014, in press、 プタ : 田中里佳 第 22 回日本形成外科学会基礎学術集会シンポジウム、新潟、2013) を用いた基礎研究において安全性が示されていることから、難治性四肢潰瘍を対象疾患とした。</p>
<p>被験者等の選定基準</p>	<p>【適格基準】</p> <ol style="list-style-type: none"> ① Wagner の分類でグレード 1 以上、補完的潰瘍分類 3 度以上 (別紙 5 研究実施計画書 6. 被験者参照) の重度の難治性四肢潰瘍を有する例で、保存的治療を 3 ヶ月続けても抵抗的で改善が期待できない患者、または著しく QOL が障害されており将来切断が予想される重症例 ② 1 ヶ月間の内科的治療を行っても潰瘍の明らかな改善が認められないもの ③ 年齢 : 20 歳以上 75 歳以下の患者 (同意取得時の年齢) <p>【除外基準】</p> <p>下記のいずれかに該当する患者は対象としない。</p> <ol style="list-style-type: none"> ① 保存的治療にて潰瘍が 60% 以上改善認められたもの ② 糖尿病に対する内科的治療を行った結果、HbA1C が 8.0% 以上のもの ③ 下肢主幹動脈の閉塞がある場合 ④ 心エコー図で左室駆出率が 50% 未満の高度心機能低下を認める患者 ⑤ 治療を要する高度な冠動脈病変 (左主幹部または 3 枝病変) を有する患者 ⑥ 悪性腫瘍*1、活動性の糖尿病性増殖性網膜症*2 などの重篤な血管新生性疾患を合併する患者 ⑦ 虚血性疾患以外の何らかの原因で、1 年以上の余命を期待できない患者 ⑧ 心筋梗塞、脳梗塞発症後 6 カ月未満の患者 ⑨ 血液疾患 (白血病、骨髄増殖性疾患、骨髄異形成症候群) を合併する患者 ⑩ ヘモグロビン濃度が 10.0 g/dL 未満の貧血を認める患者 ⑪ 重度な呼吸機能・肝機能障害を認める患者 ⑫ 妊婦、授乳婦、妊娠している可能性のある患者、治療期終了時までには妊娠を計画している女性患者 ⑬ インフォームド・コンセントが得られない患者 ⑭ HIV、HBV、HCV、HTLV、パルボウイルス B19 への感染が認められた患者 ⑮ その他、臨床研究責任医師または分担医師が本研究の対象として医学的根拠に基づき不相当と判断した患者 <p>*1 頭部・胸部・腹部 CT 検査、上部消化管内視鏡検査、便潜血、便中ヒトヘモグロビン検査、注腸検査 (便中ヒトヘモグロビン陽性時に施行) で、悪性腫瘍の有無を検索する。</p> <p>*2 眼底検査と眼底造影で網膜症の有無と重症度を検索する。眼科を受診の上、活動性の網膜症、もしくは新生血管の増生が認められる場合 (福田分類 B II 以上重症なもの) は除外とする。軟性白斑が認められればレーザー治療を行い、改善が認められた場合は移植可能とする。</p>
<p>臨床研究に用いるヒト幹細胞</p>	

種類	自己末梢血単核球に含まれる血管内皮前駆細胞
由来	自己・非自己・株化細胞 生体由来・死体由来
採取、調製、移植又は投与の方法	<p>1. 血液採取(所要時間：約6時間(休憩含む)、実施場所：自施設外来診察室)</p> <ul style="list-style-type: none"> 血液の採取は2回に分けて採血する。当院外来診察室において、通常の方法にて患者よりEDTA入り真空採血管へ各回末梢血を100mLずつ、合計200mLの採血を行う。採血の間隔は4時間以上あける。 <p>2. 末梢血単核球の単離と培養(所要時間：7日間、実施場所：自施設の細胞調製施設)</p> <ul style="list-style-type: none"> 採血された末梢血は速やかに自施設の医学部再生医療研究施設(CPF)に運ばれ、施設内で無菌的に移植用細胞の調製を行う。細胞の調製は、単核球を分離したのち7日間培養後に回収し移植用細胞とする。 <p>3. 移植方法(所要時間：約1時間、実施場所：自施設手術室)</p> <ul style="list-style-type: none"> 細胞移植は手術室で局所あるいは全身麻酔の下で実施し、総細胞数2×10^7個/bodyの細胞を注射する。 移植予定部位は、血管造影で血流の途絶がある範囲を中心とした筋肉内(腓腹筋・前脛骨筋・足底部・足趾等)、また壊疽、潰瘍がある場合にはその周辺部位とする。 細胞投与方法は、投与1回につき1ヵ所あたり1×10^6個(0.5mLを目安)の細胞を20ヵ所、合計2×10^7個の細胞を、潰瘍が認められる部位から半径20cm以内の筋肉内に注射する。 <p>詳細は「別紙5 研究実施計画書 参照」</p>
調製(加工)工程	無・有
非自己由来材料使用	無・有 動物種(ヒト) ヒトアルブミンがStemline II培地(GMPグレード)に含まれる。
複数機関での実施	無・有
他の医療機関への授与・販売	無・有
安全性についての評価	<p>【臨床の安全性】</p> <p>1. これまで国内外の他施設において類似の臨床研究が実施されているほか、本研究責任者がヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針施行前に実施した自己G-CSF動員末梢血CD34陽性細胞を用いた糖尿病性難治潰瘍の治療に関する臨床研究においても造腫瘍や異所性発現等の重大な有害事象の報告はなく(Tanaka R, Cell Transplantation, 2014)、使用細胞の安全性は高いと考えられる。</p> <p>詳細は「別紙5 研究実施計画書 参照」</p> <p>本製造と同じ工程にて調製(7日間)した製品(生体外増幅末梢血単核球：MNC-QQC)を前臨床試験にて確認した。下記の結果より製造工程により製品の安全性は損なわれないと考える。また、エンドトキシン、マイコプラズマ、無菌試験を実施し、製品の安全性を確保する。</p> <p>1. 造腫瘍性試験：</p>

	<p>MNC-QQC 1 x 10⁷ 個を免疫不全マウス (Balb/cA Jcl-nu/nu) の背部皮下に接種し 3 カ月間観察を行った。この結果実施した 9 例ともに腫瘍形成、および異所性発現は確認されなかった。</p> <p>2. 核型異常： MNC-QQC(3 人分)において、G-Band 法による核型解析を行った結果、染色体異常は認めなかった。</p> <p>3. 残留物の確認： MNC-QQC(2 人分) において、洗浄後の培地添加物等の残留量の確認を行った結果、血清アルブミン、IL-6、TPO は、全て検出感度以下であった (アルブミン：< 1.0 mg/dL、IL-6：< 0.2 pg/mL、TPO：< 0.40 fM/mL)。例えば、IL-6 の臨床検査での基準値は ≤ 4.0 pg/mL (SRL 社 HP より) であることから、体内に入る残存物により有害事象が発生する可能性は極めて低いことが示唆され、洗浄工程は妥当と考えられる。</p> <p>本製品製造における培養過程で用いる Stemline II 培地 (Sigma-Aldrich 市販品) には、非自己由来材料としてヒトアルブミンを含む事が示されているが、本培地は GMP グレードで製造され、製造元よりヒトアルブミンが HIV-1, HIV-2, HCV, HBsV 抗体と反応しないドナー由来である事が示されており、製造地アメリカにおいて FDA の DMF(Drug/Device Master File)に登録されていることから製品の安全性を含む品質が確保されていると考える。</p>
<p>臨床研究の実施が可能であると判断した理由</p>	<p>難治性四肢潰瘍に対する従来の治療では病状の改善は必ずしも十分に得られていない。一般的な治療法は、保存的治療として基礎疾患に対する投薬を中心とした内科的治療を行い、局所的治療として洗浄・創浄化、軟膏等外用薬塗布、抗生剤を用いた感染コントロール、陰圧吸引療法、加えて外科的手術として壊死組織除去術、植皮術、非弁形成術など創傷処置で経過を観察する、といったものであった。以上の様な治療を行ったにもかかわらず、潰瘍・壊疽の改善や安静時の疼痛改善が認められない場合には切断術の適応となる。</p> <p>また、近年、本疾患に対して新しい治療アプローチが試みられている。潰瘍部の血管再生を促す細胞治療法として慢性閉塞性動脈硬化症、パーヴァー病に対する骨髄細胞、末梢血幹細胞、末梢血単核球移植による血管再生治療、さらに多血小板血漿を用いた難治性皮膚潰瘍治療が先進医療等で一部施設において行われている (Tateishi-Yuyama E et al, Lancet, 2002)。しかしながら、骨髄からの細胞採取や G-CSF の投与など、患者に負担が掛り、特に糖尿病など基礎疾患がある場合には血管再生療法に用いても、使用する細胞の機能と数の低下が共同研究者である Tepper らに指摘されており (Tepper OM et al, Circulation, 2002)、新しい治療アプローチにおいても十分な結果が得られないケースが報告されている (Stepanovic, V et al, Circ Res, 2003, Awad O et al, Stem Cell, 2005)。</p> <p>本研究においては、患者本人から採血により採取した末梢血から単核球を調製し、生体外で培養することにより基礎疾患がある患者の単核球の機能と数を回復させ移植を行う。この方法により、従来の治療よりも患者における負担が少なく、かつ効果的な治療が期待される。</p>

【我々の研究グループにおける研究の推移】

1997年に浅原らの研究グループは、血管内皮前駆細胞が成体の末梢血にCD34陽性細胞として存在することを初めて明らかにし、vasculogenesis（脈管新生）という概念をもたらした（Asahara T, Science, 1997）。続いて、組織虚血により血管内皮前駆細胞が骨髓から末梢血へ強制動員され、血管再生に関与することが明らかになった（Takahashi T, Nature Med, 1999）。本研究責任者においてもG-CSF動員自己末梢血CD34陽性細胞を用いた難治性糖尿病性潰瘍患者の治療を行い、成果を上げている（Tanaka R, Cell Transplantation, 2014）【自施設】。

共同研究者である東海大学・増田と浅原は、EPCの再生能力を高めるため、無血清条件下での生体外増幅培養を開発し、モデル動物にて培養EPCの有効性を確認している（Masuda H et al, Stem Cells Transl Med, 2012）。本研究の責任者らは、本技法を用いて糖尿病モデルマウスにおいて有効性を世界で初めて示唆した

（Tanaka R. et al, Diabetes 2013）【自施設】。

本研究の責任者らは、こうした近年の研究成果を踏まえ、本疾患に対する新しい療法を将来確立すべく、自施設において基礎研究ならびに非臨床試験（小動物・マウス・大動物・ブタ）を実施してきた（Masuda H. et al, J Am Heart Assoc, 2014 in press）【自施設】。

詳細は「別紙3 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する国内外の研究状況（文献1）参照」

【自施設における基礎研究】

QQ培養法により得られる細胞（MNC-QQC）の特性解析を行い、以下の結果を得ている（Masuda H. et al, J Am Heart Assoc, 2014 in press）。

- 1) 組織生成能に反映する分化型EPC(Definitive-EPC ; DEPC)の数は、同じ血液量から得られる末梢血単核球の19倍と高効率で得られることを確認した。
- 2) フローサイトメトリー法の結果から、MNC-QQCは末梢血単核球と比較して、幹細胞マーカーの増加、内皮細胞マーカーの増加が確認された。
- 3) リアルタイムPCRによる遺伝子発現解析により末梢血単核球に対してMNC-QQCは血管新生、筋原性サイトカインの発現増加が確認された。さらに抗線維化機能を介して血管再生や組織再生に重要な役割を果たすMMP-2、MMP-9などマトリックスプロテアーゼ(MMP)は、MNC-QQCで末梢血単核球と比し有意に増加していた。
- 4) 血管形成能を評価した結果、生体外においてMNC-QQCは末梢血単核球よりもIn vitro血管形成能が高いことが示唆された。

【自施設における非臨床研究】

- 1) 小動物：マウス

マウス下肢虚血モデルの虚血部位へのMNC-QQC及びPBMNC末梢血単核球移植の結果は、健常脚に対する血流率で示し比較した。結果、は虚血後21日目のMNC-QQC移植群は、

	<p>コントロール（細胞なし）、PBMNC末梢血単核球移植群に比べ血流がそれぞれ1.85倍、1.80倍に改善した。またMNC-QQC群では下肢切断に至る頻度が最も低く、治癒する割合が最も高かった。すなわちMNC-QQC移植は、下肢虚血に対して高い治療効果を示した。また、MNC-QQC移植は、末梢血単核球移植、コントロール（細胞なし）に対して血管形成、動脈形成、筋形成が向上しており、逆に線維化を抑制しており、組織修復において優位な結果であった（Tanaka R, World Stem Cell Summit 2013, San Diego, CA, 2013）。</p> <p>2) 大動物：ブタ</p> <p>免疫抑制剤を投与した家畜ブタ（20 kg以上、3頭）に2.5 cm四方の潰瘍を作成し、潰瘍部周囲へ2×10^7個/匹のMNC-QQCを移植して生理食塩水移植群と比較しMNC-QQC細胞移植効果を判定した。結果、移植後10日目、14日目、17日目にMNC-QC細胞移植群のほうが生理食塩水移植群に比較して有意に高い潰瘍縮小率を認めた。</p> <p>潰瘍の組織学的評価をHE染色にて行った。結果、MNC-QQC細胞を移植した群にて真皮の膠原繊維の構築が整い、より成熟した癒痕が認められた（田中里佳 第22回日本形成外科学会基礎学術集会シンポジウム、新潟、2013）。</p> <p>詳細は「別紙7 自家末梢血単核球細胞移植概要書（4. 非臨床試験における生物学的実験） 参照」</p> <p>上記の結果から、末梢血単核球のQQ培養法にて製造された細胞は、末梢血単核球の血管再生能を向上させることが示された。さらにG-CSF投与やアフレーシス（成分採血）、また磁気ビーズなどを用いる細胞調製の過程を経ず、外来などでの静脈からの通常採血により細胞を調製し培養するため、患者の身体的負担と副作用の危険性、経済的な負担を軽減することから、今後様々な虚血性疾患治療において新たな治療選択肢となることが期待される。</p> <p>順天堂大学では、文部科学省の補助を受け再生医療研究施設を設立しアイソレーターを具備しており、本臨床研究を実施するにあたり必要とされている細胞調製設備としての要件を十分満たしていると考えられる。</p> <p>以上の事実より、既存の治療に抵抗性の難治性四肢潰瘍に対する生体外増幅自己末梢血単核球を用いた臨床研究を行うことが可能であると判断した。</p>
<p>臨床研究の実施計画</p>	<p>【試験デザイン】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 参加施設数：単施設（順天堂大学医学部附属順天堂医院） ・ 群数：単群 ・ 相：第I相（安全性試験） <p>【試験期間】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ ヒト幹細胞臨床研究承認日から2年間 <p>【対象症例】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 対象：難治性四肢潰瘍罹患患者。Wagnerの分類（Wagner Grading System）においてグレード1以上、補完的分類でグレード3以上である（別紙5 研究実施計画書 6. 被験者参照）、潰瘍が皮下組織に達しているか、それ以上の重症度

	<p>の患者を対象とする。</p> <ul style="list-style-type: none"> 症例数：10 症例 <p>【評価項目】</p> <ul style="list-style-type: none"> 主要評価項目：治療後 3 ヶ月までの安全性評価、有害事象発生頻度と有害事象の症状を CTCAE* Ver4.0 の基準に基づいてグレード化し重症度を評価する 副次評価項目：治療後 3 ヶ月までの有効性評価、潰瘍の面積、深さ、肉芽形成等の評価とともに、患肢虚血の改善、血管新生を評価 <p>*CTCAE: Common Terminology Criteria for Adverse Event (National Cancer Institute, USA により公表), 有害事象の症状を 1 (軽症) -5 (重症) にグレード化し評価、集計を行う。</p> <p>詳細は「別紙 5 研究実施計画書 参照」</p>
<p>被験者等に関するインフォームド・コンセント</p>	
<p>手続き</p>	<p>試験責任医師又は試験分担医師は、被験者が本臨床試験に参加する前に、被験者に対して説明・同意文書を用いて十分に口頭で詳しく説明し、本臨床試験の参加について自由意思による同意を被験者から文書により得るものとする。</p> <p>試験責任医師又は試験分担医師は、同意を得る前に被験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ものとする。その際、試験責任医師又は試験分担医師、又は補足説明者としての本臨床試験協力者は、全ての質問に対して被験者が満足するように答えるものとする。</p> <p>同意文書には、説明を行った試験責任医師又は試験分担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。その同意文書は被験者へ交付し、実施医療機関ではその写し等をカルテに添付して保管する。なお、本臨床試験協力者が補足的に説明を行った場合には、協力者も記名捺印又は署名し、日付を記入するものとする。</p> <p>被験者が本臨床試験に参加している間に、説明・同意説明文書が改訂された場合は、試験責任医師又は試験分担医師は、その都度当該情報を速やかに被験者に伝え本臨床試験に参加するか否かについて、被験者の意思を確認するとともに、改訂された説明・同意文書を用いて改めて説明し、本臨床試験の参加継続について被験者から自由意思による同意を文書により得るものとする。</p> <p>本臨床試験参加中の被験者が同意の撤回を申し出た場合、試験責任医師又は試験分担医師、ならびに被験者はその旨を記載した文書（同意撤回文書）に各自日付を記入し、記名捺印又は署名する。その同意撤回文書は被験者へ交付し、実施医療機関ではその写し等をカルテに添付して保管する。</p> <p>「別紙 5 研究実施計画書 (10. 試験方法 1) 同意取得) 参照」</p>
<p>説明事項</p>	<p>説明文書・同意書（様式）及び同意撤回書は試験責任医師が作成する。説明文書には、少なくとも以下の事項が含まれていなければならない。ただし、被験者を意図的に誘導するような記載をしてはならない。</p> <p>1) 試験が研究を伴うこと</p>

		<p>2) 試験の目的</p> <p>3) 試験の方法</p> <p>4) 被験者の試験への参加予定期間</p> <p>5) 試験に参加する予定の被験者数</p> <p>6) 予期される臨床上の利益及び危険性又は不便</p> <p>7) 患者を被験者にする場合には、当該患者に対する他の治療方法の有無及びその治療方法に関して予想される重要な利益及び危険性</p> <p>8) 試験に関連する健康被害が発生した場合に被験者が受けることのできる補償及び治療</p> <p>9) 試験への参加は被験者の自由意思によるものであり、被験者（又はその代諾者）は、被験者の試験への参加を随時拒否又は撤回することができること。また、拒否・撤回によって被験者が不利な扱いを受けたり、試験に参加しない場合に受けるべき利益を失ったりすることはないこと。</p> <p>10) 試験への参加の継続について被験者（又はその代諾者）の意思に影響を与える可能性のある情報が得られた場合には速やかに被験者（又はその代諾者）に伝えられること。</p> <p>11) 試験への参加を中止させる場合の条件又は理由</p> <p>12) 倫理審査委員会及び規制当局が原医療記録を閲覧できること。その際、被験者の秘密は保全されること。また、同意書（様式）に被験者（又はその代諾者）が記名捺印又は署名することによって閲覧を認めたことになること。</p> <p>13) 試験の結果が公表される場合であっても、被験者の秘密は保全されること。</p> <p>14) 被験者が費用負担する場合にはその内容</p> <p>15) 被験者に金銭等が支払われる場合にはその内容</p> <p>16) 試験責任医師又は試験分担医師の氏名、職名、連絡先</p> <p>17) 被験者が試験及び被験者の権利に関してさらに情報が欲しい場合又は試験に関連する健康被害が生じた場合に照会すべき又は連絡をとるべき実施医療機関の相談窓口</p> <p>18) 被験者が守るべき事項</p> <p>19) 当該臨床試験の成果により特許権等が生み出される可能性があること及び特許権等が生み出された場合の帰属先</p> <p>20) 当該臨床試験に係る資金源、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</p> <p>21) 説明文書作成日、版番号</p> <p>同意書（様式）には、以下の事項を含まなければならない。</p> <p>1) 臨床研究名</p> <p>2) 説明文書作成日、版</p> <p>3) 説明日、試験責任医師又は試験分担医師の記名捺印もしくは署名欄</p> <p>4) 同意日、被験者の記名捺印もしくは署名欄</p> <p>5) 説明の内容を理解し、試験に参加することに同意する旨の記述</p> <p>6) 実施医療機関名</p> <p>同意撤回書には、以下の事項を含まなければならない。</p> <p>1) 臨床研究名</p> <p>2) 試験責任医師又は試験分担医師の記名捺印もしくは署名欄</p> <p>3) 同意撤回日、被験者の記名捺印もしくは署名欄</p>
--	--	--

		<p>4) 試験参加への同意を撤回する旨の記述 5) 実施医療機関名</p> <p>試験開始後に試験責任医師が被験者の同意に関連する新たな知見を得、説明文書・同意書(様式)の改訂が必要と判断した場合には、それを改訂する。被験者の同意に関連する新たな知見とは、例えば当該治療法等に関連する新たな有害事象の情報、あるいは当該疾患に係る新治療法等の開発に関する情報などを指す。なお、改訂の内容を重大と判断する場合は所属する医療機関の倫理審査委員会に提出し、その承認を得る。</p> <p>詳細は「別紙 8 説明同意文書 参照」と「別紙 5 研究実施計画書 (5. 倫理) 参照」</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		
	研究が必要不可欠である理由	該当なし
	代諾者の選定理由	該当なし
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>有害事象が発現した場合は、その症状または疾患、他覚所見の内容、発現日、程度、重篤度、処置の有無およびその内容、転帰およびその判定日、本細胞移植治療との関連性およびその理由を症例報告書の有害事象欄に記載する。</p> <p>主任研究者、研究事務局及び独立データモニタリング委員は、一次報告後の対応、二次報告後の対応、独立データモニタリング委員会による評価・勧告、対策の決定、最終報告後の対応を行う。手順の詳細については、研究実施計画書等を参照のこと</p> <p>詳細は「別紙 5 研究実施計画書 (12. 臨床研究の安全性を確保するための事項 及び 有害事象発生時の対応に関する手順書) 参照」</p>
臨床研究終了後の追跡調査の方法		最終症例登録から 1 年後に、一斉調査(転帰と細胞移植治療実施の有無)を行う。
臨床研究に伴う補償		
	補償の有無	無・ (有)
	補償が有る場合、その内容	<p>本臨床試験に関して、研究責任者は臨床研究に関する賠償責任保険に加入する予定であり、本臨床試験の生体外増幅自己末梢血単核球細胞移植治療実施に起因して有害事象が発生し被験者に健康被害が生じた時は、保険の対象となる障害に対して被験者へ金銭での補償を行うとともに、生じた健康被害に対し、適切な治療その他必要な措置を受けることができるように実施医療機関、試験責任医師、主任研究者が対応する。提供される治療・検査における費用は、保険が適用されない場合、株式会社日立製作所との共同研究契約に基づく研究費によって支払われる。</p>
個人情報保護の方法		

	<p>連結可能匿名化の方法</p>	<p>連結可能匿名化を採用し、独自に割り付けた被験者番号にて管理する。試験責任医師及び試験分担医師は、症例登録票及び症例報告書等を当該医療機関外に提供する際には、連結可能匿名化された被験者番号を付し、医療機関外の者が、被験者を特定できる情報（氏名・住所・電話番号など）は記載しない。連結表は、情報管理責任者が管理し、管理者以外の者が容易に見られないように保管する。</p>
	<p>その他</p>	<p>試験に携わる関係者は被験者の個人情報保護に最大限の努力をばらう。被験者の特定は、情報管理責任者が管理する被験者識別コード又は登録番号を用いて行う。原資料の直接閲覧を行ったモニタリング担当者、監査担当者、規制当局の担当者などは、そこで得られた情報を外部へ漏洩しない。主任研究者等が試験で得られた情報を公表する際には、被験者が特定できないよう十分に配慮する。</p>
<p>その他必要な事項 (細則を確認してください)</p>		<p>① 当該研究に係る研究資金の調達方法</p> <p>本臨床研究における期間にかかる費用、すなわち自己末梢血単核球生体外培養増幅細胞移植に関係する期間に生じる費用（細胞培養費用、細胞移植費用、手術料全般、入院費など）については、全て研究費より支払われる。本研究費用の一部は日立製作所との共同研究契約に基づき支援を得る。</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>今回用いる生体外増幅末梢血単核球は、G-CSF 投与による末梢血へのEPCの動員、アフエーシス（成分採血）による細胞の回収など患者に身体的・時間的・経済的な負担を強いる既存の治療法と比較して、より容易で安全な外来での採血により得られる新鮮末梢血中の単核球から培地交換、継代が不要な1週間の無血清浮遊培養により簡便に細胞を調製し移植する。以上により本療法は従来法より高い安全性と簡便性が患者への負担を軽減することを目指す。</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）

1) プロトコル関係書類

① 研究の流れを示した図やイラストなど（ポンチ絵）（別紙1参照）

② 研究者一覧（別紙2参照）

③ 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する国内外の研究状況（別紙3参照）

④ 臨床研究の概要をできる限り平易な用語をもちいて記載した要旨（別紙4参照）

⑤ 研究計画書（別紙5参照）

2) 細胞品質関連書類

① ヒト幹細胞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6参照）

② 製品概要書・製品標準書・原材料（試薬等）の品質保証書類（別紙7参照）

3) 被験者説明文書・同意書

① インフォームドコンセントにおける説明および同意文書様式（採取時と投与あるいは移植時に別々にお取りください。臨床研究に入るときにも同意書をとりますので3通になると思います）（別紙8参照）

4) 研究施設基準

① 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況（※参照）（別紙9参照）

②CPC 平面図 (別紙10参照)

③CPC 文書 (バリデーション基準書、製造管理基準書、品質管理基準書、衛生管理基準書、標準作業手順書 (SOP)、バリデーション計画・報告書等) (別紙11参照)

5) 倫理審査委員会関連書類

①委員名簿 (別紙12参照)

②委員会規定 (別紙13参照)

③議事録 (別紙14参照)

④結果通知書 (別紙15参照)

その他 (資料内容: ①CPC プロセスシュミレーション資料) (別紙16)

臨床研究の概略をできる限り平易な用語をもちいて記載した要旨

「難治性瘍患者を対象とした自己末梢血単核球生体外培養増幅細胞移植による血管・組織再生治療に関する第Ⅰ相試験臨床研究」の要旨

順天堂大学医学部形成外科学 田中里佳

<背景>

難治性潰瘍患者の足病変は患者のQOLを著しく低下させる。本疾患に対する有効な治療法はなく、保存的治療にて経過を診て、局所的治療（創傷処置、デブリードマン）をおこなない経過を観察するが、それらによっても潰瘍・壊疽の改善や安静時の疼痛改善が認められない場合には切断術の適応となる。足病変は閉塞性動脈硬化症や糖尿病など、様々な原因があるが、例えば非外傷性の下肢切断の約40～60%は糖尿病患者であり、人口10万人対5～24人と報告される（糖尿病足病変に関する国際ワーキンググループ1999）。

申請者らは、糖尿病モデルマウスの自己血管幹細胞を独自に開発した培養法にて培養したとき、糖尿病環境下で減少した血管幹細胞の細胞数、及び血管幹細胞の血管再生能について、それぞれ正常マウスと同等のレベルに回復することを見出し、糖尿病性潰瘍治療に対する有効性を示唆する結果を世界で初めて報告した（Tanaka R. et al. Diabetes 2013）。本法による血管幹細胞移植療法の利点は、少量の血管幹細胞から血管再生能が改善した十分量の血管幹細胞が確保できることであると考えられる。本研究が実現可能となると下肢切断の回避、患者QOLの向上、介護費の軽減というライフイノベーションが実現できるため、社会的意義は大きい。

<目的>

従来の薬物療法、手術療法に抵抗性な難治性潰瘍の患者を対象に、自己末梢血単核球生体外培養増幅細胞移植による血管再生治療を施行し、治療後3ヶ月までの主要エンドポイントとして安全性、副次エンドポイントとして潰瘍の面積、深さ、肉芽形成等の評価とともに、患肢虚血の改善、血管新生に対する有効性を評価する。

<対象疾患・目標症例数>

難治性四肢潰瘍（ただし皮下以上潰瘍が及ぶ患者のみを対象とする）
10症例

<研究のデザイン>

(1) 内容

難治性潰瘍の患者に対する自己末梢血単核球生体外培養増幅細胞移植(単回投与)の安全性及び有効性評価試験

(2) primary endpoint: 安全性評価項目

自己末梢血単核球生体外培養増幅細胞の筋肉内投与の安全性につき、有害事象発現率及び本細胞治療と関連性の否定できない有害事象発現率を評価する。

(3) secondly endpoint: 有効性評価項目

自己末梢血単核球生体外培養増幅細胞の筋肉内投与前後で下記所見を評価する。

1) 主要評価項目 (8項目)

- ・潰瘍の深度
- ・感染
- ・形状
- ・肉芽組織
- ・大きさ
- ・壊死組織
- ・浸出液
- ・ポケット

2) 副次評価項目 (6項目)

- ・安静時 ABPI、TcPO₂、近赤外線分光法
- ・サーモグラフィーによる皮膚温の変化
- ・レーザードップラーによる皮膚血流の評価
- ・アンギオ CT 又は、血管造影による側副血流の評価
- ・神経障害の改善: ABI、Touch Test、ABI、アキレス腱反射
- ・自覚症状の改善: 痛み、冷感等

