

血細胞治療部において行う。

- ①**第1回**：移植日の8～10週前の間に行う。採取当日に血球検査および血圧測定を行いHb値が男性で11.0g/dL未満、女性で10.0g/dL未満あるいは収縮期血圧90mmHg未満であれば採取を延期し、1週後に再度採取を試みる。再び採取前に血球検査および血圧測定を行い、条件を満たしている場合は採取し、満たしていない場合は試験を中止する。
- ②**第2回**：第1回の採取日より1週間以上の間隔をあけ、かつ移植日の7～9週前の間に行う。採取当日に血球検査および血圧測定を行い男性で11.0g/dL未満、女性で10.0g/dL未満あるいは収縮期血圧90mmHg未満であれば採取を中止し、エスポー(24000単位)を皮下注射する。
- ③**第3回**：第2回が中止となった場合、1週間以上の間隔をあけ、かつ移植日の6～8週前の方に第3回の採取を行う。採取当日に血球検査および血圧測定を行い男性で11.0g/dL未満、女性で10.0g/dL未満あるいは収縮期血圧90mmHg未満であれば採取を中止し、試験を中止する。

2) 採取方法

左右何れかの肘窩部皮静脈より、血液バッグを用いて400mlの採血を行い、200mlの血清を分離する。採取前のHb値が14.0g/dL以下であれば、採血後はエスポー(24000単位)を皮下注射する。採取した血清はCCMTの冷凍保管庫において-20℃で冷凍保存する。

(詳細については「自己骨髄間葉系幹細胞に関する概要書」参照のこと。)

7.1.2. 骨髄液採取(外来)

1) 採取時期・場所

移植術予定日の4週～8週前の方に、医学部附属病院デイ・サージャリー診療部の手術室において試験担当医師あるいは試験細胞作成者が採取する。

2) 採取方法

- ① 麻酔科医により全身麻酔を施した後、腹臥位とする。
- ② 予め1mLのヘパリン(1,000U/mL)を入れた20mLのシリンジを用意する。
- ③ 腹臥位の患者の片側腸骨に骨髄採取針を刺入し、固定が得られた上で②のシリンジを取り付け、陰圧をかけて骨髄を10mL吸引採取する。
- ④ 約10mL採取後、シリンジを別のものに交換し、深さを変え、再度吸引採取を繰り返す。この操作を、陰圧をかけても骨髄が吸引できなくなるまで繰り返す。
- ⑤ 骨髄採取針を抜去し、他の部位より刺入し、同様の操作を行う。
- ⑥ 対側の腸骨稜から同様の操作を行い、合計100mLの骨髄液が採取された時点で終了する。

7.1.3. 細胞培養施設への運搬

7.1.2で採取した骨髄液は、滅菌袋に入れ、速やかに試験細胞作成者がCCMTに運搬する。運搬時の温度は常温(20℃～25℃)とする。

7.1.4. 移植細胞 (MSC) の調製

細胞の調製・保存・運搬については製造管理者の監督の下、製造管理責任者または試験細胞作成者が行う。

1) 細胞の分離・培養

CCMTに搬送後直ちに、骨髄液からMSCを単離し、培養を開始する。培養は骨髄液採取後20日まで*とし、 6.0×10^7 個以上の細胞が確保できた時点で、培養を終了する。

詳細については「自己骨髄間葉系幹細胞に関する概要書」参照のこと。

※この期間中に細胞数が必要細胞数まで達さない場合、細胞の品質を保証することが出来ないため。

2) 細胞の凍結保存

予定数に到達後、培養皿よりMSCを回収、速やかに凍結する。凍結細胞は、CCMT内の冷凍保管庫にある -150°C の超低温槽保存容器内にて保管する。細胞の取り違えがないように照合認識システム（メルコードシステム[®]）と台帳を用いて製造管理者が管理する。

詳細については「自己骨髄間葉系幹細胞に関する概要書」参照のこと。

3) 凍結細胞の解凍・再培養

移植術予定日の7日前に、超低温槽保存容器内から凍結細胞を取り出し、 37°C のヒートブロックで解凍する。解凍後、培養を再び開始する。

詳細については「自己骨髄間葉系幹細胞に関する概要書」参照のこと。

4) 移植細胞の調製

手術当日、細胞移植術の施行30分前に、PBSにて細胞を洗浄後、リコンビナントトリプシン/EDTA混合液を加え、培養皿から細胞を回収する。細胞数を 5.0×10^7 個に調製し1.0mLの生理食塩水に懸濁し、滅菌チューブに移す。

5) 細胞の品質確認

3.1に準じて細胞の品質を確認する。

6) 余剰細胞の取り扱い

余剰細胞は手術延期時の移植用及び細胞の品質管理用にCCMT内で凍結保存する。保存にあたっては細胞の取り違えがないように照合認識システム（メルコードシステム[®]）と台帳を用いて製造管理者が管理する。

① 手術延期時の移植用

1) 移植細胞の解凍・培養再開後に患者の理由により手術が延期された際には予定移植細胞は破棄する。

2) 再度、設定された移植日に合わせて凍結時の余剰細胞を解凍し、移植に用いる。

② 細胞の品質管理用

「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」にもとづいて、10年間 CCMT内で凍結保存し、何らかの理由により、解析が必要となった場合に備える。保存期間を過ぎた余剰細胞については匿名のまま（誰の細胞か分からない状態で）密閉容器にいれて廃棄または焼却処分を行う。

7.1.5. 細胞移植施設への運搬

7.1.4.で調製した移植細胞入り滅菌チューブを滅菌袋に入れ、速やかに試験細胞作成者（CCMTスタッフ）が手術室に運搬する。運搬時の温度は常温（20～25℃）とする。

7.1.6. 手術（入院）

1) 病巣搔爬術

大腿骨頸部前方部に約40×20mmの開窓を行い、壊死骨を鋭匙、ドリルを用いて搔爬する。

2) 血管柄付骨片作成

- ①深腸骨回旋動静脈を周囲組織から剥離する。
- ②深腸骨回旋動静脈の前上腸骨棘付着部を同定し、この付着部を含む約50×20mmの骨片を採取する。
- ③骨片からの出血を確認する。
- ④血管柄を付着させたまま骨片を回旋させ、血管周囲を剥離し大腿骨頸部までの可動性を確保する。

3) 細胞移植

- ①術野において1mlの注射器に18G針をつけ、生理食塩水に懸濁した 5×10^7 個の移植細胞を吸引する。
- ②β-TCP(Osferion: 顆粒体、径0.5-8.0mm、気孔径100-500 μ m、1.0mg)を充填した間隙に移植細胞を注入する。

4) 血管柄付骨片移植

- ①血管柄付きの遊離骨片のサイズをトリミングし開窓部に蓋をするように打ち込む。
- ②骨片の安定性を確認する。

7.1.7. 手術延期時の手術日再設定

患者理由により手術が延期される場合には4週以内に再度手術日を設定する。

7.1.8. 移植術後治療（入院及び外来治療）

- ①術後2週よりROM訓練を開始
- ②手術後6週までは完全免荷
- ③手術後6-8週の間は1/3荷重

- ④手術後8-12週の間は1/2荷重
- ⑤手術後12週以降で全荷重

7.2. プロトコル治療の中止

下記事項が認められた場合には、プロトコル治療を中止し、中止日および中止理由を症例報告書に記載する

- 1) 被験者が同意を撤回した場合.
- 2) 登録後に不適格症例であることが判明した場合.
- 3) 培養開始時、細胞凍結時、及び細胞解凍時のエンドトキシンが基準値(5EU/kg/dose)より上、細菌、真菌、マイコプラズマ検査で陽性の場合. なお細胞移植後に上記検査結果が陽性と判定された場合は、被験者にその旨説明し、試験継続の同意が得られた場合は支持療法として創感染に対処する。継続の同意が得られない場合は、移植部を掻爬し、プロトコル治療を中止する。
- 4) 併用療法で規定されている治療を行った場合.
- 5) 下記の事項に関連した何らかの理由により試験担当医師が試験続行不能と判断した場合.

①自己血清の採取・保存に関連して

- 血清採取の条件が満たせなかった場合。(収縮期血圧90mmHg未満、あるいは男性Hb11.0g/dL未満、女性Hb10.0g/mL未満)

②骨髓液採取に関連して

- 骨髓液が必要量採取できなかった場合

③細胞の培養・凍結・保存・解凍・解凍後培養・搬送に関連して

- 培養期間中に必要細胞数まで達しなかった場合.
- 解凍後の細胞の生存数が50%以下の場合.

④移植手術に関連して：血管柄付骨移植術が施行不能となった場合

- 培養期間中に必要細胞数まで達しなかった場合.
- 解凍後の細胞の生存数が50%以下の場合.

⑤移植手術に関連して：血管柄付骨移植術が施行不能となった場合

- ⑥細胞移植後、安全性試験の結果が陽性と判定された場合。ただし、被験者に内容を説明し、治療継続の同意が得られた場合は中止しない。

7.3. 併用療法・支持療法

7.3.1. 併用療法

- 1) 併用を制限する薬剤療法：治療の有効性に影響を与える可能性のある下記の治療薬は登録時以前より使用している場合にのみ、用法・用量（減量は可）を変更せずに継続使用可とする。試験期間中に追加処方あるいは増量することを禁止する。
 - ① 骨粗鬆治療薬：活性型ビタミンD₃製剤、ホルモン製剤、ビスフォスフォネート製剤、乳酸カルシウム製剤、及びその他の骨粗鬆症に対して薬効が認められている薬剤
 - ②ステロイド剤
- 2) 物理的骨形成促進療法(局所に対する超音波刺激装置、磁場刺激装置の使用)は禁止