

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の申請について

- 諮問及び付議P 1

- ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書等
- (帝京大学)
 - ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書及び概要P 4
 - ヒト幹細胞臨床研究実施計画書P 6

- (信州大学)
 - ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書及び概要P21
 - ヒト幹細胞臨床研究実施計画書P23

- (信州大学)
 - ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書及び概要P34
 - ヒト幹細胞臨床研究実施計画書P36

- (慶應義塾大学)
 - ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書及び概要P47
 - ヒト幹細胞臨床研究実施計画書P49



厚生労働省発医政第 1121001 号
平成 19 年 11 月 21 日

厚生科学審議会会長
久道 茂 殿

厚生労働大臣 舩添 要



諮 問 書

下記のヒト幹細胞臨床研究実施計画について、その医療上の有用性及び倫理性に関し、厚生労働省設置法（平成11年法律第97号）第8条第1項イ及びヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針（平成18年厚生労働省告示第425号）の規定に基づき、貴会の意見を求めます。

記

1. 平成19年4月13日に帝京大学医学部医学部長から提出された「自家骨髄間葉系細胞移植による骨組織再生医療に関する研究」計画
2. 平成19年10月1日に信州大学医学部附属病院病院長から提出された「Type I collagen を担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による軟骨欠損修復」計画
3. 平成19年10月1日に信州大学医学部附属病院病院長から提出された「ハイドロキシアパタイトあるいは β -リン酸三カルシウムを担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による骨欠損修復」計画

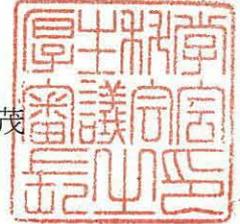
4. 平成19年11月14日に慶應義塾大学医学部医学部長から提出された「重症心不全患者への外科的治療に付随して行う、自己骨髄由来間葉系細胞を用いた細胞移植に関する臨床研究」計画



厚 科 審 第 1 3 号
平成19年11月21日

科学技術部会部会長
垣 添 忠 生 殿

厚生科学審議会会長
久 道 茂



ヒト幹細胞臨床研究実施計画について（付議）

標記について、平成19年11月21日付け厚生労働省発医政第1121001号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第3条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成19年4月13日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	東京都板橋区加賀2丁目11の1 (郵便番号 173-8605)
	名称	帝京大学医学部 03-3964-1211 (電話番号) 03-5375-6864 (FAX 番号)
	研究機関の長 役職名・氏名	帝京大学医学部 医学部長 清水輝夫 

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
自家骨髄間葉系細胞移植による骨組織 再生医療に関する研究	帝京大学医学部・整形外科主任教授 松下 隆 

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	自家骨髄間葉系細胞移植による骨組織再生医療に関する研究
申請受理年月日	平成 19 年 4 月 13 日
実施施設及び 総括責任者	実施施設：帝京大学医学部 総括責任者：松下 隆
対象疾患	骨折後の合併症としての遷延治癒・偽関節および骨延長術対象疾患
ヒト幹細胞の種類	自己骨髄培養幹細胞
実施期間及び 対象症例数	申請許可から 2 年間 10 例
治療研究の概要	移植手術の 6 週間前に、手術室で患者から無菌的に骨髄液を採取する。MSC 超増幅技術により、骨髄液から骨髄間葉系幹細胞の分離・培養・増殖を幹細胞自動培養装置を用いて行う。偽関節部または骨欠損部に、シート状に形成した移植細胞および新生骨組織を自家骨の代替として手術室で移植する。術後の経過は通常の手術後と同様に定期的な X 線検査を中心に評価する。
その他（外国での状況等）	わが国においては、歯科領域で骨髄由来間葉系幹細胞を骨補填に臨床応用されている。外国において、骨補填に骨髄由来間葉系幹細胞を用いた臨床試験の成績はない。骨髄由来間葉系幹細胞を使用した臨床試験としては、1) 化学療法中の乳癌患者の造血能を回復（2000 年、米国）、2) 心筋梗塞の治療（2004 年、中国、2005 年、ギリシア）、3) 筋萎縮性側索硬化症の治療（2006 年、イタリア）などがある。
新規性について	骨髄由来間葉系幹細胞による骨再生の臨床研究はすでに多くなされているが、FGF-2 を用いる超増幅技術による培養方法を用いた臨床研究は、新規性および審議の必要性が認められる。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	自家骨髄間葉系細胞移植による骨組織再生医療に関する研究
研究機関	
名称	帝京大学医学部
所在地	〒173-8605 東京都板橋区加賀2丁目11の1
電話番号	(03)3964-1211(代表), (03)3964-4097(整形外科学教室)
FAX番号	(03)5375-6864(整形外科学教室)
研究機関の長	
氏名	清水輝夫
役職	帝京大学医学部 医学部長
研究責任者	
氏名	松下 隆
役職	帝京大学医学部 整形外科 主任教授
最終学歴	東京大学医学部 大学院 (平成3年)
専攻科目	整形外科学
その他の研究者	別紙1参照
臨床研究の目的・意義	別紙2参照
臨床研究の対象疾患	
名称	骨折後の合併症としての遷延治癒・偽関節および骨延長術(特に bone transport時のdocking site部)
選定理由	上記疾患に対して, 既存治療では治癒促進の目的で自家骨移植術を要する場合がある. 自家骨移植術の代わりに骨組織再生医療を実施すれば, 自己組織を犠牲にすることなしにこれらの疾患を治療することができると判断したため.
被験者等の選定基準	別紙3参照

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	自己骨髄由来培養幹細胞
採取、調製、移植又は 投与の方法	別紙4参照
安全性についての評価	別紙5参照
臨床研究の実施が可能であると 判断した理由	別紙6参照
臨床研究の実施計画	別紙7参照
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	担当医および研究者が研究内容について説明し、研究への参加に関する同意を書面で受け取る。
説明事項 <small>(被験者の受ける利益と不利益を含む。)</small>	別紙8参照
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	
代諾者の選定方針	
被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法	細胞移植後に疼痛・腫脹・出血・感染が生じる可能性がある。これらの合併症は通常の骨移植術でも生じることがある。もし予測できない副作用や合併症が発生した場合には、ただちに被験者に報告するとともに、適切な医療行為により対処する。場合によっては、移植組織を含めて骨を摘出することがある。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究終了後の追跡調査の方法	臨床研究終了後, 最低3年間の追跡調査を外来受診によるX線検査を中心に実施する. 問題がある場合には, 血液検査や画像検査等を適宜追加実施する.
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	細胞の分離・培養・増殖に関わる検査・手技料を免除する.
個人情報保護の方法	
連結可能匿名化の方法	被験者の診療録番号とは別に本研究に対してのコードを別に設定する.
その他	

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)

- 研究者の略歴及び研究業績
- 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況
- 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
- 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況
- 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
- 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
- その他(資料内容: 資料1~4))
- その他(資料内容: 追加関連資料、文献))
- その他(資料内容: 冠長院公報に対する回答書))

別紙2 臨床研究の目的・意義

骨折後合併症としての偽関節あるいは骨折およびその他の整形外科関連手術における骨欠損に対しては、従来から自家骨移植術や人工骨移植術が行われてきた。自家海綿骨移植術は有用な治療法であり、腸骨は donor site としてもっとも一般的であるが、腸骨骨移植術の合併症としては深部感染、骨髄炎、血腫、神経損傷、血管損傷、医原性の腸骨骨折や仙腸関節損傷、疼痛の持続、出血、骨盤不安定性、美容上の問題といった合併症がある。これらの合併症は約 10% に生じるといわれている。また、近年、骨組織へ置換されていく人工骨も開発され臨床応用され一定の評価を受けているが、自家海綿骨移植術を凌駕するものではない。

自家骨髄間葉系幹細胞は、各種組織への分化能を有することが知られている。歯科領域ではこの幹細胞移植をヒトにも臨床応用し、GTR 法や豚歯胚抽出物(工ムドメイン)の改良方法として適応され、これらは既存の治療方法と同等の優れた結果が示されている。また、これまでの基礎研究の結果、自家骨髄間葉系幹細胞を一定の方法で培養することで骨芽細胞を増殖させ骨組織をシート状に形成することに成功している。

自家骨髄間葉系幹細胞から形成されたこのシート状の骨組織を従来の自家骨移植術の代替方法として臨床応用できれば，採骨にともなう合併症をなくすことができ，革新的な治療法となると考える．本研究の目的は，自家骨髄間葉系幹細胞による骨組織再生医療の臨床応用にむけ，その安全性を検証することである．

別紙3 被験者等の選定基準

1) 骨折後合併症としての遷延治癒・偽関節あるいは変形矯正のための骨切り術で、従来ならば人工骨移植は適応とならず自家骨移植が適応となる患者さん。

遷延癒合と偽関節の定義：一般的には、骨折受傷後あるいは骨折手術後に3カ月以上経過してもX線写真および臨床所見で骨癒合と診断できないものを遷延癒合といい、6カ月以上経過しても骨癒合と判断できないものを偽関節と定義します。骨折治癒のX線評価は、具体的には長管骨では正側2方向の単純X線写真で4つの皮質の連続性のうち仮骨による3つ以上の皮質の連続性があることで判断する。徒手検査による骨折部の動揺性、下肢骨では局所の圧痛や荷重痛の有無、上肢では局所の圧痛や運動痛の有無を参考所見とする。通常の治療は、骨折部や偽関節部を搔爬し内固定や創外固定により安定性を獲得した後に自家骨移植術を行う。人工骨を用いることはない。

Bone transport法 (骨延長術の応用例)：骨髄炎や感染性偽関節あるいは骨腫瘍切除後の骨欠損に対して、骨延長術により欠損部を再建する治療法であるが、

移動骨片の断端と残した骨の切除断端を最終的にはドッキングさせる。このドッキング部は、骨癒合しにくいため断端の処置（断端をきれいに合わせる）とともに自家骨移植術を追加して行う。人工骨を用いることはない。

変形治癒骨折に対する骨切り術 (closed wedge osteotomy): 長管骨の変形治癒に対する骨切り術のうちopen wedge osteotomyは間隙部分に自家骨移植または人工骨移植を行いプレート等で固定するが、closed wedge osteotomyは骨切り断端をできるだけ接触させてプレート等で固定する。骨幹端部でのclosed wedge osteotomyでは海綿骨同士が接触面となるため骨癒合しやすいが、骨幹部あるいは骨幹端と骨幹部が接触面となる場合は骨癒合しにくい。このような骨切り術では自家骨移植術を行うことで、骨癒合の促進をはかれる。人工骨移植の有用性は明らかでない。

2) 性別：男性および女性（妊娠中あるいは妊娠の可能性のある患者を除く）

3) 年齢：20 歳以上 60 歳未満

4) 予定症例数：10 例

5) 適応除外事項：合併症により余命が1年以内と考えられる患者さん，過去3カ月以内にアルコールもしくは薬物依存の既往がある患者さん，重症の糖尿病を有する患者さん，悪性新生物を有する患者さんおよび5年以内にその既往のある患者さん，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さん，ペニシリンおよびストレプトマイシン等の抗生剤にアレルギー歴のある患者さん，過去3カ月以内に骨形成に影響を与える薬剤が投与されている患者さん，インフォームドコンセントを得られない患者さん，その他，主治医が不適合と考える所見を有する患者さん．

別紙4 臨床研究に用いるヒト幹細胞 採取、調製、移植又は投与の方法:

患者の骨髄より麻酔下で骨髄液 (3～15ml) を採取し , 静脈より血液も採取する . 細胞を FGF-2 並びに自己血より調製した血清を含む培地を用いて培養して , 幹細胞を増殖させる . 培養にて増え移植に充分量に達した間葉系幹細胞を生分解性 (乳酸/グリコール酸共重合体) のシート材料上に播種し , 更に培養して骨細胞に分化させて移植体を作製する . 完成した移植体を患者の骨欠損部へ自家移植する . 培養期間は全工程約 6 週間である .

詳細は , 添付した資料 1 . 製造方法の概要資料および資料 2 . 自動培養装置 1 号機標準作業手順書案 (細胞からの自動培養法) についてを参照 .

別紙5 安全性についての評価

骨髄採取前に、血液検査で梅毒血清反応、HBVs抗原、HBVs抗体、HCV抗体(3rd)、HTLV-1抗体(ATLA抗体)、HIV-1,2抗体、パルボウイルスB19抗体IgG、Mについて検査し、全陰性の患者のみ対象とする。自己血清採取時には、真菌・細菌否定試験、糸状性真菌否定試験、エンドトキシン定量、全マイコプラズマ属共通PCRを行い、エンドトキシンは10pg/ml以下で他は全て陰性の場合を対象患者とする。培養開始後は、その培養液について真菌・細菌否定試験、糸状性真菌否定試験、エンドトキシン定量、全マイコプラズマ属共通PCRについて、培養過程で3回検査し、培養中の混入感染の無いことを確認する。

最終製品での無菌性やマイコプラズマの試験結果が、移植後に陽性であった場合には、移植された患者さんに迅速に連絡するとともに、感受性のある抗生剤の全身投与を行い経過を観察する。血液検査データやX線写真による所見、移植部位の外観により移植部位等に感染徴候が確認できれば、移植組織および骨組織を摘出する。

また、移植に持ちうる段階の細胞に対してHIV RNA定量、アンプリコアHBV-PCR定量、HTLV-1プロウイルスDNA、パルボウイルスB19DNA/PCR定量の検査を行

い，培養中の混入感染又は患者の不顕性感染の無いことを確認する．

なお，移植に用いられる生分解性（乳酸/グリコール酸共重合体）のシート（GC Membrane）も急性毒性試験・溶血試験・微生物を用いる変異原性試験・細胞毒性試験・感作性試験・皮下移植試験・口腔粘膜刺激試験でいずれも問題なく，現在歯科用に臨床使用されている．

原材料，製造工程，細胞，各工程の中間製品，製品の品質管理等に関しての詳細は資料 4 を参照．

別紙6 臨床研究の実施が可能であると判断した理由

この培養法で得られた幹細胞は、既に広島大学・歯学部で臨床研究として10名をこえる歯周病患者の患部に移植され、良好な成績が得られており、特別な副作用は報告されていない。また、培養幹細胞の生分解シート上での骨細胞への分化誘導をビーグル犬を用いた実験で確認されている。完成した骨シートの骨欠損部への移植でも非移植部に比較して著明な骨形成が観察されている。したがって、この方法を用いれば整形外科領域の疾患に対しても有効であると判断した。

前臨床試験の概要を資料3に示した。

別紙7 臨床研究の実施計画

血清採取用血液バックで採血を行い細胞培養用の血清を確保する。採取した血液を2人組みにて細胞培養室に搬送した後、血清分離用機器と遠心分離機を用いて血清を分離する。最終的な手術の約6週間前に手術室にて局所麻酔または全身麻酔下（原則として局所麻酔で行う）に腸骨の3カ所から骨髓液を1カ所につき1～5ml採取する。分離した自己血清を用いてMSC超増幅技術により、骨髓間葉系幹細胞の分離・培養・増殖を幹細胞自動培養装置を用いて行う。移植細胞および新生骨組織の搬送も血液の搬送と同様に、コンテナを用いて2人組で手術室へ運ぶ。

偽関節部および骨欠損部に対して、移植細胞および新生骨組織を自家骨の代替として必要な部位に移植する。術後の経過は、通常の手術後と同様に定期的なX線検査を中心に評価する。

手術が延期になった場合の対応：何らかの原因（当日に患者が発熱したため手術ができなかった場合、培養に失敗した場合など）で手術が延期になった場合には、培養細胞自体の問題でない場合には、1週間以内の延期ならば延期し

た日付で培養細胞の移植手術を行う。培養細胞自体の問題で手術が出来なかった場合には、通常の自家骨移植術に変更する。

骨髓液採取における麻酔法：外来通院中の患者さんでは基本的には局所麻酔下に実施します。ただし、患者さんが疼痛を強く訴えられるような場合には、静脈麻酔やガス麻酔を追加する可能性があります。入院患者で他の外科的処置を全身麻酔下で実施する場合で、同時に骨髓液を採取できる場合にはその時に骨髓液を採取する。

プロトコル中止基準：患者が本研究に対する同意を撤回した場合、十分な量の骨髓液（3 ml）が採取できなかった場合、培養が失敗した場合、組織の移動・運搬で問題が生じた場合、移植予定手術が8日間以上延期された場合など。

併用療法：自家骨移植術や人工骨移植術との併用は原則として行わない。自家骨移植術を行う場合と同様に、骨折部の固定力が不十分な場合は内固定法あるいは創外固定法による固定の追加を行う。

実施計画の詳細は資料 2 を参照 .

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成19年10月 1日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	長野県松本市旭3-1-1 (郵便番号 390-8621)
	名称	信州大学医学部附属病院 0263-35-4600 (代表) 0263-37-3024 (総務課)
	研究機関の長 役職名・氏名	信州大学医学部附属病院 病院長 勝山 努

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
Type I collagen を担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による軟骨欠損修復	信州大学大学院医学研究科 運動機能学講座教授 加藤 博之 

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	Type I collagen を担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による軟骨欠損修復
申請受理年月日	平成 19 年 10 月 1 日
実施施設及び 総括責任者	実施施設：信州大学医学部附属病院 総括責任者：加藤 博之
対象疾患	離断性骨軟骨炎・外傷性骨軟骨損傷・若年者の特発性膝骨壊死・変形性関節症に伴う骨軟骨障害
ヒト幹細胞の種類	(自己) 骨髄間葉系幹細胞
実施期間及び 対象症例数	3 年間 13 歳から 65 歳までの 10 症例
治療研究の概要	治療困難であり、自然修復が期待できない重症化した上記軟骨疾患（特に若年者）を対象とし、患者の骨髄液から採取した骨髄間葉系幹細胞を増幅した後、担体であるコラーゲン（アテロコラーゲン・ペルナック）に包埋させる。採取より数週間後、軟骨欠損部に外科的に移植して表面を骨膜でパッチすることで、軟骨欠損部および軟骨下骨の早期修復を図る。
その他（外国での状況等）	軟骨損傷に対する治療は従来、骨髄刺激法、モザイクプラスチック、自己培養軟骨細胞移植などが行われているが、骨髄間葉系幹細胞移植に関しては、1994 年 Wakitani らによりウサギ膝関節軟骨欠損に対して MSC 移植後、硝子軟骨様組織が形成されることが示されたのを期に、2002 年ヒト膝蓋骨軟骨損傷への臨床応用例が初めて報告された。それ以降、下肢関節軟骨を中心とした国内での臨床応用が、少数例ではあるが報告されている。
新規性について	これまで、骨髄間葉系幹細胞による軟骨再生の臨床研究は国内では産業技術総合研究所を中心に行われてきたが、今研究は申請者である信州大学医学部附属病院として初めて行われる研究であり、また上肢の骨軟骨損傷に対する同様の治療報告はなく、新規性を認める。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	Type I collagen を担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による軟骨欠損修復
研究機関	
名称	信州大学医学部附属病院
所在地	〒390-8621 長野県松本市旭 3 - 1 - 1
電話番号	0263-35-4600
FAX 番号	0263-37-3024 (総務課)
研究機関の長	
氏名	勝山 努
役職	信州大学医学部附属病院長
研究責任者	
所属	信州大学医学部運動機能学講座
役職	教授
氏名	加藤博之
連絡先 Tel/Fax	0263-37-2659/0263-35-8844
E-mail	hirokato@hsp.md.shinshu-u.ac.jp
最終学歴	昭和 54 年北海道大学医学部医学科卒業
専攻科目	整形外科学
その他の研究者	添付書類 1 参照
臨床研究の目的・意義	<p>関節軟骨が損傷されると、軟骨下骨同士が擦れ合い摩擦が大きくなり、また衝撃が直接軟骨下骨に伝わるため軟骨下骨が損傷しやすく、骨硬化あるいは疼痛が生じ、将来的には変形性関節症（OA）に移行すると考えられる。しかしながら、関節軟骨の修復能力は非常に弱く、いったん損傷されると、本来の組織である硝子軟骨で修復されることはないと考えられており、現在のところ、関節軟骨を完全にかつ確実に修復する方法は確立されていない。</p> <p>従来、このような軟骨損傷に対しては古くから骨髄刺激法（drilling, abrasion, microfracture）が行われてきた。この方法は軟骨下骨を削り出血させることで骨髄中の間葉系細胞を動員し修復を得る方法である。特別な手技や道具は必要無く簡便に施行できるため昔から広く行われてきたがこれにより再生されるのは線維軟骨であり長期にわたり本来の硝子軟骨同様の機能を維持できるかは分かっていない。また、近年ではモザイクプラスチック・自己培養軟骨細胞移植などが行われるようになってきた。しかしこれらの方法</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>は膝関節を切開し正常の軟骨組織を犠牲にしなければならないという欠点がある。また、前者は本来の関節表面の曲率を再現するのが困難でありまた対応できる欠損の大きさには限界がある。後者においても移植した組織が周囲の関節軟骨や軟骨下骨との間で強固に結合するかは不明であり近年の報告では再鏡視で部分剥離が見られたとの報告もある。</p> <p>このため我々は関節軟骨を修復する新たな方法の一つとして骨髄間葉系細胞を用いることを考えた。骨髄間葉系細胞は骨髄系の接着細胞で一部が骨・軟骨・筋肉・脂肪等の間葉系組織に分化する能力を持つ。骨髄血から容易に採取可能であり10日間で2000倍にも増殖するため臨床応用に適し、いくつかの組織の再生医療に応用が試みられており、我々も軟骨再生において良好な結果を得ている。当方法の利点は局所麻酔で移植源である細胞を採取できること、増殖させた状態で移植すること、また、軟骨だけでなく軟骨下骨の修復も期待できることから従来の方法に比してより良い軟骨修復を得られる可能性があるものと思われ、治療が困難な若年者に対しても有用な方法であることが期待される。</p> <p>また当方法で関節軟骨を再生することが可能になれば軟骨欠損による症状を緩和させ、OAへの進行を予防することにより将来人工関節や関節固定術などの手術治療を回避することができると考えられる。</p> <p>今回我々は各疾患における骨軟骨障害に対して骨髄間葉系細胞移植を行い、この治療の安全性および臨床効果の評価を本臨床研究の目的と考えている。</p>
臨床研究の対象疾患	
名称	離断性骨軟骨炎・外傷性骨軟骨損傷・若年者の特発性膝骨壊死・変形性関節症に伴う骨軟骨障害
選定理由	<p>上記の疾患は若年者に発生し重症例の場合治療は困難であり、また、関節軟骨の自然修復も期待できない。一度関節軟骨の損傷が生じ、これが残存すると関節表面の摩擦が大きくなり滑動性も悪くなる。これを放置すると更に軟骨の損傷が進み関節の変形も進行し、重度の変形性関節症（OA）の状態に移行する事が分かっている。中高齢者に比べ若年者のOAは痛みや可動域制限、運動障害によりその後の将来にわたり運動や日常・社会生活に大きな影響を及ぼすものと考えられる。</p> <p>そして上記疾患は臨床経過が把握されており、画像判定による病期分類等も確立され、X線・MRI・術後の再鏡視画像や生検組織から治療の効果判定が可能である。また、従来の治療法の有効性・安全性も明らかになっている。このため今回の方法の有効性、安全性を評価する対象疾患として適切であると考えた。</p>
被験者等の選定基準	<p>選定基準としては以下（1）～（4）をすべて満たす者とする。</p> <p>（1） 臨床所見として各関節の腫脹・疼痛・可動域制限を認めるも</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>の</p> <p>(2) 画像所見 (X線・MRI・関節鏡所見) から下記の病期を満たすもの</p> <p>離断性骨軟骨炎: ICRS classification of OCD の class III・IV</p> <p>外傷性軟骨損傷: Outerbridge 分類の stage IV</p> <p>特発性膝骨壊死: 腰野の分類の stage III・IV</p> <p>変形性関節症: Kellgren-Lawrence 分類の Grade III・IV (添付文書 4 画像評価基準参照)</p> <p>の患者</p> <p>(3) 13 歳以上 65 歳以下の患者</p> <p>(4) 本人より文書にて同意が得られている患者</p> <p>被験者においては事前に感染症、ウイルス、細菌、真菌などの感染がないこと、抗生物質によるアレルギー歴もないことを確認する。13 歳から 19 歳までの対象者については両親あるいは親権者を代諾者としてインフォームド・コンセントを得る (被験者に対してもインフォームド・アセントを得る)。20 歳以上については知的障害者、精神疾患を有する者など同意能力に問題があると考えられる場合は本臨床研究の対象としない。</p>														
臨床研究に用いるヒト幹細胞															
	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="209 1025 284 1133">種類</td> <td data-bbox="284 1025 1465 1133">骨髄間葉系幹細胞</td> </tr> <tr> <td data-bbox="209 1133 284 1200">由来</td> <td data-bbox="284 1133 1465 1200">自己・生体由来</td> </tr> <tr> <td data-bbox="209 1200 284 1290">採取、調整、移植又は投与の方法</td> <td data-bbox="284 1200 1465 1290">製品標準書 (関節軟骨再生用培養細胞標準書) 参照。</td> </tr> <tr> <td data-bbox="209 1290 284 1335">調製 (加工) 行程</td> <td data-bbox="284 1290 1465 1335">有</td> </tr> <tr> <td data-bbox="209 1335 284 1379">非自己由来材料使用</td> <td data-bbox="284 1335 1465 1379">有 動物種 (ブタ・ウシ)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="209 1379 284 1424">複数機関での実施</td> <td data-bbox="284 1379 1465 1424">有</td> </tr> <tr> <td data-bbox="209 1424 284 1512">他の医療機関への授与・販売</td> <td data-bbox="284 1424 1465 1512">無</td> </tr> </table>	種類	骨髄間葉系幹細胞	由来	自己・生体由来	採取、調整、移植又は投与の方法	製品標準書 (関節軟骨再生用培養細胞標準書) 参照。	調製 (加工) 行程	有	非自己由来材料使用	有 動物種 (ブタ・ウシ)	複数機関での実施	有	他の医療機関への授与・販売	無
種類	骨髄間葉系幹細胞														
由来	自己・生体由来														
採取、調整、移植又は投与の方法	製品標準書 (関節軟骨再生用培養細胞標準書) 参照。														
調製 (加工) 行程	有														
非自己由来材料使用	有 動物種 (ブタ・ウシ)														
複数機関での実施	有														
他の医療機関への授与・販売	無														
安全性についての評価	<p>細胞の培養・調整を行う信州大学医学部附属病院先端細胞治療センターは GMP に準拠した施設であり「汚染防止」、「人為的ミス」、「品質保証」を遵守している (添付書類【信州大学医学部附属病院 先端細胞治療センターが GMP に準拠している根拠】参照)。</p> <p>また培養調整段階では形態観察、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行い (詳細は再生培養骨搭載人工骨標準書 -25 頁のうちの 23、24 頁-8. 構成部品、細胞培養用物質、中間製品、製品の試験検査方法、試験検査手順、合否判定基準、試験検査に用いる装置、設備、器具、および試験検査環境の項を参照)、感染症の否定や細胞の形態変化、生存率のチェックをおこなう。</p> <p>被験者に対しては移植手術後には通常の手術の術後と同様に全身状</p>														

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>態のチェックを綿密におこなうとともに、血液・生化学検査を術後翌日、1週、2週、4週、8週、3ヶ月、6ヶ月、1年（以後1年毎）を目安におこない感染症の有無などのチェックをする。また定期レントゲン、CT、MRI検査（臨床研究の実実施計画（4）術後評価の項参照）を通して移植部位に異常がないかどうかを確認する。</p>
<p>臨床研究の実施が可能であると判断した理由</p>	<p>Wakitaniらはウサギの膝関節軟骨欠損の実験系を用い骨髄間葉系細胞移植を行った（文献1）。骨髄血を採取し接着細胞を培養、これを骨髄血に包埋し骨軟骨欠損部に移植した。移植後2週間で骨軟骨欠損部にトルイジンブルーに異染性をしめす硝子軟骨様組織が形成され、24週で軟骨下骨も完全に修復された。</p> <p>この実験により骨髄間葉系細胞移植により骨軟骨欠損の修復が促進されることが明らかになったためこれをヒトの膝蓋骨軟骨損傷に、に応用した（文献2）。この治療施行後臨床症状は改善し再鏡視においても軟骨欠損部においても良好な修復を認めた。また変形性膝関節症の骨切り患者を対象に骨髄間葉系細胞移植を行い、非移植群をcontrolとしてその有用性を評価した（文献3）。結果、臨床症状には有意差が認められなかったが鏡視上や生検組織上は移植群において良好な軟骨修復が得られていた。</p> <p>また、Kurodaらも当方法を用いて骨軟骨欠損の治療を行い、7ヶ月の時点で鏡視上欠損部の修復がみられ組織学的にサフラニンOやトルイジンブルーに濃染する硝子軟骨様組織と軟骨下骨の再生を確認したと報告している。（文献4）</p> <p>動物実験や他施設での良好な治療成績を踏まえ、当院においても2003年より骨軟骨損傷の治療として10例に対して骨髄間葉系細胞移植を行ってきた。成績はいずれも良好でその一部を報告している。（文献5）</p> <p>また、動物実験や臨床症例の中で術後感染や異常な修復、癌化等を生じた事は無く安全性の高い方法であると考えられる。</p> <p>従来、細胞培養の工程は産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門に委託して行っていたが、今回我々は当院に開設された先端細胞治療センター(CPC)を使用して当研究の実施を予定している。このCPCはGMPに準拠しており、技術的な部分も産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門の協力を得て研究遂行の準備はできている。</p> <p>以上のことから本臨床研究は実施可能と考える。</p> <p>文献 1 : Wakitani S: Mesenchymal cell-based repair of large, full thickness defect of articular cartilage. J Bone Joint Surg 76-A: 579-592, 1994</p> <p>文献 2 : Wakitani S: Autologous bone marrow stromal cell transplantation for repair of full-thickness articular cartilage defects in human patellae: two case reports. Cell</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>Transplant vol13:595-600, 2004.</p> <p>文献 3: Wakitani S: Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal cell transplantation for repair of cartilage defects in osteoarthritic knees Osteoarthritis and Cartilage 10: 199-206, 2002.</p> <p>文献 4: Kuroda R: Treatment of a full-thickness articular cartilage defect in the femoral condyle of an athlete with autologous bone-marrow stromal cells. Osteoarthritis and Cartilage 15(2): 226-231, 2007.</p> <p>文献 5: Wakitani S: Repair of articular cartilage defects in the patello-femoral joint with autologous bone marrow mesenchymal cell transplantation: three case reports involving nine defects in five knees. J Tissue Eng Regen Med. in press, 2007.</p>
<p>臨床研究の実施計画</p>	<p>当施設では 2003-2006 年の間に 10 例の患者に対して同治療を行った実績がありこのため年間 3 例前後、3 年間で 10 例を目標として評価を行う予定である。</p> <p>(1) 骨髓血採取 (2) 幹細胞の培養・調整 (3) 再生軟骨の移植 (手術) (4) 術後評価</p> <p>の各段階に分けて記載する。</p> <p>(1) <u>骨髓血採取</u> 添付書類 2 (自己骨髓細胞採取マニュアル) 参照</p> <p>(2) <u>幹細胞の培養・調整</u> 製品標準書(関節軟骨再生用培養細胞標準書)参照</p> <p>(3) <u>再生軟骨の移植 (手術)</u> 添付書類 3 (再生軟骨移植マニュアル) 参照</p> <p>(4) <u>術後評価</u></p> <p>①臨床評価: 臨床評価基準として 肘関節: Mayo elbow performance score 膝関節: Lysholm score 足関節: AOFAS score (添付文書 4 臨床評価基準参照) を用いて術前・術後 3 ヶ月・6 ヶ月・1 年、1 年から 10 年は 1 年毎に評価を行う。</p> <p>②単純 X 線像: 関節裂隙・軟骨下骨の状態・関節症の進行の有無を評価する。関節症の進行度は Kellgren-Lawrence grading scale</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

(添付文書4 画像評価基準参照)を用いて客観的評価を行う。術前・術後1・3・6週、2・3・6・9ヶ月・1年で撮影。1年から5年は6ヶ月毎、5年から10年は1年毎に撮影する。

③MRI検査:

経時的な軟骨の厚み・性状・輝度の変化を評価し、Hendersonの評価基準(添付文書4 画像評価基準参照)を用いて客観的評価を行う。術前・術後3・6・1年で撮影。1年から10年は1年毎に撮影する。

④関節鏡:

術後1年の時点で関節表面の軟骨の性状(平滑性・色調・硬さ・移植した骨膜の状態)を評価するために行う。また、痛みや関節の腫脹などが生じた場合においても適宜移植した軟骨の状態を評価する。

⑤超音波検査:

術後1年の再鏡視時に再生軟骨の物性的性質を定量的に評価するために、移植後1年時の関節鏡検査時にHattoriらの開発した超音波探索子を関節内に挿入し、移植部中央に箇所測定点で軟骨の反射エコーを測定する。

⑥病理検査: 関節鏡を行った際に再生組織の一部を生検し、HE染色、トルイジンブルー染色を行いWakitani score(添付文書4 画像評価基準参照)を用いて客観的組織学的評価を行う。

<エンドポイント>

- (1) 術前・術後1年での各関節の臨床評価基準における点数
- (2) 術前、術後1年でのX線画像におけるKellgren-Lawrence分類による病期
- (3) 術前・術後1年でのHendersonのMRI評価基準における点数
- (4) 術前・術後1年での超音波での強度評価
- (5) 術後1年での再生組織の生検のWakitani scoreでの評価

<解析方法>

- (1) 手術前と術後1年での臨床点数を比較し、改善度(術後1年時臨床評価点数/術前臨床評価点数)を算出する。
- (2) 手術前の病期と術後1年目あるいは治療の中止時の病期を判定し、病期が進行した症例を病期進行例と分類し、病期進行割合(病期進行例数/細胞移植施行例数×100%)を算出する。
- (3) 手術前と術後1年でのMRI評価点数を比較し、改善度(術後1年時評価点数/術前評価点数)を算出する。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>(4) 術後 1 年での超音波での評価(正常軟骨の最大強度に対する再生軟骨の最大強度の割合)を最大強度比として算出する。また移植手術時に測定した最大強度比(正常軟骨の最大強度に対する損傷軟骨の最大強度の割合)と比較し改善率(術後 1 年最大強度比/移植時最大強度比)を算出する。</p> <p>(5) Wakitani score の点数</p> <p>また、肘関節に関しては対照群として申請者が過去に mosaicplasty による軟骨修復を行った 12 例の成績 (Am J Sport Med., 2007) を用い、本研究の評価値と比較検討する。</p> <p>有害事象とは、本臨床研究との因果関係の有無に関わらず期間中に被験者に生じたあらゆる好ましくない、あるいは意図しない徴候、症状、または病気と定義する。</p> <p>また臨床研究期間中に観察された有害事象のうち、以下のいずれかに相当するものは重篤な有害事象と定義する。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 死亡にいたるもの 2. 生命を脅かすもの 3. 治療のため入院または入院期間の延長が必要なもの 4. 永続的または顕著な障害／機能不全に陥るもの 5. 次世代に影響が及ぶと思われるもの <p>逸脱症例について下記の状況が生じた場合と定義する</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 被験者または代諾者の不参加表明 2. 有害事象が生じたとき 3. 培養中の感染等培養過程での事故 <p>逸脱症例について、上記 2 の場合には起きた有害事象に対して速やかに適切な治療をおこなう。1、3 (2 の治療後) の場合はインフォームド・コンセントして一般的な治療法(骨髄間葉系細胞刺激法・モザイクプラスチック)で治療を進めるかどうかを確認する。</p>		
被験者等に関するインフォームド・コンセント			
<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 20%;">手続</td> <td data-bbox="587 1688 1463 1951"> <p>整形外科内での症例検討会にて本研究の適応と診断された場合に別紙の説明文書に基づき術者が患者・家族に対して説明を行い、別紙の同意書を対象患者本人から得た後に手術を施行する。なお、本臨床研究の実施に際してはインフォームド・コンセントを(1)臨床研究への登録時、(2)骨髄血採取時、(3)移植手術前の計 3 回おこなう。</p> </td> </tr> </table>	手続	<p>整形外科内での症例検討会にて本研究の適応と診断された場合に別紙の説明文書に基づき術者が患者・家族に対して説明を行い、別紙の同意書を対象患者本人から得た後に手術を施行する。なお、本臨床研究の実施に際してはインフォームド・コンセントを(1)臨床研究への登録時、(2)骨髄血採取時、(3)移植手術前の計 3 回おこなう。</p>	
手続	<p>整形外科内での症例検討会にて本研究の適応と診断された場合に別紙の説明文書に基づき術者が患者・家族に対して説明を行い、別紙の同意書を対象患者本人から得た後に手術を施行する。なお、本臨床研究の実施に際してはインフォームド・コンセントを(1)臨床研究への登録時、(2)骨髄血採取時、(3)移植手術前の計 3 回おこなう。</p>		

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<p>説明事項 (被験者の受ける利益と不利益を含む。)</p>	<ol style="list-style-type: none"> ① 当該臨床研究の目的, 意義 ② 研究の方法 ③ 当該研究を実施する機関名 ④ 予期される研究の効果 ⑤ この研究への参加に伴い予期される危険または不快な状態 ⑥ 他の治療法の有無, 内容, 当該治療法により予期される効果及び危険性並びにそれらの治療法との比較 ⑦ 研究の参加への任意性と同意後に随時同意を撤回できること ⑧ 健康被害に対する補償の有無 ⑨ 個人情報の取り扱い ⑩ 研究のための費用 ⑪ 研究成果の公表 ⑫ 知的財産権の帰属 ⑬ 研究者名 ⑭ 問い合わせ・苦情の連絡先 ⑮ 13歳～19歳の未成年者のエントリーに際しては、代諾者のインフォームドコンセントを得る。さらに未成年者本人に理解できる説明書を作成し、未成年者本人のインフォームドアセントを得る。
<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</p>	
<p>研究が必要不可欠である理由</p>	<p>今回の対象疾患である離断性骨軟骨炎の発症年齢は平均 15 歳で、骨端線閉鎖前の若年者に多く発症する事が知られている。また申請者は肘離断性骨軟骨炎において 20 歳以上の発症は稀であることを報告している (Clin Orthop Related Res. 1999)。さらに本症の ICLS class III, IV を放置した場合は、将来において約 50%の患者が変形性肘関節症に移行し、成人あるいは高齢者において障害が徐々に進行することも明らかにしている (Clin Orthop Related Res. 1999)。膝・足関節の離断性骨軟骨炎が 10 歳台に生じることは肘関節ほど多くはないが、もし 10 歳台に生じた場合は加重関節であることから肘関節以上に高頻度にかつ重度の変形性関節症が発生することは明らかである。したがって、離断性骨軟骨炎患者全体の健康を増進させ、将来的に就学・運動・就労に障害の少ない関節を獲得するには本研究は必要不可欠であり、本研究は法的に無能力な未成年者を対象として含まざるを得ない。しかし、小学生以下の児童においては、本臨床研究参画の理解を得ることには無理があると判断し、エントリー年齢を 13 歳以上とした。</p>
<p>代諾者の選定方針</p>	<p>20 歳未満の被験者には両親あるいは親権者を代諾者とする。その中で 13 歳以上の被験者に対してはインフォームド・アセントを得る。 (13 歳以上の未成年の被験者においては、被験者自身が理解できる言葉や用語で本研究について可能な限り十分な説明をして同意を得て、両親あるいは法的代理人とは別に作成されたアセント文書に被験者本人が署名、年月日を記入する。すべての場合において被験者</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>参照)。個人情報保護および検体取り違え防止のために、個人とこの符号を結びつける対応表は個人情報管理者のもとで厳重に管理する。</p> <p>個人情報管理者は山内一由（信州大学医学部附属病院臨床検査部技師長）とし、対応表の管理方法については他のコンピュータと切り離されたコンピュータを使用し、外部記憶媒体に記録させ、その記憶媒体は、鍵をかけて厳重に保管することとする。</p>
<p>その他</p>	<p>試験に関わる関係者は個人情報の取り扱いに十分配慮し、外部に漏れないよう厳重に管理をおこなう（SOP「D1-03 個人情報の保護に関する手順書」参照）。この研究で得られた成果を発表する場合には、研究に参加していただいた方のプライバシーに慎重に配慮し、個人を特定できる情報が公表されないようにする。</p>
<p>その他必要な事項</p>	<p><u>＜ヒト幹細胞臨床研究にかかる研究資金の調達方法＞</u></p> <p>本臨床研究にかかる費用については文部科学省科学研究費補助金・奨学寄附金および病院校費（大学運営資金）から支出される。</p> <p><u>＜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＞</u></p> <p>当研究に関しては2000年より我々の研究グループでのみ行われており、また、上肢の骨軟骨損傷に対する同様の治療の報告はなく新規性の高い臨床研究であるものと思われる。</p> <p>他施設での実施状況</p> <p><u>＜産業技術総合研究所＞</u></p> <p>当院の共同研究機関で骨髄間葉系細胞の培養移植に関する臨床応用を世界に先駆けて開始した施設である。軟骨再生に関しては旧国立大阪南病院（現 国立病院機構大阪南医療センター）、信州大学、神戸大学、兵庫医科大学との共同研究にて約20例前後の症例に対して同治療を行っている。</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）

- 研究者の略歴及び研究業績
- 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況
- 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
- 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況
- 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

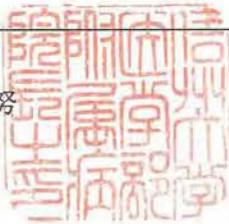
ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

- 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
- その他（資料内容：参考文献 1－5）
- その他（資料内容：製品標準書（関節軟骨再生用培養細胞標準書））
- その他（資料内容：添付文書 1－3 ）

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成19年10月 1日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	長野県松本市旭3-1-1 (郵便番号 390-8621)
	名称	信州大学医学部附属病院 0263-35-4600 (電話番号) 0263-37-3024 (FAX 番号)
	研究機関の長 役職名・氏名	信州大学医学部附属病院 病院長 勝山 努 

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
ハイドロキシアパタイトあるいはβ-リン酸三カルシウムを担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による骨欠損修復	信州大学医学部・運動機能学講座教授 加藤 博之

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	ハイドロキシアパタイトあるいは β -リン酸三カルシウムを担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による骨欠損修復
申請年月日	平成 19 年 10 月 1 日
実施施設及び 総括責任者	実施施設：信州大学医学部附属病院 総括責任者：加藤 博之
対象疾患	骨嚢腫、非骨化性線維腫、線維性骨異形成症、内軟骨腫、骨巨細胞腫
ヒト幹細胞の種類	(自己) 骨髄間葉系幹細胞
実施期間及び 対象症例数	3 年間 13 歳から 65 歳までの 10 症例
治療研究の概要	若年者に多い良性骨腫瘍の摘出後生じる骨欠損で、骨折を生じる危険性が高い症例に対して、あらかじめ自己骨髄液から採取して、培養して得た骨髄間葉系幹細胞を付着させた人工骨を骨欠損部に充填することで早期の良好な骨形成を図る。
その他（外国での状況等）	骨髄から採取した骨形成前駆細胞を培養して増幅し、人工骨（ハイドロキシアパタイト）に播種させ、骨欠損部に移植した例は 2001 年 Quarto ら（伊・露）が 3 例報告した。国内でも同じく 2001 年 Ohgushi が骨髄間葉系細胞を培養・増殖し骨形成細胞に分化させ、HA や β -TCP 等の表面に播種して移植した臨床例での報告を行っており、歯科領域でも 2006 年 Yamada らの報告がある。奈良医科大学、大阪大学でも臨床使用例が報告されている。
新規性について	培養骨髄間葉系幹細胞と人工骨を組み合わせで作成した再生培養骨に関しては、すでに産業技術総合研究所、奈良医大、大阪大などで臨床応用例の報告があるが、信州大学医学部附属病院での臨床研究は今回が初めてであり、新規性・審議の必要性を認める。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	ハイドロキシアパタイトあるいは β -リン酸三カルシウムを担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による骨欠損修復		
研究機関			
名称	信州大学医学部附属病院		
所在地	〒390-8621 長野県松本市旭3-1-1		
電話番号	0263-35-4600		
FAX 番号	0263-37-3024 (総務課)		
研究機関の長			
氏名	勝山 努		
役職	信州大学医学部附属病院長		
研究責任者			
所属	信州大学医学部運動機能学講座		
役職	教授		
氏名	加藤博之		
連絡先	Tel/Fax	Tel: 0263-37-2659 / Fax: 0263-35-8844	
	E-mail	hirokato@hsp.md.shinshu-u.ac.jp	
最終学歴	昭和54年北海道大学医学部医学科卒業		
専攻科目	整形外科		
その他の研究者	添付書類(別紙1)参照		
臨床研究の目的・意義	<p>骨腫瘍の手術後に生じた骨欠損の補填について、低侵襲で早期の骨癒合と強度を得ることを目的として、人工骨を母床とした培養骨移植法の開発を目指し、細胞移植治療の安全性と有効性を評価する。この方法は骨伝導能を持つが骨誘導能がない人工骨に骨誘導能を付加するもので、採取量が制限され侵襲も伴う自家骨移植に代わる有効な骨移植法になりうる。この方法については既に国内でもおこなわれており(以下文献1), 2))その有効性が言われているがまだ症例数は少なく一部の限定された施設のみでおこなわれている。再生骨の有効性については種々の論文(3), 4), 5))で述べられている。また安全性については培養細胞の腫瘍化や感染症の報告はなく、培養細胞に対して細菌、真菌検査、マイコプラズマ検査、エンドトキシン検査や造腫瘍試験、核型異常試験などの安全性試験を述べている報告6)もあるが特に問題がない。</p>		

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>(文献)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Morishita T, Honoki K, Ohgushi H, Kotobuki N, Matsushima A, Takakura Y : Tissue engineering approach to the treatment of bone tumors: three cases of cultured bone grafts derived from patients' mesenchymal stem cells. <i>Artif Organs.</i> 30(2):115-8, 2006. 2. 藤本哲穂、木澤卓嗣、西川昌孝、名井陽、吉川秀樹 : 骨腫瘍に対する骨再生治療. <i>腎と骨代謝</i> 19(4) 341-348, 2006. 3. Ohgushi H, Okumura M: Osteogenic capacity of rat and human marrow cells in porous ceramics. <i>Experiments in athymic (nude) mice.</i> <i>Acta Orthop Scand.</i> 61(5):431-4, 1990 4. Goshima J, Goldberg VM, Caplan AI: The osteogenic potential of culture-expanded rat marrow mesenchymal cells assayed in vivo in calcium phosphate ceramic blocks. <i>Clin Orthop Relat Res.</i> 262:298-311, 1991 5. Yoshikawa T, Ohgushi H, Tamai S: Immediate bone forming capability of prefabricated osteogenic hydroxyapatite. <i>J Biomed Mater Res.</i> 32(3):481-92, 1996 6. 山田陽一、上田実 : 幹細胞・ES細胞-歯・歯周組織-歯槽骨の再生医療 <i>再生医療</i> 5(1) : 105-111, 2005.
臨床研究の対象疾患	
名称	骨嚢腫、非骨化性線維腫、線維性骨異形成症、内軟骨腫、骨巨細胞腫
選定理由	<p>上記の良性骨腫瘍および腫瘍様病変は画像所見で増大傾向が確認される例で、髄腔占拠率が 50%を超え、皮質骨の菲薄化を伴うものは病的骨折の危険が高いとされており搔爬、骨移植手術の適応となる。しかしほとんどの場合骨欠損部の充填が自家骨では不足でハイドロキシアパタイトあるいはβ-リン酸三カルシウムといった人工骨を使用している。人工骨は骨誘導能を持たないため術後骨癒合が得られて日常生活に戻れるまでには長期間を要するため患者の活動性を著しく障害する（例えば大腿骨部の骨腫瘍については術後約 3 ヶ月間の患肢免荷歩行を指導しており、日常生活に及ぼす影響は大きいと考える）。本臨床研究では人工骨に培養骨髄間葉系細胞を付加して骨誘導能を持たせて移植する。この方法は骨欠損部の早期の骨癒合と強度の確立に寄与し、従来の治療法に比して活動性の回復までの期間を短縮できると考える（従来の人工骨移植で 3 ヶ月要していた免荷期間を半分以下に短縮できる可能性がある）。そして単純レントゲン、CT、MRI 画像や骨密度の評価によって培養骨移植法が人工骨単独の移植に対して早い骨形成を起こすことを証明できると考えた。</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<p>被験者等の選定基準</p>	<p>選定基準としては以下（１）～（４）をすべて満たす者とする。</p> <p>（１）上記の良性骨腫瘍および腫瘍様病変を四肢長管骨に認める。</p> <p>（２）CT画像上腫瘍の最大横径（髄内占拠率）が50%以上かつ皮質骨の菲薄化（健側と比べて1/2以下）を認める。さらに腫瘍の縦径は罹患骨の健常横径を超えている。</p> <p>（３）病的骨折があるかまたは病変の増大傾向を認める。</p> <p>（４）13歳以上65歳以下。</p> <p>被験者においては事前に感染症、ウイルス、細菌、真菌などの感染がないことを確認し、抗生物質によるアレルギー歴もないことを確認する。13歳から19歳までの対象者については両親あるいは親権者を代諾者としてインフォームド・コンセントを得る（被験者に対してもインフォームド・アセントを得る）。20歳以上については知的障害者、精神疾患を有する者など同意能力に問題があると考えられる場合は本臨床研究の対象としない。</p>
<p>臨床研究に用いるヒト幹細胞</p>	
<p>種類</p>	<p>骨髄間葉系幹細胞</p>
<p>由来</p>	<p>自己・非自己・株化細胞 生体由来 死体由来</p>
<p>採取、調整、移植又は投与の方法</p>	<p>添付書類（以下）参照</p> <p>（１）採取：自己骨髄細胞採取マニュアル</p> <p>（２）調整：培養骨製品標準書・骨組織培養指図記録書</p> <p>（３）移植：再生人工骨移植マニュアル</p>
<p>調整（加工）行程</p>	<p>有</p>
<p>非自己由来材料使用</p>	<p>有 動物種（ブタ（ヘパリン））</p>
<p>複数機関での実施</p>	<p>無</p>
<p>他の医療機関への授与・販売</p>	<p>無</p>
<p>安全性についての評価</p>	<p>細胞の培養・調整を行う信州大学医学部附属病院先端細胞治療センターはGMPに準拠した施設であり「汚染防止」、「人為的ミス」、「品質保証」を遵守している（添付書類【信州大学医学部附属病院 先端細胞治療センターがGMPに準拠している根拠】参照）。</p> <p>また培養調整段階では形態観察、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行い（詳細は再生培養骨搭載人工骨標準書 -25頁のうちの23、24頁-8. 構成部品、細胞培養用物質、中間製品、製品の試験検査方法、試験検査手順、合否判定基準、試験検査に用いる装置、設備、器具、および試験検査環境の項を参照）、感染症の否定や細胞の形態変化、生存率のチェックをおこなう。</p> <p>被験者に対しては移植手術後には通常の手術の術後と同様に全身状態のチェックを綿密におこなうとともに、血液・生化学検査を術後</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>翌日、1週、2週、3週、2ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、1年（以後1年毎）を目安におこない感染症の有無などをチェックする。また定期レントゲン、CT、MRI 検査（臨床研究の実施計画（4）術後評価の項参照）を通して移植部位に異常がないかどうかを確認する。</p>
<p>臨床研究の実施が可能であると判断した理由</p>	<p>文献 7 “連通多孔体ハイドロキシアパタイトと骨髄間葉系細胞を用いた骨再生”（別冊整形外科 47:7-11, 2005）では培養人工骨をラットの皮下に移植することによる異所性骨形成の実験系で、本来ハイドロキシアパタイト（HA）のみでは骨形成が起こらないところで培養骨は組織学的に骨形成を生じており、さらに培養骨では骨芽細胞の分化マーカーであるアルカリフォスファターゼやオステオカルシンの活性が上昇しており、付加した培養骨髄間葉系細胞が骨形成細胞に分化し人工骨内に骨形成を誘導することを証明している。さらにこの論文ではマイクロCTでアパタイト内の新生骨の分布を確認、証明している。また文献 8 “Bone formation using novel interconnected porous calcium hydroxyapatite ceramic hybridized with cultured marrow stromal stem cells derived from Green rat.”（J Biomed Mater Res A. 2004 Jun 1;69(3):454-61.）でもラットの脛骨骨欠損部への骨移植に関して、HA 単独よりも HA に培養骨髄間葉系細胞を付加した人工骨の方が早期に骨形成が起こっていたことが示された。さらに文献 9 “Hydroxyapatite ceramics as a carrier of gene-transduced bone marrow cells”（J Orthop Sci. 2002;7(6):677-82.）では LacZ を組み込んだ培養骨髄間葉系細胞を HA に付加してラット皮下に移植する実験系で培養骨の骨形成に関与した骨芽細胞や骨細胞は培養付加した骨髄間葉系細胞由来であることが証明されている。以上より培養骨髄間葉系細胞を付加した人工骨は付加した細胞が骨形成細胞に分化することによって骨誘導能を持ち、さらに人工骨単独の移植より早期に骨形成（骨癒合）が起こることが動物実験で証明されている。さらに文献 10 “Analysis of gene expression in osteogenic cultured marrow/hydroxyapatite construct implanted at ectopic sites: a comparison with the osteogenic ability of cancellous bone.”（J Biomed Mater Res. 1998 Sep 15;41(4):568-73.）では HA と培養骨髄間葉系細胞を共培養したものをラットの皮下に移植し骨形成を誘発させたものと新鮮海綿骨とで比較し、両者から抽出した RNA を用いてアルカリフォスファターゼ（ALP）とオステオカルシン（OC）の mRNA の発現を northern blotting で定量化している。これによると培養人工骨では移植後 2 週間で新鮮海綿骨に匹敵する ALP、OC 発現がみられ、培養骨は移植後早期に海綿骨と同様の骨形成能を持つことが示された。これと前述の文献 1～3 をあわせると培養骨髄間葉系細胞を付加した人工骨移植は自家骨移植に匹敵する骨移植法であると考えられ、また既に文献 11 “Tissue engineering approach to the treatment of bone tumors: three cases of cultured bone grafts derived from</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>patients' mesenchymal stem cells. ” (Artif Organs. 2006 Feb;30(2):115-8.)でヒトの良性骨腫瘍切除後の欠損部に培養骨髄間葉系細胞付加人工骨を移植し CT 画像上早期の骨癒合が示されていることからこの方法は侵襲が大きく採取量が制限される自家骨移植に代わる有効な骨移植法になりうると考える。</p> <p>一方で本臨床研究を遂行する上で必要な環境は GMP 準拠した当院先端細胞治療センター (CPC) を既に開設しており、手技的な部分は CPC 開設前に当院で行ってきた軟骨再生の臨床研究で培養を委託していた産業技術総合研究所 セルエンジニアリング研究部門 (既に同様の骨再生の臨床応用を行っている施設) の協力を得て研究遂行の準備はできている。</p> <p>以上のことから本臨床研究は実施可能と考える。</p> <p>(文献)</p> <p>7. 西川昌孝、名井陽、大串始、池内正子、玉井宣行、吉川秀樹：連通多孔体ハイドロキシアパタイトと骨髄間葉系細胞を用いた骨再生 別冊整形外科 47:7-11, 2005.</p> <p>8. Ito Y, Tanaka N, Fujimoto Y, Yasunaga Y, Ishida O, Agung M, Ochi M : Bone formation using novel interconnected porous calcium hydroxyapatite ceramic hybridized with cultured marrow stromal stem cells derived from Green rat. J Biomed Mater Res A 69(3):454-61, 2004.</p> <p>9. Akahane M, Ohgushi H, Kuriyama S, Akahane T, Takakura Y: Hydroxyapatite ceramics as a carrier of gene-transduced bone marrow cells. J Orthop Sci 7(6):677-82, 2002.</p> <p>10. Yoshikawa T, Ohgushi H, Akahane M, Tamai S, Ichijima K : Analysis of gene expression in osteogenic cultured marrow/hydroxyapatite construct implanted at ectopic sites: a comparison with the osteogenic ability of cancellous bone. J Biomed Mater Res 41(4):568-73, 1998.</p> <p>11. Morishita T, Honoki K, Ohgushi H, Kotobuki N, Matsushima A, Takakura Y: Tissue engineering approach to the treatment of bone tumors: three cases of cultured bone grafts derived from patients' mesenchymal stem cells. Artif Organs 30(2):115-8, 2006.</p>
臨床研究の実施計画	<p>当施設においては今回対象としている良性骨腫瘍病変に対して病巣搔爬、人工骨充填手術を年間約 10 例 (2006 年度は 11 例) 行っているため対象症例数はこの 1/3 の症例で同意が得られると仮定して年間 3-4 例、3 年間で 10 例を目標にして評価をおこなう。</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p><実施計画></p> <p>(1) 骨髓血採取 (2) 幹細胞の培養・調整 (3) 再生人工骨の移植（手術） (4) 術後評価</p> <p>の各段階に分けて記載する。</p> <p>(1) <u>骨髓血採取</u> 添付書類（自己骨髓細胞採取マニュアル）参照</p> <p>(2) <u>幹細胞の培養・調整</u> 添付書類（培養骨製品標準書）参照</p> <p>(3) <u>再生人工骨の移植（手術）</u> 添付書類（再生骨移植マニュアル）参照</p> <p>(4) <u>術後評価</u> 単純レントゲン、CT 検査、移植部骨密度検査、MRI 検査で骨癒合（骨形成）の状況进行评估する。 （評価方法） ①CT：横断面で移植部の CT 値／断面積を求め各スライスごとの CT 値総和を体積で割った値を求めて骨形成进行评估する。 ②骨密度（DEXA）：移植部に ROI を設定して骨密度の変化进行评估する。 ③MRI（造影）：骨移植部の血流再開の程度（造影領域）を見ることで骨形成进行评估する。</p> <p>単純レントゲン検査：術後 1・3・6 週、2・3・6・9 ヶ月、1 年で撮影。1 年から 5 年は 6 ヶ月毎、5 年から 10 年は 1 年毎に撮影する。</p> <p>CT 検査：術後 1・3・6 週、3・6 ヶ月、1 年、以後 1 年毎に 10 年まで撮影する。</p> <p>骨密度検査（移植部）：術後 3・6 週、3・6 ヶ月、1 年、以後 1 年毎に 10 年まで撮影する。</p> <p>MRI 検査：術後 3・6 週、3・6 ヶ月、1 年、以後 1 年毎に 10 年まで撮影する。</p> <p><エンドポイント></p> <p>(1) 術後 1 週、3 週、6 週、3 ヶ月、1 年における移植部の骨量</p> <p>①CT 横断面で移植部の CT 値／断面積を求め各スライスごとの CT 値総和を体積で割った値を求めて骨形成进行评估する。</p>
--	---

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>②移植部に ROI を設定して局所の骨密度 (DEXA) を評価する。</p> <p>(2) 術後 1 週、3 週、6 週、3 ヶ月、1 年における移植部の血流再開領域</p> <p>①造影 MRI で骨移植部の血流再開の程度 (造影領域) を評価する。</p> <p><解析方法></p> <p>(1) 術後 3 週、6 週、3 ヶ月、1 年における移植部の骨量 (CT、DEXA それぞれ) を術後 1 週の値で割り、術後 1 週の骨量に対する変化率を求める。</p> <p>(2) 造影 MRI 画像における血流再開領域の評価は同一スライスで経時的に造影領域を定性的に評価する。</p> <p><有害事象について></p> <p>有害事象とは、本臨床研究との因果関係の有無に関わらず期間中に被験者に生じたあらゆる好ましくない、あるいは意図しない徴候、症状、または病気と定義する。</p> <p>また臨床研究期間中に観察された有害事象のうち、以下のいずれかに相当するものは重篤な有害事象と定義する。</p> <ol style="list-style-type: none">1. 死亡にいたるもの2. 生命を脅かすもの3. 治療のため入院または入院期間の延長が必要なもの4. 永続的または顕著な障害／機能不全に陥るもの5. 次世代に影響が及ぶと思われるもの <p>逸脱症例について下記の状況が生じた場合と定義する</p> <ol style="list-style-type: none">1. 被験者または代諾者の不参加表明2. 有害事象が生じたとき3. 培養中の感染等培養過程での事故 <p>逸脱症例について、上記 2 の場合には起きた有害事象に対して速やかに適切な治療をおこなう。1、3 (2 の治療後) の場合はインフォームド・コンセントを得て一般的な治療法 (自家骨移植あるいは人工骨移植) で治療を進めるかどうかを確認する。</p>
被験者等に関するインフォームド	・コンセント

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<p>手続</p>	<p>整形外科内での症例検討会にて本研究の適応と診断された場合に別紙の説明文書に基づき術者が患者・家族に対して説明を行い、別紙の同意書を対象患者本人から得た後に手術を施行する。なお、本臨床研究の実施に際してはインフォームド・コンセントを（１）臨床研究への登録時、（２）骨髓血採取時、（３）移植手術前の計３回おこなう。</p>
<p>説明事項 (被験者の受ける利益と不利益を含む。)</p>	<p>別添“ヒト幹細胞臨床研究に関する説明文書”に沿って説明する。</p> <ol style="list-style-type: none"> ① 当該臨床研究の目的、意義 ② 研究の方法 ③ 当該研究を実施する機関名 ④ 予期される研究の効果 ⑤ この研究への参加に伴い予期される危険または不快な状態 ⑥ 他の治療法の有無、内容、当該治療法により予期される効果及び危険性並びにそれらの治療法との比較 ⑦ 研究の参加への任意性と同意後に随時同意を撤回できること ⑧ 健康被害に対する補償の有無 ⑨ 個人情報の取り扱い ⑩ 研究のための費用 ⑪ 研究成果の公表 ⑫ 知的財産権の帰属 ⑬ 研究者名 ⑭ 問い合わせ・苦情の連絡先 ⑮ 13歳～19歳の未成年者のエントリーに際しては、代諾者のインフォームド・コンセントを得る。さらに未成年者本人に理解できる説明書を作成し、未成年者本人のインフォームド・アセントを得る。 <p>(添付書類：インフォームド・アセント（骨）参照)</p>
<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</p>	
<p>研究が必要不可欠である理由</p>	<p>本研究の対照疾患のうち、内軟骨腫、非骨化性線維腫、単発性骨嚢腫、線維性骨異形性症などの良性骨腫瘍（および腫瘍様病変）においては好発年齢が10歳台である。また骨巨細胞腫は15歳～40歳に発症する。したがって本研究の対象疾患を罹患している患者のほとんどは未成年である。未成年者が本疾患に罹患した場合、病巣の掻爬後に自家骨あるいは人工骨の移植を必要とする。しかし、これらの良性腫瘍の多くは、大腿骨あるいは下腿骨に発生するため、掻爬移植部の強度が健常骨と同程度まで得られるまでは、骨折の危険性があるために健全な学校生活と家庭生活を送ることが出来ない。本研究により、移植骨採取をなくすことは骨盤の発育障害や、採取部の疼痛や感覚障害発生の問題を解決する。また短期間の骨癒合が期待されることから、人格形成あるいは学業習熟に貴重な10歳台の治療期間を安全に短縮することは極めて意義のあることである。</p> <p>本研究は法的に無能力な未成年者を対象とせざるを得ないが、小学生以下の児童においては本臨床研究参画の理解を得ることには無理</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

		い健康被害などの有害事象が発生した場合は医療費等について信州大学医学部附属病院校費による補償を提供する。しかし、この試験に伴う有害事象による休業補償や後遺障害に対する補償、差額ベッド料金の補填、医療手当て、その他の補償はおこなわない。
個人情報保護の方法		
	連結可能匿名化の方法	診療に関しては匿名化しない。 培養細胞および保存される細胞については個人情報を削除して新しく符号をつける（SOP「B1-04 ID及びロット構成に関する手順書」参照）。個人情報保護および検体取り違い防止のために、個人とこの符号を結びつける対応表は個人情報管理者のもとで厳重に管理する。 個人情報管理者は山内一由（信州大学医学部附属病院臨床検査部技師長）とし、対応表の管理方法については他のコンピュータと切り離されたコンピュータを使用し、外部記憶媒体に記録させ、その記憶媒体は、鍵をかけて厳重に保管することとする。
	その他	試験に関わる関係者は個人情報の取り扱いに十分配慮し、外部に漏れないよう厳重に管理をおこなう（SOP「D1-03 個人情報の保護に関する手順書」参照）。この研究で得られた成果を発表する場合には、研究に参加していただいた方のプライバシーに慎重に配慮し、個人を特定できる情報が公表されないようにする。
その他必要な事項		<p><u>＜ヒト幹細胞臨床研究にかかる研究資金の調達方法＞</u></p> <p>本臨床研究にかかる費用については文部科学省科学研究費補助金・奨学寄附金および病院校費（大学運営資金）から支出される。</p> <p><u>＜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＞</u></p> <p>培養骨髄間葉系細胞と人工骨を組み合わせて作製した再生培養骨の臨床応用は産業技術総合研究所および奈良県立医科大学において世界に先駆けてその技術が確立され、臨床応用が始まっている。またその流れを汲んで大阪大学で骨腫瘍への臨床応用も行われているので本臨床研究の発想や手技に関して新規性はない。しかし現在までのところでは骨腫瘍治療に関する臨床応用の報告例は少数にすぎず、適応症例自体が少ないという骨腫瘍症例の性格上、多施設での症例の積み重ねが必要である。</p> <p>（他施設の現状）</p> <p><u>＜産業技術総合研究所＞</u></p> <p>骨髄間葉系細胞の培養移植に関する臨床応用を世界に先駆けて開始した施設で、再生培養骨搭載人工関節（主に足）、骨腫瘍掻爬後の欠損部に対する再生培養骨搭載人工骨移植、培養骨髄間葉系細胞移植による軟骨欠損修復（当院との共同研究）、培養骨髄間葉系細胞移植による心筋・血管再生を行って</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>いる（全体で約 60 症例）。</p> <p><奈良県立医科大学附属病院></p> <p>主に再生培養骨搭載人工足関節の臨床応用（産総研で培養した症例も合わせて約 35 例）をおこなっていて、その他骨腫瘍掻爬後の欠損部に対する再生培養骨搭載人工骨移植や大腿骨頭壊死の骨温存手術への臨床応用も少数おこなっている。</p> <p><大阪大学附属病院等></p> <p>主に骨腫瘍掻爬後の骨欠損に対して再生培養骨搭載人工骨移植の臨床研究をおこなっている（現在報告されているものは数例）。</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）

- 研究者の略歴及び研究業績
- 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況
- 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
- 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況
- 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
- 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
- その他（資料内容：自己骨髄細胞採取マニュアル ）
- その他（資料内容：再生人工骨移植マニュアル ）
- その他（資料内容：SOP ）
- その他（資料内容：インフォームド・アセント文書「臨床研究の参加にあたって」 ）

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成19年11月14日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	東京都新宿区信濃町35番(郵便番号160-8582)
	名称	慶應義塾大学医学部 03-3353-1211(電話番号) 03-3353-3034(FAX番号)
	研究機関の長 役職名・氏名	慶應義塾大学医学部 医学部長 末松 誠



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
重症心不全患者への外科的治療に付随して行う、自己骨髄由来間葉系細胞を用いた細胞移植に関する臨床研究	慶應義塾大学医学部外科 (心臓血管)・教授 四津 良平 

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	重症心不全患者への外科的治療に付随して行う、自己骨髄由来間葉系細胞を用いた細胞移植に関する臨床研究
申請年月日	平成 19 年 11 月 14 日
実施施設及び 総括責任者	実施施設：慶應義塾大学医学部 総括責任者：四津 良平
対象疾患	冠動脈バイパス術及び左室形成心臓外科手術施行予定の重症心不全患者
ヒト幹細胞の種類	(自己) 骨髄間葉系幹細胞
実施期間及び 対象症例数	2 年間 20 歳から 79 歳までの 5 症例
治療研究の概要	冠動脈バイパス術や左室形成術などの心臓外科手術が必要な重症心不全患者に対して、自己骨髄より採取し培養した間葉系幹細胞の浮遊液を、心臓手術時に直視下に心筋内に注入し、安全性とともに手術によって得られると予想される心機能改善効果に付加的な改善効果が認められるかを、historical control との比較により確認する。
その他（外国での状況等）	心臓への骨髄間葉系幹細胞 (MSC) 移植は、中国で経冠動脈投与による 70 例弱の臨床例があるが、動脈塞栓の危険性により現在は心筋への直接注入が主流。特殊なカテーテルを用いて心臓内から心筋へ細胞を注入する大規模臨床試験が米国で進行中であり、本邦でも国立循環器病センターが同様の手法による臨床研究を行っている。開胸手術時に直視下に針を用いて心筋内へ細胞を注入する方法での臨床例は、2001 年に Lancet での報告がある。
新規性について	開胸術時に MSC を心筋に直接注入する方法は、前述の Lancet による報告の他、大阪大学でも骨髄由来 CD133 陽性細胞移植の臨床研究開始が予定されている。今研究は培養した MSC 移植を左室形成術にも適用する点で新規性を認め、また慶應義塾大学医学部での初めての幹細胞臨床研究であることから審議の必要性を認める。

(別紙)

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究 の名称	重症心不全患者への外科的治療に付随して行う、自己骨髄由来間葉系細胞を用いた細胞移植に関する臨床研究		
研究機関			
名称	慶應義塾大学医学部		
所在地	〒 160-8582 東京都新宿区信濃町35番		
電話番号	03-3353-1211		
FAX 番号	03-5379-3034		
研究機関の長			
役職	慶應義塾大学医学部長		
氏名	末松 誠		印
研究責任者			
所属	慶應義塾大学医学部外科 (心臓血管)		
役職	教授		
氏名	四津 良平		印
連絡先	Tel:03-3353-3804 Fax: 03-5379-3034		
	E-mail: yozu@sc.itc.keio.ac.jp		
最終学歴	慶應義塾大学医学部卒業		
専攻科目	外科 (心臓血管)		
臨床経験歴	臨床経験歴 34年		
	心臓血管外科専門医・日本外科学会指導医・日本胸部外科学会指導医		
その他の研究者	※別紙1参照		
臨床研究の 目的・意義	※別紙2参照		
臨床研究の対象疾患			
名称	冠動脈バイパス術及び左室形成心臓外科手術施行予定の重症心不全患者		
選定理由	※別紙3参照		

被験者等の選定基準	冠動脈バイパス術及び左室形成術の心臓外科手術が予定されている患者のなかで、左室駆出率40%以下の重症心不全患者(NYHA3度以上20才以上79才以下) 除外基準として以下の基準に1つでも該当する症例は除外する。(1, 悪性腫瘍を有する患者 2, 活動性の感染症を有する患者 3, 妊婦または妊娠している可能性のある患者 4, 培養中に使用する抗生物質にアレルギーを有する患者 5, その他、担当医師が不適当と判断した患者)
-----------	---

臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	自己骨髄間葉系幹細胞
由来	自己 生体由来
採取、調製、移植又は投与の方法	腸骨より15ccの骨髄液を採取、自己血清を用いて、培養増殖。4週間以内の培養で細胞数を30,000,000～100,000,000程度まで増殖させた後回収、生理食塩水細胞浮遊液を、心臓外科手術時に直視下に心筋内に直接注入する。 詳細は ※別紙4参照
調整(加工)行程	有り
非自己由来材料使用	無し
複数機関での実施	無し
他の医療機関への授与・販売	無し
安全性についての評価	※別紙5参照
臨床研究の実施が可能であると判断した理由	※別紙6参照
臨床研究の実施計画	※別紙7参照
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	責任医師は、慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認を得た、臨床試験説明文章を作製する。被験者およびその家族に対して、同説明文を用いて説明を行い、十分な時間的猶予を与えた上で、被験者の自由意志による文書同意を取得する
説明事項 (被験者の受ける利益と不利益を含む。)	※別紙8参照
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	該当しない
代諾者の選定方針	
被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法	※別紙9参照

臨床研究終了後の追跡調査の方法	慶應義塾大学医学部附属病院外来にて定期的に経過観察する。
臨床研究に伴う補償	
補償の有無	有 <input type="radio"/> 無 <input checked="" type="radio"/>
補償が有る場合、その内容	
個人情報保護の方法	
連結可能匿名化の方法	採取された検体は、符号化され、患者情報の照合は、本試験とは直接関係の無い個人情報管理者が行う事とする。
その他	
その他必要な事項（細則を確認してください）	※別紙10参照

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○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）

- 研究者の略歴及び研究業績
- 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況
- 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
- 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況

■ 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

■ 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

その他（資料内容：)

その他（資料内容：)

その他（資料内容)

目次

別紙1【その他の研究者】.....	7
別紙2【臨床研究の目的・意義】.....	13
別紙3【臨床研究の対象疾患・選定理由】.....	14
別紙4【臨床研究に用いるヒト幹細胞、採取、調整、移植又は投与の方法】.....	15
別紙5【安全性についての評価】.....	16
別紙6【臨床研究の実施が可能であると判断した理由】.....	17
別紙7【臨床研究の実施計画】.....	24
別紙8【被験者に関するインフォームドコンセント】.....	29
別紙9【被験者に対して重大な事態が生じた場合の対処方法】.....	32
別紙10【その他必要な事項】.....	35
添付書類1【研究者の略歴及び研究業績】.....	36
添付書類2【研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況】.....	36
添付書類3【臨床研究に用いるヒト幹細胞の品質に関する研究成果】.....	36
添付書類4【同様のヒト幹細胞研究に関する内外の研究状況】.....	36
添付書類5【臨床研究の概要を出来るだけ平易な用語を用いて記載した要旨】.....	39
添付書類6【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】.....	40
添付書類7【倫理審査委員会資料】.....	46
添付書類7【慶應義塾学内倫理委員会審査資料】.....	51

別紙2【臨床研究の目的・意義】

現在、欧米諸国と同様、我が国においても虚血性心不全をはじめとした重症心不全患者の数は増加の一途をたどっている。通常の内科的あるいは外科的治療で生命を維持することができなくなった場合の選択枝として、心臓移植および人工心臓治療がある。しかし、心臓移植が必要な重症心不全患者のほとんどは、移植ドナーが見つかる前に死亡しているのが現状であり、ドナー不足は万国共通の社会問題となっている。

その点を改善する目的で近年、細胞移植が注目されている。細胞移植とは、従来の臓器そのものを移植する臓器移植とは異なり、生体外で培養・分化誘導された細胞を目的の組織に直接注入するという細胞レベルでの臓器機能の補填を目指している。この方法は生体心移植と比較しても、自己細胞を用いるため免疫抑制剤を使用する必要が無く、長期にわたる免疫抑制剤の使用による合併症も生じない。

臨床研究で心筋に対する骨髄単核球細胞治療の安全性と有効性は確認されている（臨床研究の実施が可能であると判断した理由に記載）。また骨髄由来間葉系細胞を用いた細胞治療は少数例で有効性と安全性の報告があるが、いまだ確立された治療法ではない（臨床研究の実施が可能であると判断した理由に記載）。また、本邦での実績は数少ない。冠動脈の動脈硬化によって生じた冠動脈疾患で心筋が広範囲に壊死したか虚血に陥り、心機能の重篤な低下を来した患者を虚血性心疾患に伴う重症心不全患者と呼ぶ。当該疾患への既存の治療法は、冠動脈バイパス術あるいは左室形成術である。しかし同手術は、十分な残存心筋及びバイパス血管を接続可能な冠動脈（十分な口径が保たれ、かつ瀰漫性の病変ではない）が存在している事が適応条件である。この条件を満たさなくては、手術によって予想される自覚症状及び生存率改善の利得が、手術侵襲による不利益を上回る事が無いと判断される。すなわち適応外の患者は、心不全に起因する呼吸困難による重篤な苦痛を味わいながら、ただ死を待つしか無い。

この治療法の効果と安全性を本邦において確認し（パイロット研究に相当）、確立された手技とする必要がある。すなわち本研究のエンドポイントは当該治療法の安全性を検討するとともに、従来の外科的手術に付加的に治療を行う事によって、手術によって得られると予想される心機能改善効果に付加的な改善効果が認められるかどうかを、少数例で確認する事にある（当施設内ヒストリカルコントロールとの比較）。少数例で安全に治療が施行でき、十分付加的効果が予想出来れば、多数例でのプラセボを用いた盲検試験で有効性を検証する臨床試験を計画する。それにより、移植が行われなければ余命の無いと予想される、数多くの重症心不全患者の症状を緩和し寿命を延長することが出来る可能性がある。

別紙3【臨床研究の対象疾患・選定理由】

冠動脈バイパス術及び左室形成術の適応患者は、冠動脈疾患に伴う重症心不全患者である。今回行われる自己骨髄間葉系幹細胞治療は、移植した幹細胞が心筋に分化し、心筋細胞を補填する事を期待して行われる。しかし同時に後述するごとく（臨床研究が実施可能であると判断した理由）、移植した細胞によって局所の血管新生を生じる事により虚血が改善する事と、移植した細胞から分泌される液性因子によって、局所のホスト心筋細胞の細胞死を防ぐ効果が証明されている。そのため冠動脈疾患に伴う重症心不全患者に対して、より高い治療効果が期待できる。

幹細胞を心筋に移植する際、心臓カテーテル操作によって、外科的手術には随伴せず、心臓内腔あるいは冠動脈内投与を行う方法があり、開胸して目視下に細胞を注入する方法と比較して、一見侵襲が少ない事が想定される。しかし、後述するごとく（臨床研究が実施可能であると判断した理由）、目視下に細胞を注入する方法が、細胞移植手技だけを考えた場合（心臓局所までのアプローチを除き）、最も確実で安全な手技であると考えられる。そのため本研究では、冠動脈バイパス手術及び左室形成術の心臓外科手術が予定されている患者に、手術中に目視にて細胞を直接心筋内へ注入する方法を対象とした。

別紙4【臨床研究に用いるヒト幹細胞、採取、調整、移植又は投与の方法】

腸骨より15ccの骨髄液を採取、自己血清を用いて、培養増殖。4週間以内の培養で細胞数を30,000,000～100,000,000程度まで増殖させた後回収、生理食塩水細胞浮遊液を、心臓外科手術時に直視下に心筋内に直接注入する。

自己骨髄液採取

1. 骨髄採取場所は、無菌操作が可能な手術室かそれに準ずる場所（採血室）で施行する。患者の全身状態により病床からの移動が困難と主治医が判断した場合、集中治療室にて無菌的に施行する。
2. 患者を腹臥位とし、腸骨部分を露出する。
人工補助循環装置、スワングアンツカテーテルが大腿部に装着されている場合は、チューブ類が閉塞しない様配慮する。
3. イソジン消毒を行う。
4. Cardinal health社 Illinois Bone Marrow Needle (DIN 1515x)を用いて、腸骨より骨髄液15ccを無菌的に採取する。

調整方法

調整方法は、添付した細胞手順書（添付資料1）に従う。

移植方法

1. 回収された細胞を生理食塩水にて4mLに浮遊させる
 2. 0.2mLづつを1mLのシリンジに吸引し合計20本の細胞浮遊液シリンジを作製し、27ゲージの針を装着し、混入した空気を取り除く
 3. 心臓外科手術中に直視下に心筋梗塞部および心筋梗塞周辺部に5mm以上の間隔を開けて、細胞浮遊液シリンジに装着した針を刺入
 4. 軽く陰圧をかけてバックフローを確かめ、心筋内に針の先端が刺入している事を確認する
 5. その後一カ所5～10秒で細胞を注入し、注入後も組織内圧が低下するまで10秒程度待って針を抜く
- 3～5の操作を合計20回繰り返す

別紙5【安全性についての評価】

1 **臨床試験に用いる試料の安全性**

今回、細胞培養を担当する慶應義塾大学医学部では、自己骨髄と自己血清を用いて間葉系細胞の培養を安全に行える設備ならびに経験を有しており、すでに間葉系細胞の培養増殖に成功している（倫理委員会受付番号 49 平成 15 年 11 月 5 日承認）。また、間葉系細胞を用いた臨床応用（倫理委員会受付番号 145 平成 17 年 7 月 28 日承認）を行っていて、既に 2 例の患者の骨髄から間葉系細胞の培養増殖に成功している。培養は「細胞培養操作手順書（添付書類 1）」に則り、この培養期間中の真菌ならびにマイコプラズマによる汚染は認められていない。また、これらの患者培養細胞の同一患者への移植も行っており、感染の副作用をおこさず、良好な治療効果を得ている。

本研究では GMP 基準にのっとり、細胞培養を実行することによって細菌、真菌、ウイルスの感染を排除するよう配慮する。また本研究ではすべて自己細胞を用いるために、未知の病原体による感染の可能性はきわめて低くなるよう配慮している。また培養中の病原体の検査を移植直前にいき、予想外の病原体感染を極力抑える。

- 1.1 原料となるヒト幹細胞の受け入れ時に細胞の感染状況を確認し、記録する。
- 1.2 細胞調整はすべてクリーンルーム内で行い、閉鎖系培養器具を用いて、不慮の外來病原体の感染を防止する。
- 1.3 細胞培養中定期的に（1 週間毎）培地の一部を採取し、病原体の混入の有無を確認する。
- 1.4 本研究では、血清に自己血清を用いるために、不活化は必要なく、血清を介して感染を引き起こす種々のウイルス・プリオンによる汚染の可能性はない。
- 1.5 移植後にシリンジ内に残留した細胞浮遊液を（シリンジ 3 本）、保存培養し病原体の有無を確認する。

2 **臨床研究実施後の安全性確保**

- 2.1 本試験は安全性の評価を目的としている。そのため別紙 7【臨床研究の実施計画】内に詳細を記載した。
- 2.2 細胞移植後の被験者の安全確保は 別紙 7【臨床研究の実施計画】内 項目 8（検査項目）より項目 1 1（臨床試験の中止）までに記載した。
- 2.3 細胞移植後の細胞調整に関する安全確保に付いては、別紙 7【臨床研究の実施計画】内 項目 4（細胞の保存）に記載した。

別紙6【臨床研究の実施が可能であると判断した理由】

催不整脈作用

骨髄間葉系幹細胞から得られた心筋細胞は未熟で、in vitro 培養条件下で観察すると、誘導初期に限ってしばしば活動電位で再分極異常を認める場合がある(1,2)。しかし、成熟するにつれて活動電位は成熟し、不安定な再分極現象は消失する(1,2)。またヒト骨髄間葉系幹細胞はその心筋への分化誘導効率が現在の培養方法では少なくとも0.3%と低く(3)、再生した心筋細胞自体の量が圧倒的に少ない事が予想され、それらが強固にホスト心筋とギャップ結合を示す事から、再分極は電気緊張の現象によって早期に安定化すると予想出来る(1-2)。また一般的に培養で用いられる培養液は、血清が大量に混入している事が知られている。血清は血小板が脱顆粒して放出された多くの成長因子が含まれている事が知られており、これらが心筋細胞の電気生理学的特性を変化させている事が考えられる。我々の検証でも、血清無しの培養液で培養すると、活動電位静止膜電位が明瞭に深くなり、より成熟した心室筋様活動電位を呈する様になる(図1)。つまり in vitro で長期間培養した心筋細胞の電気生理学的特性から、移植した細胞の催不整脈性を議論する事は(4)危険であると思われる。また間葉系細胞の移植によって、ホスト側心筋に対して血管新生やアポトーシス抑制といった良好な反応が生じ(5-7)、ホスト心筋内の電氣的不均一性を解消する事により、総合的には不整脈を生じない方向に働く事が想像出来る。

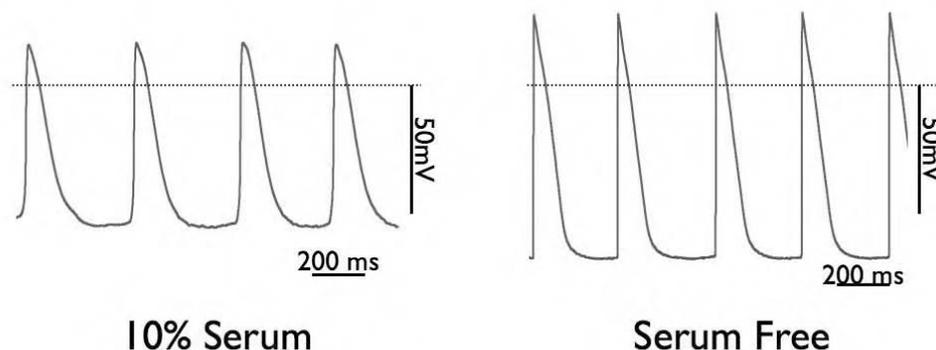
過去の臨床実施例では、症例数は少ないが、骨髄間葉系幹細胞移植で、催不整脈性の報告は無い。(8)

腫瘍形成性

ヒト骨髄間葉系幹細胞を免疫不全動物に移植した際に、移植局所に腫瘍形成性の報告は無い(3)。ただし、今回我々が用いる骨髄間葉系幹細胞は、培養に自己(ヒト)血清を用いるため、正確には同一とは言えない。そこで我々は2006年12月に免疫不全マウス(Nude mouse)に今回用いる骨髄間葉系幹細胞と同じ方法で培養した細胞の、皮下移植を行い、経過を観察しているが2007年3月現在も腫瘍形成を認めていない。今後も経過を観察する予定である。

また臨床患者においては、定期的に心臓画像検査(MRI, CT)を用いて腫瘍形成性の有無を慎重に経過観察してゆく。

(図1)



Serumに長期間暴露された培養再生心筋細胞は決してin situ の電気生理学的特性を反映しない

ヒト骨髄間葉系幹細胞から誘導した心筋細胞、左は一般的に培養で用いられる 10%血清を含む培養液で培養した際に記録される活動電位、右は血清を取り除いた、培養液で観察される再生心筋細胞からの活動電位。

心臓になる可能性のある細胞

再生医療の細胞ソースとして多くの候補がある。しかし、拒絶反応や未知の病原体による感染の危険性が無い自己細胞で、心臓になる事が証明されている細胞ソースは間葉系幹細胞しか無い(3, 9)。そのため自己から簡単に採取出来る骨髄間葉系幹細胞を治療に選択した。

心筋再生以外の良好な影響

骨髄間葉系幹細胞は、血管増殖因子や周囲の細胞に対して液性因子を分泌する事によって保護的な働きをする事が知られている(5-7)。そのため、たとえ移植した細胞が心臓にならなくても、ホストの心筋に対して、血行を改善するあるいはアポトーシスを抑制する事によって、心機能改善効果が期待出来る

動物実験

骨髄間葉系幹細胞を、心筋梗塞モデルに移植する事によって、心機能の改善が動物実験レベルで数多く証明されている。特にヒト心臓と同等の大きさを有しているブタ(10)で、移植によって心機能改善が見られた。

国内外での臨床研究

骨髄単球細胞の臨床研究

主に造血幹細胞が主と考えられる、骨髄由来単球細胞の細胞治療は、国内外で数多く行われ、安全性と良好な結果が既に報告されている(11-18)。しかし造血幹細胞は基礎研究結果から、心臓に分化する可能性が無い事、それと心筋梗塞部位局所に長期間

とどまる細胞数がきわめて少ない事が報告されている(19-20)。また治療に必要な細胞数を得るために、大量の骨髄液採取が必要で、その患者への侵襲が大きい事も問題である。しかし、骨髄の間葉系幹細胞と比べて細胞の大きさが小さく、毛細血管レベルでの塞栓症状を生じにくいのでは無いかと考えられている(21)。そのため骨髄間葉系幹細胞では、単球細胞で行われている細胞移植法とは異なった方法が選択されるべきである(後述)。

骨格筋芽細胞の臨床研究

心筋を補充するために、自己骨格筋芽細胞を移植する試みが、海外では既に行われている(22)。骨格筋芽細胞はほぼ無限に増殖し、ある程度の心機能改善効果が有ると報告されているが、高い確率で、心室性不整脈を生じるとされ(23)、我々の基礎研究においても、骨格筋芽細胞特有の電気生理学的特性が催不整脈作用を生じた可能性が示唆され、必ずしも全ての細胞治療に共通の副作用では無い事が科学的データから考えられる(24)。本治療では、今回我々が選択した、心臓外科手術時に目視下に細胞を注入する方法が選択され、その細胞移植手技のみだけに焦点を当てると、大きな合併症も無い事が証明されている(22, 23)。

骨髄間葉系幹細胞の臨床研究

国内外で既に臨床試験が行われている。論文化されている部分については Chen(8)のみである。しかし、海外では既に大規模臨床試験が進行しており、詳細は未公開では有るが、安全で良好な成績を得ている事が示されている(26)。また本邦でも、国立循環器病センターで、既に8例で施行され、左室駆出率で23.9%から27.8%に改善を認めた事が報告されている。また特に大きな有害事象も出ていない事が、循環器病研究委託事業 16公-6 班会議(2007年1月20日)にて報告があった。しかし移植方法は心内膜側からのカテーテルによる治療で、細胞数を増加させた際に、生じる合併症のリスクは無視できないと想像出来る。当該施設で申請する臨床試験は、あくまでも心臓外科手術に付加する形で行われ、心臓外科手術の治療成績、術後心機能改善増強効果を狙う物で、それによる心臓外科手術適応の拡大を目指す点が異なる。

直視下による細胞移植を選択する理由

間葉系細胞の直径は、骨髄造血幹細胞に比べて大きく、そのまま冠動脈内投与を行うと、毛細血管レベルで閉塞し、多発性小動脈梗塞を生じる(21)。心内膜側からのカテーテルベースでの細胞移植(16)も、手技による侵襲が少ないが、ブラインドで細胞を心筋内に注入するため、心筋内に針先端が入っているかどうかを目視で確認する事が出来ず、針を抜去した後に間葉系細胞が心腔内に逆流して、全身に骨髄間葉系幹細胞が散布され

る可能性がある。これらの細胞は各臓器の毛細血管レベルで塞栓を生じ(21)、臨床問題となるような脳梗塞等の塞栓症状を生じる可能性が否定出来ない。細胞注入を最も安全にそして確実にを行う方法は目視下に心筋を確認しながら局所に注入する方法で、そのためには開胸手術が必要と考え、血行再建術や左室形成術を行う際に同時に移植する方法を選択した。また細胞の局所への注入が目視下に確実に行われ、失われる可能性が低いことから、その治療効果も高い可能性が予想出来る。

(文献)

- 1、三好俊一郎, 小川聡, 板橋裕史, 福田恵一, 谷本耕司郎, 古田晃, 竹田征治, 梅澤明弘, 清水達也, 岡野光夫 心筋再生と電気現象 再生医療における不整脈心電図 24(suppl 3); 15-28, 2004
- 2、S Miyoshi, Y Ikegami, Y Itabashi, A Furuta, A Umezawa, S Ogawa Cardiac cell therapy and arrhythmias, Circulation Journal In press
- 3、Takeda Y, Mori T, Imabayashi H, Kiyono T, Gojo S, Miyoshi S, Hida N, Ita M, Segawa K, Ogawa S, Sakamoto M, Nakamura S, Umezawa A. Can the life span of human marrow stromal cells be prolonged by bmi-1, E6, E7, and/or telomerase without affecting cardiomyogenic differentiation? J Gene Med. 6(8); 833-45, 2004
- 4、Zhang YM, Hartzell C, Narlow M, Dudley SC. Stem cell-derived cardiomyocytes demonstrate arrhythmic potential Circulation 106; 1294-1299, 2002
- 5、Gojo S, Gojo N, Takeda Y, Mori T, Abe H, Kyo S, Hata J, Umezawa A. In vivo cardiovascularogenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem cells. Experimental cell research 288; 51-59, 2003.
- 6、Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, Shou M, Lee CW, Barr S, Fuchs S, Epstein SE Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms Circulation 109; 1543-1549, 2004
- 7、Gnecchi M, He H, Noiseux N, Liang OD, Zhang L, Morello F, Mu H, Melo LG, Pratt RE, Ingwall JS, Dzau VJ. Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. FASEB J 20; 661-669, 2006
- 8、Chen S, Fang W, Ye F, Liu Y, Qian J, Shan S, Zhang J, Chunhua RZ, Liao L, Lin S, Sun J. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients

- with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 94: 92-95, 2004
- 9、 Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, Konishi F, Kodama H, Pan J, Sano M, Takahashi T, Hori S, Abe H, Hata J, Umezawa A and Ogawa S. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest*; **103**: 697-705, 1999
- 10、 Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner WA, Senechal G, Meyers J, Redmond JM, Pittenger MF and Martin BJ. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. *Ann Thorac Surg*; **73**: 1919-1925; discussion 1926, 2002
- 11、 Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kostering M, Hernandez A, Sorg RV, Kogler G and Wernet P. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation*; **106**: 1913-1918, 2002
- 12、 Assmus B, Schachinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Dobert N, Grunwald F, Aicher A, Urbich C, Martin H, Hoelzer D, Dimmeler S and Zeiher AM. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation*; **106**: 3009-3017, 2002
- 13、 Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, Fichtner S, Korte T, Hornig B, Messinger D, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A and Drexler H. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet*; **364**: 141-148, 2004
- 14、 Fernandez-Aviles F, San Roman JA, Garcia-Frade J, Fernandez ME, Penarrubia MJ, de la Fuente L, Gomez-Bueno M, Cantalapiedra A, Fernandez J, Gutierrez O, Sanchez PL, Hernandez C, Sanz R, Garcia-Sancho J and Sanchez A. Experimental and clinical regenerative capability of human bone marrow cells after myocardial infarction. *Circ Res*; **95**: 742-748, 2004
- 15、 Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H, Schumichen C, Nienaber CA, Freund M and Steinhoff G. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet*; **361**: 45-46, 2003
- 16、 Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, Rossi MI, Carvalho AC, Dutra HS, Dohmann HJ, Silva GV, Belem L, Vivacqua R, Rangel FO, Esporcatta R, Geng YJ, Vaughn WK, Assad JA, Mesquita ET and Willerson JT. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe,

- chronic ischemic heart failure. *Circulation*; **107**: 2294-2302, 2003
- 17、 Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL and Lau CP. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet*; **361**: 47-49, 2003
- 18、 Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R, Masaki H, Mori Y, Iba O, Tateishi E, Kosaki A, Shintani S, Murohara T, Imaizumi T and Iwasaka T. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation*; **104**: 1046-1052, 2001
- 19、 Balsam L, Wagers A, Christensen J, Kofidis T, Weissman I and Robbins R. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature*; **428**: 668-673, 2004
- 20、 Murry C, Soonpaa M, Reinecke H, Nakajima H, Nakajima H, Rubart M, Pasumarthi K, Virag J, Bartelmez S, Poppa V, Bradford G, Dowell J, Williams D and Field L. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature*; **428**: 664-668, 2004
- 21、 Vulliamt PR, Greeley M, Halloran SM, MacDonald KA and Kittleson MD. Intra-coronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet*; **363**: 783-784, 2004
- 22、 Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, Pouzet B, Desnos M, Duboc D, Schwartz K, Vilquin JT and Marolleau JP. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet*; **357**: 279-280, 2001
- 23、 Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, Desnos M, Abergel E, Pouzet B, Bel A, Sarateanu S, Scorsin M, Schwartz K, Bruneval P, Benbunan M, Marolleau JP and Duboc D. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*; **41**: 1078-1083, 2003
- 24、 Itabashi Y, Miyoshi S, Yuasa S, Fujita J, Shimizu T, Okano T, Fukuda K and Ogawa S. Analysis of the electrophysiological properties and arrhythmias in directly contacted skeletal and cardiac muscle cell sheets. *Cardiovasc Res*; **67**: 561-570, 2005
- 25、 Chang MG, Tung L, Sekar RB, Chang CY, Cysyk J, Dong P, Marban E and Abraham

MR. Proarrhythmic potential of mesenchymal stem cell transplantation revealed in an in vitro coculture model. *Circulation*; **113**: 1832-1841, 2006

26、 Minguell JJ and Erices A. Mesenchymal stem cells and the treatment of cardiac disease. *Exp Biol Med (Maywood)*; **231**: 39-49, 2006

別紙 7 【臨床研究の実施計画】

1 臨床試験に用いる試料

自己間葉系細胞

- 1.1 間葉系細胞は自己の骨髄液（15mL）と自己の血液（約 400～600mL）からの血清を用いて、接着系の細胞を培養することにより増殖する。自己細胞を用いるため免疫学的問題が無く、細胞移植時の拒絶反応を避けることができる。
- 1.2 用いる培地は DMEM で抗生物質（penicillin, streptomycin, Amphotericin-B）を添加し、他の成長因子は用いない。また、抗生物質は培地交換時に除去するため最終的には用いない。
- 1.3 この接着系の細胞が間葉系細胞としての性質を持つことは細胞表面抗原の分析により確認している。

2 臨床試験の計画

2.1 臨床試験の対象

- 2.1.1 虚血性心疾患・心筋症により、呼吸困難・胸痛・下腿浮腫を呈し、従来のβ阻害薬・ACE阻害薬・アンギオテンシン阻害薬・Ca拮抗薬・硝酸薬・利尿剤投与による治療下でも、左室駆出率 40%以下の重症心不全患者(NYHA3 度以上)
- 2.1.2 患者本人の意思および家族の十分な理解承諾が明示されていること。
- 2.1.3 患者本人から文書による同意が得られること。
- 2.1.4 原則として同意取得時の満年齢が 20 才以上 79 才以下であること。
- 2.1.5 術前の検査にて、付随して行う手術治療による効果が不十分となる可能性が高い症例（残存心筋が少ないと予想される場合、バイパス吻合先血管のびまん性動脈硬化）
- 2.1.6 心臓外科手術が予定されている患者

上記に対して、外部審査委員 1 名を含めた、当院呼吸循環器内科・心臓血管外科・血液内科による患者選定委員会を招集し、委員の同意を得られた症例を対象とする。

2.2 除外基準として、以下の基準に 1 つでも該当する症例は除外する。

- 2.2.1 悪性腫瘍を有する患者（頭部造影 CT 検査あるいは MRI 検査、胸部・腹部造影 CT 検査、腹部エコー検査を施行する。患者の全身状態が許せば、上部消化管内視鏡、下部消化管内視鏡の施行が望ましい）

- 2.2.2 増殖糖尿病網膜症（未治療の増殖網膜症、中期・晩期増殖網膜症）を有するもの（治療終了例は除く。）
- 2.2.3 合併症により余命が数ヶ月以内と考えられる患者
- 2.2.4 過去数ヶ月以内にアルコールもしくは薬物依存性の既往がある患者
- 2.2.5 インフォームドコンセントを得られない患者
- 2.2.6 活動性の感染症を有する患者
- 2.2.7 妊婦または妊娠している可能性のある患者
- 2.2.8 培養中に使用する抗生物質に対してアレルギーの既往について、検査直前に確認を行い、当抗生物質に対してアレルギーのある患者
- 2.2.9 その他、担当医師が不適当と判断した患者

3 臨床試験の方法

3.1 骨髄液と末梢血の採取

患者自身の骨髄 15mL を局所麻酔下に腸骨 1 カ所より採取し、ヘパリン入り PBS 溶液に混和する。また、自己末梢血 400～600mL を採血し、遠心管に入れる。

3.2 細胞培養

- 3.2.1 血液より血清を分離して、血清入りの液体培地を調整する。用いる培地は DMEM で、抗生物質（penicillin, streptomycin, Amphotericin-B）を添加する。
- 3.2.2 細胞培養ディッシュに接着するヒト骨髄間葉系細胞を培養する。
- 3.2.3 間葉系細胞は自己の骨髄液（15ml）と自己の血液からの血清を用いて、接着系の細胞を培養することにより増殖させる。他の成長因子は用いない。
- 3.2.4 抗生物質は培養 3 回目継代後、1 回目の培地交換時に除去し、最終的には抗生物質は用いない。
- 3.2.5 間葉系細胞は培養期間中に真菌、細菌、ならびにマイコプラズマによる汚染がないことを確認する。
- 3.2.6 搬送当日にケミコンアキュターゼを用いて、細胞培養ディッシュからヒト骨髄間葉系細胞を剥離し、最終容量が 40mL になるように培養液を添加し、全量を 50mL フェルコンチューブに回収する。遠心機（H-26F、KOKUSAN 社）を用いて、細胞懸濁液を回転数 1800 rpm で 5 分間、室温で遠心分離した後、上清を除去し、細胞懸濁液を得る。
- 3.2.7 以上の培養操作は、クリーンルーム運転管理指針、細胞管理基準書、SOP 試験検査手順法（微生物限度試験法、マイコプラズマ）、細胞標準操作手順書に則り、無菌的に行う。

4 細胞の保存

細胞移植後に感染症が起きた場合の原因検索のために、厚生労働省の指針に従い、採取した細胞および培養で得られた細胞の一部を10年間保存する。保存した細胞はその他の目的には一切使用しない。

5 細胞移植

5.1 慶應義塾大学病院中央手術室において、前述の細胞懸濁液を針付きディスプレイポザブルシリンジ(1cc)に充填する。

5.2 患者に、原則として手術中、心筋内に局注するという形にて移植を行う。具体的には約 $3-10 \times 10^7$ の細胞/4mLPBS を心筋 20~30 カ所に分割して筋肉内に注入する。

6 心筋誘導 in vitro アッセイ

6.1 移植に使用されなかった細胞の一部は、その後培養継続し基礎的研究に使用される。

6.2 培養中に薬剤付加を行い、その後インビトロ心筋誘導効率アッセイを行うことにより、薬剤投与による誘導率改善効果を判定する。今後そのデータをもとに本治療の効果増強させるための基礎的なデータとする。

7 その他の治療法

原則的に既存の治療法は変更しない。担当医師が薬剤の変更もしくは追加が必要だと判断した時には、研究責任者への報告を行うこととする。

8 検査項目

8.1 治療前、投与翌日、第1週目、2週目、1ヶ月後、2ヶ月後、6ヶ月後に評価を行う。

※以下の項目を検査する。

8.1.1 血圧、脈拍、体重

8.1.2 心電図、ホルター心電図、加算平均心電図、心臓超音波検査、胸部レントゲン

8.1.3 一般採血：血算、血液化学、炎症指標 (CRP)

8.1.4 特殊採血：心血管作動性ホルモンの測定、BNP、動脈血液ガス

8.1.5 動脈血

8.1.6 トレッドミル検査 (施行可能例のみ)

8.1.7 心臓 MRI 検査・心プールシンチ

8.1.8 血管造影検査

8.1.9 眼底検査

8.1.10 CT 検査

週数	0	1	2	3	6	投与 翌日	7	8	10	14	30
同意書の提出	○										
血液（血清）の採取		○	○	○							
骨髄液の採取			○								
細胞移植					○						
QOL 評価表の記入	○										○
血圧	○		○		○	○	○	○	○	○	○
脈拍	○		○		○	○	○	○	○	○	○
体重	○						○		○		○
心電図	○		○		○	○	○	○	○	○	○
ホルター心電図 ・加算平均心電図	○							○			○
心臓超音波検査	○							○			○
胸部レントゲン	○				○	○	○	○	○	○	○
一般採血	○				○	○	○	○	○	○	○
特殊採血	○				○	○	○	○			○
動脈血液ガス	○				○	○					○
トレッドミル検査	○										○
心臓 MRI 検査 ・心プールシンチ	○								○	○	○
血管造影検査	○							○			
眼底検査	○								○		○
CT 検査	○									○	○

8.1.11 死亡例に対しては摘出心臓の病理学的検討を行う。

8.2 安全性の評価項目

8.2.1 血液生化学的検査：治療前、細胞移植翌日、第1週目、2週目、1ヶ月後、2ヶ月後、6ヶ月後に行う。また、必要時には随時検査を行う。

8.2.2 眼底検査：治療前、細胞移植1ヶ月後、6ヶ月後に行う。

8.2.3 CT 検査：治療前、細胞移植1ヶ月後、6ヶ月後に行う。

8.2.4 病理解剖：被験者死亡時には原因検索のために可能な限り病理解剖を行うことを、同意書、取得時に被験者および家族に対して説明する。

8.2.5 入院期間中データ蓄積機能付き連続心電図モニターを装着する

9 安全性の報告

9.1 安全性に関して1例ごとに実施症例の報告を倫理委員会行うこととする。

10 考えられる危険性

間葉系細胞の移植に際しては、移植された細胞は心筋細胞および血管細胞への分化を期待して移植されるが、他の細胞、例えば骨を作る骨芽細胞へ分化する可能性は完全には否定できない。また血管新生に伴い、検査で発見できなかった悪性腫瘍を悪化させる可能性、網膜症を発生または進行させる可能性が考えられる。また移植した細胞から不整脈が生じる可能性がある。

11 臨床試験の中止（エンドポイント）

11.1 以下の基準に合致する場合は直ちに臨床試験を中止する。

11.1.1 被験者から臨床試験への参加の辞退の申し出があった場合

11.1.2 臨床試験責任医師もしくは分担医師の判断による場合

11.1.2.1 有害事象が発現した場合

この場合は直ちに臨床試験を中断し、有害事象の治療にあたりると同時に、慶應義塾大学医学部倫理委員会に報告する。

11.1.2.2 臨床試験実施計画違反が明らかになった場合

12 被験者へのデータの開示

得られたデータは、被験者より希望があれば、本人のものに限って開示する。

13 臨床試験予定期間

承認から2年間

14 予定症例数

5例

別紙8【被験者に関するインフォームドコンセント】

1 説明文書の作成方法

- 1.1 臨床試験責任医師は被験者から臨床試験への参加の同意を得るために用いる説明文書を作成する。また、必要な場合には、これを改訂する。なお、説明文書の記載事項には2)に示す事項が含まれていなければならない。
- 1.2 作成または改訂された説明文書はその使用に先立ち、慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認を得ることとする。

2 説明文書記載事項（添付書類6を参照）

説明文書には以下の事項が含まれていることとする。

- 2.1 細胞移植の説明と研究のテーマ
- 2.2 研究目的
- 2.3 研究方法
- 2.4 不要となった細胞の処理
- 2.5 実施機関名ならびに実施責任者
- 2.6 同意頂けなかった場合、同意の撤回について
- 2.7 個人のプライバシーについて
- 2.8 患者さんへの危険性
- 2.9 費用負担について
- 2.10 研究から生じる知的財産権の帰属

3 被験者の利益および不利益

3.1 利益

- 3.1.1 自己間葉系細胞を用いた細胞移植治療によって心機能が改善することで自覚症状およびQOLの改善が期待できる。
- 3.1.2 局所麻酔下で採取した少量の骨髄液から間葉系細胞を培養により得るため、既存の骨髄単核球移植と比較して、より非侵襲的に血管再生治療を受けることができる可能性がある。

3.2 不利益

- 3.2.1 本研究は確立された研究方法ではないので本人にとっては研究協力である。
- 3.2.2 骨髄採取時に予想される有害事象：骨髄採取（局所麻酔を含む）および採血に伴い、合併症が発生する可能性がある
- 3.2.3 今回の対象は、通常に行われる骨髄採取法により骨髄液を採取する。採取にかかわる適応は担当医師の判断による。採取（局所麻酔を含む）に伴い、合併症が発生する可能性がある。ただし、本研究では細いディスプレイ針

を使用し、少量（15ml）の骨髄血を採取するため、合併症の発生率は下記と比べ相当低いと考えられる。

＜骨髄移植時の骨髄採取の際の合併症＞

- 3.2.3.1 採取部位の疼痛（採取48時間後）75.4%
- 3.2.3.2 採取部位の疼痛（採取3ヶ月後）8.8%
- 3.2.3.3 採取部位の異常（針を刺した部位の腫れ、出血、血腫）2.0%
- 3.2.3.4 採取針の破損（採取中に採取針が折れた場合）0.4%

（骨髄移植推進財団 1993年1月～2003年3月骨髄提供者のアンケート集計データによる）

ただし、手技中の疼痛により、虚血性心疾患が悪化する可能性がある。

- 3.2.4 他の細胞への分化の可能性： 移植された細胞の血管新生および心筋再生を期待して移植されるが、他の細胞、たとえば骨を作る骨芽細胞へ分化する可能性（今までの基礎研究では、このことが生じないことを確認されているが）は完全に否定できない。
- 3.2.5 血管新生による副作用： 血管新生を惹起する可能性がある。そのため、治療前検査で発見できなかった悪性腫瘍を悪化させる可能性、増殖性網膜症を発生または進行させる可能性が考えられる。
- 3.2.6 不整脈： 骨格筋芽細胞移植による心臓再生療法の臨床応用で致命的な不整脈が生じたことから、循環器領域での再生医療を行う際には、移植によって不整脈を生じる可能性が否定できない。しかし、動物実験においても、現在進行中の骨髄間葉系幹細胞による心臓細胞治療の中間報告においても、骨格筋芽細胞に比して不整脈発生の報告は無い。その理由は骨格筋がホスト心臓とギャップ結合を形成せず、電氣的に同期しないのと比べて、間葉系幹細胞から生じた再生心筋細胞はホスト心臓とギャップ結合を介した電氣的な結合をするために、周囲の心筋細胞との電気緊張的な作用により膜電位が安定化し不整脈を生じないものと推測される。しかし今後心筋誘導率の改善に伴って不整脈を生じる可能性が否定できず、嚴重な心電図モニター下にて治療を行い、致命的な不整脈を生じるようであればカテーテルアブレーションによる血管内不整脈治療、あるいは自動植え込み型徐細動器の植え込みが必要となる可能性がある。
- 3.2.7 採取した細胞が使用できなくなる可能性
- 3.2.8 培養期間の手術待機： 細胞を培養する期間に1ヶ月を要するために、その間手術待機が必要となる。その期間に全身状態が悪化する可能性が否定でき

ない。

3.2.9 細胞治療自体が手術成績を悪化させる可能性は明らかでない

別紙9【被験者に対して重大な事態が生じた場合の対処方法】

1 有害事象

1.1 有害事象が発現した場合の対応

- 1.1.1 被験者に有害事象が発生した場合、速やかに臨床研究を停止し、慶應義塾大学医学部倫理委員会に報告する。
- 1.1.2 またその有害事象に対して治療が必要であると臨床試験実施責任医師または分担医師が判断した場合、被験者に対して最善の治療・処置を行うものとする。
- 1.1.3 さらに、もとの状態に回復するまで追跡調査を行う。なお、臨床検査値、血圧および脈拍については、臨床試験実施責任医師または分担医師が臨床的に意味のある異常と判断したものを有害事象として取り扱う。

1.2 有害事象に関する用語の定義

- 1.2.1 有害事象とは、細胞移植治療を遂行する際に発現するあらゆる好ましくない事象（臨床検査値異常を含む）であり、間葉系細胞移植との因果関係は問わない。
- 1.2.2 有害事象のうち、間葉系細胞移植との因果関係が否定できないもの（間葉系細胞移植との因果関係で「否定できない」と判定されたもの）を副作用として取り扱う。
- 1.2.3 有害事象のうち、次のいずれかに該当するものを重篤な有害事象と定義する。
 - 1.2.3.1 死亡
 - 1.2.3.2 治療のために病院または診療所への入院または入院期間の延長が必要
 - 1.2.3.3 障害（日常生活に支障をきたす程度の機能不全の発現）
 - 1.2.3.4 死亡につながるおそれ
 - 1.2.3.5 障害につながるおそれ
 - 1.2.3.6 上記に準じて重篤
 - 1.2.3.7 後世代における先天性の病気または異常
- 1.2.4 重篤な有害事象に該当するもの以外で、次のいずれかに該当するものを、重要な有害事象と定義する。
 - 1.2.4.1 著しい臨床検査値の異常変動
 - 1.2.4.2 臨床試験の中止に至った事象
 - 1.2.4.3 間葉系細胞移植との因果関係：間葉系細胞移植との因果関係を以下の2分類で判定する。

1.2.4.3.1 因果関係なし

有害事象の発現理由が明確で、間葉系細胞移植との因果関係が否定できる場合。

1.2.4.3.2 因果関係を否定できない

有害事象の発現理由が明確でなく、間葉系細胞移植との因果関係が否定できない、もしくは発現理由が間葉系細胞移植によるものと判断できる場合。

1.3 有害事象の程度

以下のように分類し、記入する。

1.3.1 軽 度：通常、一過性で被験者の日常生活を損なわない程度（正常な活動は可能である）

1.3.2 中等度：被験者の日常生活を損なわない、十分な不快感を与える程度（活動に不快感を伴う）

1.3.3 高 度：被験者の日常生活の遂行を完全に不可能にする程度（正常な活動が困難である）

1.4 重篤な有害事象が発現した場合の対応

臨床試験実施場所である慶應義塾大学病院のスタッフは、臨床試験実施責任医師、研究機関の長への迅速な報告とともに両者の責任と判断により暫定的処置（必要に応じた治療、他の研究参加患者への注意喚起、研究の中止など）をおこなう。すなわち

1.4.1 臨床試験実施場所である慶應義塾大学病院のスタッフは、適宜そのサポートにあたるものとする。

1.4.2 臨床試験責任医師は、重篤な有害事象について報告書を用いて実施機関の長、慶應義塾大学医学部倫理委員会委員長にその情報を速やかに報告し、委員長は緊急倫理委員会を招集し対応を行う。

1.4.3 前項と同時に、厚生労働大臣への報告を行って意見をもとめる。

1.5 重篤な有害事象の発現が予想される局面の準備

臨床試験実施場所である慶應義塾大学病院のスタッフは、その臨床試験を行う際に、重篤な有害事象が出現する可能性がある局面で、その有害事象に備えて十分な準備を整えておく必要がある。例えば

1.5.1 臨床試験実施責任医師は、骨髄採取や細胞移植の時に発症する可能性のある有害事象に備え、人工呼吸装置やエピネフィリン、ノルエピネフィリンを含む緊急用薬剤を手元に備えておく。

- 1.5.2 術後の心電図モニターで血行動態が不安定となるような心室頻拍や心拍数 170 を越える 6 連発を越える単形性心室頻拍や、心拍数 150 を越える 3 連発を越える多形性心室頻拍が出現するようであれば、速やかに循環器内科不整脈専門グループと連携をとり対応を行う。また術後退院までの期間に自動植え込み型除細動器を挿入する。

別紙 10【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

今回の研究に必要な費用を、競争的研究費（厚生労働省科研費・文部科学省科研費・財団法人心臓財団研究助成金）から調達する。

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

本研究は安全性の評価を目的としている。当該研究によって他施設で既に実施されている臨床研究と比較して新規性はない。当該研究での新規性は、当該施設において自己骨髄間葉系幹細胞を、心臓に移植するという行為であり、その一連の操作の安全性を確かめる事が今回の研究の目的である。また本研究によって安全性を評価した後、次の新規性の高い臨床研究を準備しており、そちらにおいて有効性を評価する研究を進めてゆく。すなわち、

2.1 左室形成術に自己骨髄間葉系幹細胞を用いる。

2.2 ex vivo において骨髄間葉系幹細胞の心筋分化効率を薬剤添加培養によって増大させた後心臓に移植する事で、骨髄間葉系細胞移植治療効果を期待する。