

要な細胞を培養します。

4) 採血

手術中、約 50ml の採血をさせていただきます。これは、いただいた細胞を培養するのに患者様自身の血清成分が必要となるので採る必要があります。一般的な採血と同じですが、手術中（麻酔中）に採るほうが痛みもなくてよろしいと思われま

3)、4) に関してのみ一般的な椎間固定手術としては行われることのないものです。伴う可能性のある合併症などについて、後の項で説明します。手術後に特に変わった処置は必要ありません。

- 5) 摘出し分離した髓核細胞と骨髄間葉系幹細胞を、採血した血清を用いて各々4日間培養した後、細胞間接着を伴う形で共培養します。この方法で髓核細胞が著しく活性化されます。7日間かかって活性化されたこの髓核細胞の元気度を評価し、この活性化髓核を直ちに患者様の固定術を行った隣の変性がある程度進行した椎間板に再挿入（移植）します。従って活性化髓核の再挿入時期は最初の手術から7日間後です。
- 6) 移植手術は、手術室で局所麻酔下、レントゲン透視下に特殊な器具を用いて皮膚に5mm前後の切開を加えて行います（図4）。
- 7) 1回目の手術直前、活性化髓核細胞の移植直前、移植後1、3、6、12、24、36ヶ月後に定期的にMRIや単純X線像にて活性化髓核を移植した椎間の椎間板変性度を測定します。また活性化髓核移植日、移植後1、2週、1、3、6、12、24、36ヶ月に血液学的検査、血液生化学検査を行います。参考データとして臨床症状は日本整形外科学会腰痛疾患治療判定基準を用いて、画像診断と同様の時期に判定します。

**(5) 予想される合併症、副作用**

今回の『自家骨髄間葉系幹細胞により活性化された椎間板髓核細胞を用いた椎間板再生研究』において可能性のある合併症、副作用について説明いたします。1回目の手術そのものに関係した合併症などについては、実際の手術前に別途ご説明いたします。

今回予定している臨床研究は初めて行われるものですが、骨髄液を採取する手技は2004年から本研究を実施するための準備研究として継続されてきた臨床研究すなわち『自家骨髄間葉系幹細胞を用いたヒト髓核細胞の活性化実験』ですすでに行われており、合併症は一切生じていません。しかし、髓核細胞採取から活性化髓核再挿入（移植）に至る全過程で考えられる合併症、副作用について説明いたします。前にお話したこの研究における安全性と関係する項目の説明です。

## 1) 骨髄液採取と関連した合併症

## ①出血

稀ではありますが、骨髄穿刺（骨に注射針を刺し、骨髄液を吸引する手技）した骨盤部（腸骨）創部より出血がなかなか止まらず血腫を作ることがあります。

## ②穿刺部の創部感染症

稀ではありますが可能性がります。術創部とは別のものである点に注意してください。

## ③穿刺部の疼痛

考えられる中では最も可能性があるかと思われませんが、生じた場合でも1週間くらいで改善するものがほとんどです。自家腸骨移植が必要な椎間固定術の場合は採骨部の疼痛があるとは思いますが、この疼痛とは別のものであり、この場合は穿刺部の疼痛は考えなくてよいものとなります。

## 2) 細胞活性と細胞安全性、感染などの問題について

細胞間接着を伴う骨髄間葉系幹細胞との共培養で活性化された髓核細胞については、準備研究として継続されてきた臨床研究すなわち『自家骨髄間葉系幹細胞を用いたヒト髓核細胞の活性化実験』で30例をこす患者様からいただいた組織によってすでに検索されています。骨髄間葉系幹細胞の力によって、髓核細胞の細胞数は増加し、また1細胞あたりの細胞の元気度（DNA活性や細胞基質の活性）も著しく高まっています。何もしない状態に比べて、細胞数は約5倍、1細胞あたりの元気度も5倍に亢進しています。また活性化髓核細胞に染色体異常はみられず、さらに免疫不全マウスへのヒト活性化髓核細胞の移植による研究でも腫瘍化も一切生じていません。さらに、この髓核活性化の手技の中で、感染は一切生じていません。体外での細胞処理のすべてがクラス100という極めて清潔度の高い環境を持つセルプロセッシングセンター内で実施されるために、体外に再挿入する細胞としての安全性が高いといえます。細胞を採取した時点、培養の途中の時点、そして髓核の活性化が終了した時点で色々な細菌、ウイルス、毒素などの検索を行います。もちろん、予想よりも髓核細胞が活性化されない可能性、活性化髓核の細胞内に通常とは異なる変化が生じる可能性、感染の可能性はゼロとは言いきれませんが、その防止のための国の基準を十分に満たした方法であると考えられます。

（以下『』の部分が追加部分です。

『なお、細胞移植療法の際には用いる細胞を組織から分離しますが、その時に用いる酵素に関して厚生労働省から2007年4月に指導があった項目について説明し、本細胞移植療法における対応について説明します。

細胞の分離（本研究の場合には椎間板の髓核細胞）の時にコラゲナーゼという酵素を使用します。世界中でもっとも多く使用されていたこの酵素はロッシュ社のコラゲナーゼPという製品です。私たちが当初この酵素を用いて研究を続け、本臨床研究においても使用する予定でした。しかし、この製品を作成する過程で、牛から採った組織を用いる部分があり、米国などで問題となっている伝