

## ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

被験者等の選定基準	<p><b>適格規準</b></p> <p>1) 年齢 : 症例登録時において年齢20歳以上80歳以下                  2) 左心機能 : 前項5-2-1のLVEFにて15%以上、35%以下                  3) 臨床病期(心不全分類) : stage D                  4) 臨床症状(心不全重症度) : NYHA III~IV度                  5) 冠動脈バイパス術適応病変 : 前項5-2-2の冠動脈造影法において主要冠動脈に有意狭窄を有し、冠動脈バイパス術の適応がある                  6) viabilityのある領域 : 上記冠動脈病変に起因する障害心筋領域で、造影心MRIによる評価において以下の規準が満たされていること                  ① 梗塞領域が18分割心区域分類法で2領域以上存在する                  ② すべての梗塞領域の遅延造影濃染部が、短軸像において心筋壁に対し50%以下の場合、または遅延造影濃染部が51%以上の領域を含む場合でも、同部位が1領域以下に限定される場合                  注1) 同部位に対するバイパス術の既往は問わない                  注2) 冠動脈の罹患枝数は問わない                  注3) 該当のviabilityのある領域が複数存在する場合は、梗塞領域の大きい方を細胞移植領域とする                  7) 試験参加について文書による説明がなされ、文書同意の得られた者</p> <p><b>除外規準</b></p> <p>1) 28日以内の新規の心筋梗塞、不安定狭心症発症                  2) 左室切除術もしくは弁形成術(置換術を含む)を必要とする症例 *1                  3) 心筋生検禁忌の症例*2                  4) 悪性新生物を有する患者及び3年以内にその既往のある患者                  5) 血液透析患者                  6) 肝硬変患者(ICG15分停滞率 30%以上)                  7) コントロール不良の糖尿病患者(HbA1c&gt;8.0)                  8) 5cm以上の大動脈瘤(解離性含む)                  9) 心原性ショック                  10) 活動性感染症(サイトメガロ感染症を含む)                  11) 薬物依存症(アルコール心筋疾患を含む)                  12) HIV抗体陽性                  13) 活動性出血性疾患(消化管出血、外傷その他)                  14) ゼラチンアレルギーの既往*3</p> <p>*1 左室切除術の必要な症例とは、造影心MRIにおいて梗塞部心筋の濃染部が心筋壁に対して51%以上の領域が2領域以上にわたる症例とする。                  *2 心筋生検禁忌の症例とは以下の症例とする                  ① 心原性ショック状態の患者                  ② カテコラミン等を治療に必要とする鬱血性心不全状態の患者                  ③ II度以上の房室ブロックの患者                  *3 ゼラチンアレルギーについては詳細な既往歴の聴取及び、登録前にパッチテスト、ゼラチンIgEの検査において陰性であることを確認する                  臨床試験プロトコル「5.診断基準と病期・病型分類」「6.適格基準」参照</p>
臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	ヒト自家心臓幹細胞(cardiac stem cell, CSC) 自家心臓幹細胞概要書「2.1.1 試験細胞の生物学的特徴」「3.試験細胞情報」を参照。 臨床試験プロトコル「4.1ヒト自家心臓組織由来心臓幹細胞(cardiac stem cell, CSC)」を参照。
採取、調製、移植又は  投与の方法	被験者患者右心室から、心筋生検法を用いて15~20mgの心筋組織を採取し、平成19年8月通達「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に従いGMP準拠の細胞調整施設である京都府立医科大学 再生医療・細胞治療研究センター(以下CPCと略す)において、無菌的に自家心臓幹細胞を単離、体外増幅培養を行う。被験者の400mL末梢血から採取分離した血清を用いて5-6週間の細胞培養の後、CPCにおいて生理食塩水に $5 \times 10^5$ 個/kgに調整、懸濁する。プロトコル治療はまず冠動脈バイパス術を行い、その後、培養自家心臓幹細胞を障害心筋領域に均等に20箇所、筋肉注射する。その後、bFGF徐放シートを同部位に貼付する。自家心臓幹細胞概要書「3.2 調製方法」、臨床試験プロトコル「8 試験計画と移植スケジュール変更基準」を参照。

## ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

安全性についての評価	細菌試験、真菌試験、マイコプラズマ否定試験、エンドキシン試験を、培養工程における無菌性の検証を細胞調整の各工程において、細胞製剤標準書SOPに従い行う。幹細胞としての安全に関しては長期継代株における核型異形発生の有無の確認、免疫不全マウス皮下へのヒト自家心臓幹細胞の移植実験における造腫瘍性の確認を全症例において行う。有害事象発現時・中間評価の際は、本臨床研究から独立した専門家で構成される効果安全性評価委員会が研究責任者の依頼を受けて情報を評価する。自家心臓幹細胞概要書「3.3品質管理」「3.3.1細胞培養工程における無菌性の検証」、臨床試験プロトコル「13.4中間評価」「15.モニタリング」、別添「重篤な有害事象発生時の報告・対応マニュアル」を参照。
臨床研究の実施が可能であると判断した理由	ヒト細胞を用いた先行研究では、先天性心疾患患者における手術手術時の微小心筋組織材料を用いた自家心臓幹細胞の単離・増幅培養に100例以上成功し、また対象年齢の虚血性心疾患患者(5名)虚血心筋組織からの微小心筋組織患者全例において心筋分化能を有した細胞であることが確認されている。末梢血からの自家血清単離及び冷凍保存、更に溶解した自己血清を用いての心臓幹細胞培養が可能であることも確認している。移植細胞の採取・培養過程において、長期継代株における核型異形発生の有無の確認、免疫不全マウス皮下へのヒト自家心臓幹細胞の移植実験(6ヶ月)における造腫瘍性の確認を行ったが染色体異形、奇形腫の発生は認めなかった。実験中止に至るような事象の発生はなく、安全に遂行できた。またブタを用いた移植実験においても最長4ヶ月間の観察期間中に細胞移植部局所の炎症、腫脹、その他特筆すべき全身症状の発生は認めらず、最終時点での剖検所見においても、移植部には異常所見は検出されなかった。併用するbFGF、人工心膜は既に医薬品として認可・使用されている。臨床試験プロトコル「2 背景と根拠」を参照。ゼラチンハイドロゲルシートの安全性、有効性についてはbFGFゼラチンハイドロゲルシート概要書「4.試験医療材料情報」を参照。
臨床研究の実施計画	患者自身の心筋組織から分離した心臓幹細胞を患者自身の心臓から採取した血清を用いて5-6週間培養する(予定細胞数 $5 \times 10^5$ 個/kg)。手術治療にて自家心臓幹細胞を障害心筋領域に筋肉注射し、同部位をbFGF含有ゼラチンハイドロゲルシートにて被覆する。 概略は臨床試験プロトコル「0.シェーマ」を参照。計画の詳細はプロトコル「8.試験計画」を参照。
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	担当医師は、被験者が試験に参加する前に、説明文書を用いて十分説明し、試験への参加について自由意思による同意を本人から文書として得る。細胞の採取・移植、検査の実施については、試験参加の同意とは別にその都度、インフォームド・コンセントを行い、文書にて同意を取得する。プロトコル「15.3.説明と同意(インフォームド・コンセント)」を参照。
説明事項	「世界医師会ヘルシンキ宣言」「臨床研究に関する倫理指針」「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」で規定されている内容に準じて施行する。 臨床試験プロトコル「16.1.遵守すべき諸規則」「16.2.説明文書・同意書の作成と改訂」を「16.3.説明と同意(インフォームド・コンセント)」を参照。説明・同意文書を参照。
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	該当しない
被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法	研究責任者は下に定義する重篤な有害事象又は新たな重大情報において重大な事態の発生が予測される場合、もしくは発生した場合は、重篤な有害事象の場合は付録2「重篤な有害事象発生時の報告・対応マニュアル」の別添2「重篤な有害事象に関する報告書」を、新たな重大情報の場合は「新たな重大情報に関する報告書」を作成し、所属する研究機関の長へ提出しなければならない。所属する研究機関の長は、所属する研究機関の倫理審査委員会等の意見を聴き、研究責任者に対し試験の中止その他の必要な措置を講じるよう指示しなければならない。 なお、必要に応じ、所属する研究機関の倫理審査委員会等の意見を聴く前に、所属する研究機関の長は研究責任者に対し、試験の中止その他の暫定的な措置を講じるよう指示することができる。

## ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>さらに所属する研究機関の長は、所属する研究機関の倫理審査委員会等若しくは厚生労働大臣の意見を受け、又は必要に応じ、研究責任者に対して改善、試験の中止、調査の実施その他の必要な措置を講じるよう指示するものとする。なお、所属する研究機関の倫理審査委員会等から本試験を中止するべきである旨の意見を述べられたときは、その中止を指示しなければならない。</p> <p>1) 重篤な有害事象のうち、効果安全性評価委員会にて本臨床試験の継続に大きな影響を与えると判断された重篤な有害事象                  2) 類似治療、その他の研究報告等から得られた新たな重大情報のうち、効果安全性評価委員会にて本臨床試験の継続に大きな影響を与えると判断された重大情報</p> <p>臨床試験プロトコル「9-1-4 重大な事態」を参照。また、臨床情報・細胞は試験終了後、臨床試験の統括報告書を厚生労働大臣に提出してから10年間保存する。</p>
臨床研究終了後の追跡調査の方法	<p>2年間の臨床研究終了後も通常の保険診療行為として被験者の追跡を、10年以上を目安として行う。被験者に病原体感染等の有害事象が生じた場合は、適切な医療措置を行うとともに、最終調製物に関する確認を行い、原因究明に努める。他の被験者の健康状態も確認し、被験者の安全性確保に努める。</p> <p>プロトコル「9.5. 臨床研究終了後の追跡調査」を参照。</p>
臨床研究に伴う補償	
補償の有無	有 <span style="margin-left: 100px;">(無)</span>
補償が有る場合、その内容	該当しない
個人情報保護の方法	
連結可能匿名化の方法	<p>被験者の特定には被験者識別番号、登録番号を用いる。細胞の特定には照合認識システム(メルコードシステム®)と台帳を用いて行う。</p> <p>プロトコル「16.4. 個人情報の保護」を参照。プロトコル「8.1.5. 移植細胞(CSC)の調製」を参照。</p>
その他	<p>「個人情報保護の方法」</p> <p>試験に係わる関係者は被験者の個人情報保護に最大限の努力をはらう。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配慮する。「世界医師会ヘルシンキ宣言」「臨床研究に関する倫理指針「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」で規定されている内容に準じて施行する。</p> <p>プロトコル「16.1. 遵守すべき諸規則」「16.4. 個人情報の保護」を参照。</p> <p>「その他必要な事項」</p> <p>①当該研究に関わる研究資金の調達方法                  本試験は京都府立医科大学大学院医学研究科循環器内科学講座の厚生科学研究費及び奨学寄付金で実施される</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                  詳細は「臨床試験計画書 2 背景と根拠」参照</p> <p>申請者らは既に行った前臨床試験により、今まで臨床研究は全く行われていない新規のヒト心筋より採取した心臓幹細胞を含む細胞群が成人ヒト血清を用いて多分化能を有したまま培養することが可能であること、心臓幹細胞とbFGF徐放シート移植を併用することでホスト心筋への生着能、実質的心筋再生が著しく促進され、慢性虚血による機能不全心であっても実質的な心筋再生による心機能改善が生じることを確認した。これまで難治性重症不全心患者に対して、心臓幹細胞を用いた細胞治療を施行した報告は世界的に一例の報告もない。また急性虚血心に対する骨髄細胞移植(冠動脈注入及びカテーテルによる心筋移植)、米国で行われた小動物への心臓幹細胞単独移植と比較しても、多くの新規性が見いだせる。以下に本研究の新規性について列挙する。</p> <p>1) 新規の幹細胞群である(心臓幹細胞)                  2) 体外細胞培養工程により移植細胞数を均一化することで、細胞移植効果を正確に判定できる                  3) 直視下に細胞移植操作を行うことで、治療有効領域への確実な移植が可能にできる                  4) bFGF徐放シート移植の併用により、心臓幹細胞の生着率を向上、心筋再生を飛躍的に改善(新規の幹細胞移植と組織再生工学のハイブリッド治療)                  5) 必要最小限の有効細胞数の移植により、移植後組織障害の軽減を図ることが可能であり、かつ体外細胞増幅にかかる期間の短縮は必要とされるヒト血清量の節減(患者侵襲の低減)および手術待機期間の短縮を図ることができる(有効細胞数の規定)したがって、本研究はヒト幹細胞を用いた臨床研究として、多くの新規性が認められるものと考えられる。</p>

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

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:自己心臓幹細胞に関する概要書、bFGF含有ゼラチンハイドロゲルシートに関する概要書)
- その他(資料内容:試験実施計画書(プロトコル) )
- その他(資料内容:試験実施計画書(プロトコル) 臨床II相試験 試験計画 )
- その他[資料内容:重篤な有害事象発生時の報告と対応マニュアル(プロトコルAPENDIX1) ]

〈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〉

申請する研究は、現在提供可能な様々な先進的循環器治療によっても改善の期待しがたい、重症難治性心不全という病態に対して、自己心臓内に存在する心臓幹細胞という多種類の細胞に分化できる能力をもった細胞を使用して、心筋再生に基づいた新しい細胞移植による治療法を開発することを目的とします。

重症慢性虚血性心不全は、心筋梗塞などの虚血性疾患により心筋が十分な働き（収縮力）をすることができず、心不全を繰り返す難治性の病態と定義されています。原因となる虚血性心疾患とは冠動脈の閉塞により心筋の血流が途絶えること（心筋虚血）により心筋細胞が死滅（＝壊死）する疾患であり、この傷害された心筋は自己修復することができないため、心臓組織の 20～30% の領域の心筋が収縮能力を失い、心臓がポンプとしての働きを果たせず心不全という状態に陥ります。現在、心臓病に対しては種々の治療が行われていますが、主には原因疾患に対する薬物、手術（冠動脈形成術等）などの治療がほとんどで、傷害を受け壊死した心筋そのものを治す治療方法はあります。そこで心筋細胞を作る能力をもつ細胞である心臓幹細胞を用いた治療法を計画しました。

心臓幹細胞は成人においても心臓の中に存在しており、普段は眠っていて自ら心筋細胞を再生することはありません。しかし、心臓より体外に取り出して、血清を用いた細胞培養という操作により、その数を増やすことが可能で、また薬剤を加える事で、心臓、血管、骨、軟骨、脂肪を形成する細胞に変化（＝分化）させることができます。さらに、体外で培養した心臓幹細胞を心臓に移植することで移植された心臓内で、新たな心筋細胞に分化させることができます。この心筋細胞に分化できる性質を用いて、心臓幹細胞を体外で大量に培養して、通常では治らない心臓の病気の治療に応用することが報告されています。これまで培養や移植により、治療を受けた人に大きな合併症が発生した報告はありません。

治療試験研究の具体的な手順は以下の如くです。まず治療の対象となる患者さんは今までに心筋梗塞などの虚血性心疾患に罹患した患者さんで、長年の冠動脈の閉塞や狭窄により心機能が低下し、様々な治療によっても心不全を繰り返し入院する 20 歳から 80 歳までの患者さんを対象とします。このような患者さんは通常の冠動脈バイパス術のみでは心機能の回復が思わしくなく、予後もきわめて不良です。これらの患者さんで冠動脈バイパス手術の適応がある患者さんに本治療は行われます。様々な検査から、本治療の対象となるか否かを検討し、複数の医師から対象であると判断された患者さんは、十分な説明と、自らの意志に基づいて本試験への参加を決めていただきます。本試験への参加が決まった患者さんは、試験登録患者さんとして登録されます。本試験はまず最初に、自分の心臓幹細胞を育てる（培養）するための約 400cc の血液を採血します。得られた血液を遠心により血球と血清に分離し、血清を心臓幹細胞を培養する時の栄養物質として用います。次に患者さんの心臓から心筋組織を約 15～20mg 採取し、心臓幹細胞を取り出し、プラスチック培養皿の上で培養を行います。心臓幹細胞の培養はセルプロセッシングセンターという無菌性を保った特別の施設で行われ、移植に用いる予定の細胞数(5000 万個)に達するまで培養します(5～8 週間の予定です)。予定細胞数にまで増えた細胞は品質と安全性を確認した後に、心臓バイパス術を行う際に、患者さん用に調整した心臓幹細胞を心筋内に直接移植します。細胞