

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	重症低ホスファターゼ症に対する 骨髄移植併用 同種間葉系幹細胞移植
研究機関	
名称	島根大学医学部
所在地	〒693-8501 島根県出雲市塩冶町89-1
電話番号	0853-23-2111
FAX番号	0853-20-2215
研究機関の長	
役職	島根大学医学部 医学部長
氏名	紫 藤 治 印
研究責任者	
所属	島根大学医学部附属病院 輸血部
役職	講師
氏名	竹谷 健 印
連絡先 Tel/Fax	Tel: 0853-20-2409 /Fax: 0853-20-2409
E-mail	ttaketani@med.shimane-u.ac.jp
最終学歴	平成8年3月 島根医科大学医学部医学科 卒業
専攻科目	小児科学、血液学、腫瘍学、分子生物学
その他の研究者	別紙1参照
共同研究機関(該当する場合のみ記載してください)	
名称	独立行政法人 産業技術総合研究所 セルエンジニアリング研究部門 組織・再生工学研究グループ
所在地	〒661-0974 兵庫県尼崎市若王寺3-11-46
電話番号	06-6494-7807
FAX番号	06-6494-7861
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	独立行政法人産業技術総合研究所理事長

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

氏名	野間口 有
臨床研究の目的・意義	<p>低ホスファターゼ症とは、骨を作るのに必要なアルカリホスファターゼ(ALP)という酵素が生まれつき正常に働かないことにより、骨を作ることが障害される遺伝性の病気である。この病気の重症の患者は、全身の骨が徐々に菲薄化して骨折しやすくなり、特に呼吸筋を支える肋骨などが骨折するために呼吸不全で乳幼児期に死亡する。この病気に対して、これまで有効な治療法がなかった。しかし、近年、致死型の低ホスファターゼ症の患者に、健常人(提供者)の骨髄および骨、骨をつくる骨芽細胞や骨芽細胞のもと(起源)の細胞である間葉系幹細胞を移植することによりその提供者の細胞が患者の骨に到達(生着)して骨を作り、患者が救命されていることが報告されている。このことから、我々は2004年に同じ疾患の患者に骨髄移植、骨移植、間葉系幹細胞移植を行い、救命することができた。したがって、この臨床研究の目的として、根治療法のない重症低ホスファターゼ症の患者を救命するために、骨髄移植と間葉系幹細胞移植を行う。また、この臨床研究の意義は、本疾患に対する根治的治療法がないため、この治療が成功した場合、同じ病気で苦しんでいる子供たちへの応用が進み、生命予後の改善に大きく寄与することが期待される。</p>
臨床研究の対象疾患	
名称	重症低ホスファターゼ症
選定理由	この疾患の重症型は、現在の段階では、細胞治療でしか救命できた患者がないため。現在は対症療法のみで、具体的には、呼吸障害に対する人工呼吸管理、痙攣に対する抗けいれん薬などである。2008年から、アメリカで骨へ移行しやすく改良されたリコンビナントALP製剤の治療が始まっており、ある程度の効果が出ている。
被験者等の選定基準	<p>被験者は以下の4つすべてを満たすこと</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 生後6か月以内の発症 2. 呼吸障害を合併 3. ALP活性の低いALP遺伝子変異を有している 4. 骨髄間葉系幹細胞の骨形成能低下
臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	骨髄由来間葉系幹細胞
由来	自己 非自己 ・株化細胞 生体由来 ・死体由来
	<p>1. 骨髄採取 まず、適切な骨髄提供者を決定する。その際、①正常な骨形成していること、②ALP活性が正常であること、③ALP遺伝子が正常である、または、異常であってもALP活性が正常に近い という条件を満たしたご家族を提供者とするため、両親(成人)あるいは同胞(未成年)が提供者になる。適切な骨髄提供者骨髄提供者からの腸骨から100-120mLの骨髄を骨髄針を用いて採取する。</p> <p>2. 骨髄移植 採取された骨髄(80-100mL)を経静脈的に患者に投与する。移植する前に、患者に対して、抗がん剤(ブスルファン、シクロフォスファミド、抗胸腺グロブリン)を用いて患者の骨髄を排除しておく。移植後は、GVHD予防のため、免疫抑制剤(メソトレキセートおよびタクロリムス)を使用する。</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

採取、調製、
移植又は投与の方法

3. 間葉系幹細胞の採取、調整、移植

採取された骨髄(10-20mL)をヘパリンを添加したPBS(Phosphate buffered saline)を含む滅菌試験管に加える。採取には無菌での操作が必要であるため、手術室あるいは無菌室で担当医師が行う。採取された骨髄は産業技術総合研究所内セルプロセッシングセンターに搬送され培養操作を行う。産業技術総合研究所における作業においては培養担当医師がその責任を負う。製造指示記録書に培養を担当した医師名およびスタッフ名を記載する。培養は20μg/mL硫酸ゲンタマイシンと15%牛胎児血清を含んでいる液体培地(α-MEM: GIBCO カタログ番号12571)に採取した骨髄を混和し、培養容器を用いて炭酸ガス培養器(5%CO₂、37°C)内で行う。培養容器底面に間葉系幹細胞が接着し細胞が増殖する。移植に必要な細胞数を得るために、培養細胞をプロテアーゼ(トリプシンに代わる動物由来成分不含の細胞解離剤: GIBCO recombinant Protease)を用いて培養容器より剥がし、あらたな培養容器で継代培養(2次培養)する。培養期間および継代回数は安全性を考え、1ヶ月以内で継代回数3回(3次培養)までとする。その後、細胞を剥離しPBSで懸濁し細胞数および生存率を測定を行なう。細胞生存率が80%以上あり移植必要細胞数(体重あたり10⁶個/kg以上を目標とする)が確保できていれば、細胞を新たなPBSで懸濁し滅菌試験管に移す。移植用の間葉系幹細胞は、クーラーボックスを使用して島根大学付属病院に搬送される。搬送された間葉系幹細胞は島根大学付属病院で、注射器により経静脈的に全身投与される。また、移植免疫を回避し間葉系幹細胞の機能を長期間維持するために、免疫抑制剤(タクロリムス)を投与する。呼吸状態の悪化、骨折、体重増加不良など症状の悪化がみられた場合には、間葉系幹細胞移植を複数回行うことがある。

4. 骨髄および移植細胞の輸送

採取・移植施設(島根大学)と調整施設(産総研)が異なるため、骨髄および移植細胞を輸送する必要がある。島根大学⇄出雲空港 30分(車)、出雲空港⇄大阪空港 50分(飛行機(客室内))、大阪空港⇄産総研 30分(車)で行い、細胞培養作業は、医師法に準拠して、島根大学の医師が培養して、産総研のスタッフがサポートする。

調製(加工)行程

有 無

非自己由来材料使用

有 無 動物種(ウシ:血清・ブタ:ヘパリン)

複数機関での実施

有 無

他の医療機関への授与・販売

有 無

各培養段階において、安全性検査を実施する。培養のための骨髄採取に用いる容器・その他の機材は全て滅菌されたものを使用し、無菌操作を心がける。骨髄は滅菌処理が出来ないため、滅菌チューブを二重梱包し、産業技術総合研究所内セルプロセッシングセンターに搬送する。搬送にあたっては、保冷剤を入れた運搬用クーラーボックスを用いる。1つのクーラーボックスで、複数の症例の骨髄を運搬することはない。運搬中、ボックス内は、ほぼ一定の温度(10~30°C)に保たれていることを確認する。また、本方法にて搬送した骨髄の安全性および有効性を確認している。培養に用いる牛胎児血清は牛海綿状脳症の発生していない地域原産(ニュージーランドあるいはオーストラリア)で放射線照射処理されたものを使用する。調整した液体培地は、0.22umフィルターによりフィルター滅菌を行った後、細菌・真菌検査、エンドキシン検査を行う。骨髄は培養開始時に細菌・真菌検査を行い、搬送時の汚染を否定する。培養過程において培養操作時の汚染を否定するため、細菌・真菌検査を行う。さらに最終培地交換時に培養上清より、細菌・真菌検査、マイコプラズマ検査、**エンドキシン検査**を行い、汚染の最終確認を行う。移植手術予定日にはこれらの検査結果を踏まえて、主治医がその使用の可否を判断する。両試験で汚染が確認された場合は、細胞培養を中止する。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<p>安全性についての評価</p>	<p>現在までに産業技術総合研究所、大学病院または国立研究機関と共同で80症例以上の自己骨髄由来間葉系細胞培養及び移植を行っているが、すべての症例で細菌、真菌検査の最終判定は陰性であり、術後感染症等の問題は発生していない。また、骨髄の搬送方法は全ての症例で本法と同様の手法を用いており、安全性と有効性が確認されている。動物由来成分を含有する試薬は骨髄採取に用いるヘパリン(ブタ)と液体培地の牛胎児血清だけである。ヘパリンは日本薬局方のものを採用し安全性を確保する。牛胎児血清は牛海綿状脳症との関連が危惧されているが、これまで牛胎児血清を含んでいる液体培地で培養された間葉系幹細胞を投与された患者はすべて、牛海綿状脳症の発症は報告されていない。また、牛海綿状脳症の発生していない地域の血清で、放射線処理済みのものを使用することなど、可能な限りの対処を行う。細胞剥離剤は動物由来成分を含まない、トリプシン様酵素(TrypLE Select: GIBCO カタログ番号12563)を採用する。液体培地に添加する抗菌剤である硫酸ゲンタマイシンは日本薬局方のものを採用する。また移植細胞は、剥離後PBSで複数回洗浄されるため、薬剤の残留は低減する。移植細胞の搬送にはクーラーボックスを使用し一定の温度(10~30℃)に保たれ、12時間以内に島根大学付属病院手術場に搬入移植する。使用した細胞、液体培地は、その一部を後証品として冷凍保存する。</p>
<p>臨床研究の実施が可能であると判断した理由</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. これまで細胞治療を行われた3例は全例骨髄移植が行われている。これは、間葉系幹細胞が拒絶されないために、免疫細胞である骨髄も間葉系幹細胞の提供者と同一とする必要があると考えられているからである。 2. 骨髄移植後の間葉系幹細胞は患者由来であることが証明されている。そのため、骨髄移植だけでは間葉系幹細胞が提供者由来に変わらないため、骨髄移植と間葉系幹細胞移植を併用する必要がある。 3. ラットの実験において、同種の間葉系幹細胞移植は免疫抑制剤を用いることで間葉系幹細胞移植は生存して、骨を形成することが明らかとなっている。 4. 間葉系幹細胞移植は海外では造血幹細胞移植後の移植片対宿主病(GVHD)、クローン病、1型糖尿病、心血管障害、骨形成不全、先天性代謝疾患などの疾患に臨床応用されている。有効性は各疾患でばらつきがあるが、間葉系幹細胞を投与することの副作用はほとんどなく、安全に行われている。 5. 研究分担者である産業技術総合研究所・セルエンジニアリング研究部門は、骨髄から間葉系幹細胞を培養増殖する経験を有している。約80例のさまざまな疾患を有した患者に対して、培養した間葉系幹細胞を移植している。 6. 骨髄移植は治療の方法や安全性が明らかとなっている。 7. 骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行った後に、症状が再燃した症例について、その後間葉系幹細胞のみを投与して症状が改善している。そのため、骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行った後に、呼吸状態の悪化、骨折、体重増加不良などの臨床症状の悪化がみられた場合に、間葉系幹細胞のみを再移植する。
<p>臨床研究の実施計画</p>	<p>別紙参照</p>
<p>被験者等に関するインフォームド・コンセント</p>	
	<p>担当医は患者本人と親権者(法定代理人)への添付の説明文に沿って内容を説明する。ただし、今回の患者は幼少のため理解できないため、親権者(法定代理人)に対する説明となる。さらに、今回は骨髄提供者または骨髄提供者が未成年の場合、提供者の親権者(法定代理人)に対する説明も要する。</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<p>手続</p>	<p>説明を行った後に、内容の理解を確認した上で、添付書類の同意書を用いて、説明医師と、説明を受けた親権者および骨髄提供者または提供者の親権者（法定代理人）が日付を記載し、署名する。同意文書は2部複写し、1部は親権者および骨髄提供者または提供者の親権者（法定代理人）に手渡し、1部は研究責任者が保管する。原本はカルテに保管する。</p>
<p>説明事項</p>	<p>1) 被験者用</p> <p>①臨床研究の目的、意義及び方法 ②予期される効果及び危険性とその対処方法 ③費用負担とその補償 ④他の治療法の有無及びその方法 ⑤研究への協力に同意した後であっても、自らの自由意思でいつでも同意を撤回でき、また、そのことによって不利益を受けないこと。⑥個人情報の保護の方法及び、研究成果が匿名化の上公表されること。⑦知的財産権に関して ⑧問い合わせ・苦情の受付先</p> <p>2) 骨髄提供者用</p> <p>①対象疾患に対する説明 ②臨床研究の目的 ③骨髄採取方法 ④予期される効果 ⑤危険性とその対処方法 ⑥他の治療法の有無及びその方法 ⑦個人情報の保護の方法及び、研究成果が匿名化の上公表されること。⑧知的財産権に関して ⑨問い合わせ・苦情の受付先</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>本臨床研究の対象疾患は致死的な重症低ホスファターゼ症であり、先天性疾患であることから被験者は全て乳幼児である。</p>
<p>代諾者の選定方針</p>	<p>被験者の親権者または養育責任者</p>
<p>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>	<p>1. 抗がん剤の副作用は、食欲低下、嘔気、嘔吐、下痢などの消化器症状、脱毛、骨髄抑制（貧血、血小板減少、白血球減少）が挙げられる。消化器症状に対して、高カロリー輸液、制吐剤、骨髄抑制に対して、輸血、感染予防（無菌室、抗菌薬投与など）で対応する。</p> <p>2. 骨髄移植後の副作用として、感染症とGVHDなどが挙げられる。感染症に対して、抗菌薬投与などで対応する。GVHDに対しては、免疫抑制剤を予防的に投与（メソトレキセートおよびタクロリムス）して、もしGVHDが発症した場合、ステロイドなどの他の免疫抑制剤の投与を検討する。</p> <p>2. 間葉系幹細胞を投与することで起こる副作用は、アレルギー反応が挙げられる。それに対しては、抗ヒスタミン剤およびステロイドを前投与して、予防する。</p> <p>3. 今回使用する免疫抑制剤であるタクロリムス（プログラフ®）の副作用は、腎障害、高血糖、中枢神経障害（頭痛、けいれんなど）、心不全、高血圧、低マグネシウム血症、高カリウム血症、高コレステロール血症、腹部膨満、下痢、多毛、手指の振戦、感染症などが挙げられる。これらの副作用は、血中濃度に比例するものが多いことから、血中濃度測定を定期的に行い、至適濃度内に管理する。また、症状を観察し、定期的な検査を行うことで、もし副作用が生じた場合、早期に副作用を発見し、対処する。感染症に関しては、抗菌薬内服などで予防に努める。</p>
<p>臨床研究終了後の追跡調査の方法</p>	<p>臨床研究が終了後も、救命された場合、骨の発達を観察する必要があるため、成人になるまで、経過観察する。</p>
<p>臨床研究に伴う補償</p>	
<p>補償の有無</p>	<p>有 <input type="radio"/> 無 <input checked="" type="radio"/></p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

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	研究責任者の責任のもと、氏名、生年月日、住所などの個人を特定できる情報を取り除き、代わりに新たな登録番号をつけ、個人を特定できなくする。 具体的には、氏名・生年月日などの個人を特定できる情報をコード化して、患者に関する情報は情報管理者の責任の下で、書類・データベース等に厳重に保管する。
その他	研究結果の公表に際しては、個人情報保護法に則り、個人情報の保護に十分配慮する。公表される個人に関する情報としては年齢、疾患名、性別のみである。
その他必要な事項 (細則を確認してください)	<p>①当該研究に係る研究資金の調達方法</p> <p>骨髄穿刺及び細胞培養にかかる費用は、すべて島根大学と産業技術総合研究所 セルエンジニアリング研究部門 組織・再生工学研究グループが負担をする。骨髄穿刺等の島根大学でかかる費用は、文部科学省・委託研究「平成20年度再生医療実現化プロジェクト」の1つである「重度先天性骨代謝疾患に対する遺伝子改変間葉系幹細胞移植治療法の開発」の研究費より、細胞培養に掛かる費用は産業技術総合研究所 セルエンジニアリング研究部門 組織・再生工学研究グループの運営交付金より資金を調達する。</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>これまで、我々が経験した患者さんを含めて、3人の患者さんが骨髄移植、骨移植および骨芽細胞・間葉系幹細胞移植を施行して救命された。本疾患に対してこれらの治療を行った報告は3例しかないが、これらの治療以外で救命された例はない。現在のところ、他の方法では治療では期待できない。そこで、本計画では重症低ホスファターゼ症の患者を救命するために、骨髄移植と間葉系幹細胞を用いた移植治療研究を行う。以上より、骨髄移植と間葉系幹細胞のみを移植することに新規性が認められる。</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
- 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:ポンチ絵))
- その他(資料内容:低ホスファターゼ症の概略))

人間を対象とする医学の研究及び臨床応用申請書

平成22年4月9日（提出）

島根大学医学部長 殿

申請者(研究責任者)

所属・職名 輸血部 講師

氏 名 竹谷 健 印

(英文) 所属・職名 Division of Blood Transfusion,

Associate professor

氏 名 Takeshi Taketani

所属講座等教授

氏 名 山口 清次 印

1 課題名

重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植

Allogeneic Bone Marrow and Mesenchymal Stem Cell Transplantation for patients with severe Hypophosphatasia

2. 研究等分担者

所 属 ・ 職 名	氏 名
島根大学医学部小児科.....・教授	山口 清次
同.....・准教授	福田 誠司
同.....・講師	金井 理恵
同.....・講師	鬼形 和道
同.....・助教	小林 弘典
同.....・助教	四本 由郁
産業技術総合研究所	
健康工学研究部門・産総研招聘研究員	太串 始
健康工学研究部門・主任研究員	服部 耕治

健康工学研究部門・研究員
健康工学研究部門・研究員
健康工学研究部門・研究員

大西 弘恵
勝部 好裕
町田 浩子

3. 研究等を行う具体的な場所

- (1) 島根大学医学部附属病院3階西病棟
- (2) 産業技術総合研究所 関西センター 尼崎事業所
〒661-0974 尼崎市若王寺3-11-46

4. 研究等の概要

意義

重症低ホスファターゼ症の患者さんを救命すること。

目的

低ホスファターゼ症とは、生まれつき骨を作るのに必要なアルカリホスファターゼ (ALP) という酵素が生まれつき正常に働かないことにより、骨を作ることが障害される遺伝性の病気である。この病気の重症の患者さんは、全身の骨が徐々に菲薄化して骨折しやすくなり、特に呼吸筋を支える肋骨などが骨折するために呼吸不全で乳幼児期に死亡する。この病気に対しては、これまで有効な治療法がなかった。しかし、近年、致死型の低ホスファターゼ症の患者さん2例に対して、健常人（提供者）の骨髄および骨、骨をつくる骨芽細胞や骨芽細胞のもと（起源）の細胞である間葉系幹細胞を移植することによりその提供者の細胞が患者さんの骨に到達（生着）して骨を作り、患者さんが救命されていることが報告されている。このことから、我々は2004年に同じ疾患の患者さんに骨髄移植、骨移植、間葉系幹細胞移植を行い、救命することができた。

現在、申請者らは、島根大学および産業技術総合研究所の共同研究で文部科学省・委託研究「平成20年度再生医療実現化プロジェクト」の1つである「**重度先天性骨代謝疾患に対する遺伝子改変間葉系幹細胞移植治療法の開発**」に参加して研究を進めている。具体的には、患者さん本人由来の間葉系幹細胞に正常のALP遺伝子を導入し、導入遺伝子の安全性を確認した上で患者に戻すという遺伝子細胞治療を開発し、同疾患の根治治療を行う予定である。しかし、現時点で遺伝子細胞治療を臨床応用できる段階ではない。したがって、提供者（健常人）からの間葉系幹細胞（他家細胞）を患者さんに移植する細胞治療することによって、重症低ホスファターゼ症の患者さんを救命することが期待されるため、今回、**骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植**を臨床研究として行う。

方法

患者さんが本学附属病院小児科を受診して、そのご家族が本治療に同意された後、患者さんに間葉系幹細胞を提供する最適な提供者をご家族の中から決定する。

提供者の骨髄を採取して、患者さんに骨髄移植を行う。また、採取された骨髄の一部を用いて産業技術総合研究所で間葉系幹細胞を培養・増殖して、患者さんに、適切な間葉系幹細胞を経静脈的に投与する。骨髄移植の前には、抗がん剤を投与して、骨髄および間葉系幹細胞移植の後に免疫抑制剤を投与して、移植された骨髄および間葉系幹細胞が拒絶されないようにする。その後、症状および骨の状態などをみて、間葉系幹細胞移植を繰り返す。

予定症例数

5例

国内外の研究状況, 学会等の見解

これまで、我々が経験した患者さんを含めて、3人の患者さんが骨髄移植、骨移植および骨芽細胞・間葉系幹細胞移植を施行して救命された。本疾患に対してこれらの治療を行った報告は3例しかないが、これらの治療以外で救命された例はない。そのため、本疾患へのこれらの治療への応用とその効果が期待されている。

実施期間

承認日から平成25年3月31日まで

5 研究等における倫理的配慮について

(1) 研究等の対象となる者の尊厳と人権の擁護

以下の内容を口頭で詳しく説明すると同時に、担当医は以下の内容を遵守する。1) 病名、推測される予後に関する説明および本治療の内容、2) 治療により期待される効果、有害事象、合併症、後遺症とその対処療法について、3) 費用負担と補償（間葉系幹細胞培養増殖にかかる費用は研究費でまかなわれること、健康被害が生じた場合の補償は一般診療での対処に準ずることなど、一般診療と同様であることの説明）、4) 代替治療法（現在行っている一般的治療法や標準治療法の内容、効果、毒性など、代替治療を選択した場合の利益と不利益）、5) 同意拒否と同意撤回（臨床試験参加に先立っての同意拒否が自由であること、いったん同意した後の同意の撤回も自由であり、それにより不当な診療上の不利益を受けないこと）、6) 人権保護（氏名や個人情報を守秘されるための最大限の努力が払われること）、7) 質問の自由（担当医の連絡先を文書で知らせ、治療内容について自由に質問できること）。

(2) 研究等の対象となる者に理解を求め同意を得る方法

担当医は患者本人と親権者（法定代理人）への添付の説明文に沿って内容を説明する。

ただし、今回の患者は幼少のため理解できないため、親権者（法定代理人）に対する説明となる。さらに、今回は骨髄提供者または提供者の親権者（法定代理人）に対する説明も要する。

説明を行った後に、内容の理解を確認した上で、添付書類の同意書を用いて、説明医師と、説明を受けた親権者および骨髄提供者または提供者の親権者（法定代理人）が日付を記載し、署名する。同意文書は2部複写し、1部は親権者および骨髄提供者または提供者の親権者（法定代理人）に手渡し、1部は研究責任者が保管する。原本はカルテに保管する。

（3）研究等の対象となる者の安全性の確保、不測の事態が発生した場合の対処法及び医学上の貢献度の予測

1) 安全性の確保

安全かつ適切に治療を行うため、薬剤投与は入院治療で行い、外来でも定期的に診察および検査を行う。

2) 不測の事態が発生した場合の対処法

副作用が生じた場合、治療を一時中断または投与量を減らす。また、それぞれの症状に対しての対処療法を行う。重篤な副作用の場合は、治療そのものを中止する。

3) 医学上の貢献度

本疾患は放置すると致死的な経過をとるため、救命するためには上記の治療を試みる価値があると思われる。骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行うにあたり、免疫抑制剤による副作用、拒絶反応などを合併する可能性が考えられる。これらに対して定期的検査、および適切な治療を行い、細心の注意を払って全身管理を行う。

現在、本疾患に対する根治的治療法はないため、これらの治療が成功した場合、同じ病気で苦しんでいる病気の子供たちへの応用が進み、生命予後の改善に大きく寄与することが予測される。

研究計画書

平成22年4月9日（提出）

1. 課題名

重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植

2. 研究の背景

低ホスファターゼ症とは、生まれつき骨を作るのに必要なアルカリホスファターゼ（ALP）という酵素が正常に働かないことにより、骨を作ることが障害される病気である¹⁻⁴。この病気の臨床像は、致死的なタイプから歯が抜けやすいだけのタイプまでさまざまである¹⁻⁴。致死型の患者は、乳幼児期に発症して、全身の骨が徐々に菲薄化して骨折しやすくなり、特に呼吸筋を支える肋骨などが骨折するために呼吸不全で死亡することが多い¹⁻⁴。この病気に対する現在の治療は、対処療法しか存在せず、有効な根治療法はない¹⁻⁴。しかし、近年、致死的な低ホスファターゼ症の患者に、健常人（提供者）の骨髄および骨をつくる骨芽細胞や骨芽細胞のもと（起源）の細胞である間葉系幹細胞を移植することによりその提供者の細胞が患者さんの骨に到達（生着）して骨を作り、患者が救命されていることが報告されている^{5,6}。このことから、我々は2004年に同じ疾患の患者さんに骨髄移植、骨移植、間葉系幹細胞移植を行い、患者さんを救命することができた⁷。

現在、申請者らは、島根大学および産業技術総合研究所の共同研究で文部科学省・委託研究「平成20年度再生医療実現化プロジェクト」の1つである「**重度先天性骨代謝疾患に対する遺伝子改変間葉系幹細胞移植治療法の開発**」（以下、再生医療プロジェクト）に参加して研究を進めている。具体的には、患者本人由来の間葉系幹細胞あるいは間葉系幹細胞由来iPS細胞に正常のALP遺伝子を導入し、導入遺伝子の安全性を確認した上で患者に戻すという遺伝子細胞治療を開発し、根治療法のない同疾患の根治治療を行う予定である。しかし、現時点で遺伝子細胞治療を臨床応用できる段階ではない。したがって、健常人（提供者）からの骨髄および間葉系幹細胞を患者さんに移植することによって、重症低ホスファターゼ症の患者さんを救命することが期待できるために、骨髄移植および間葉系幹細胞移植を臨床研究として開発する。

今回、骨髄移植および間葉系幹細胞を移植する理由は以下のとおりである。

- ① これまで細胞治療を行われた3例は全例骨髄移植が行われている。これは、間葉系幹細胞が拒絶されないために、免疫細胞である骨髄も間葉系幹細胞の提供者と同一とする必要があると考えられているからである。
- ② 骨髄移植後の間葉系幹細胞は患者由来であることが証明されている^{8,9}。そのため、骨髄移植だけでは間葉系幹細胞が提供者由来に変わらないため、骨髄移植と間葉系幹細胞移植を併用する必要がある。
- ③ ラットの試験において、同種の間葉系幹細胞移植は免疫抑制剤を用いることで間葉系

幹細胞移植は生存して、骨を形成することが明らかとなっている¹⁰。

- ④ 間葉系幹細胞移植は海外では造血幹細胞移植後の移植片対宿主病（GVHD）、クローン病、1型糖尿病、心血管障害、骨形成不全、先天性代謝疾患などの疾患に臨床応用されている¹¹⁻¹⁴。有効性は各疾患でばらつきがあるが、間葉系幹細胞を投与することの副作用はほとんどなく、安全に行われている¹¹⁻¹⁴。
- ⑤ 研究分担者である産業技術総合研究所・健康工学研究部門は、骨髄から間葉系幹細胞を培養増殖する経験を有している。約80例のさまざまな疾患を有した患者に対して、培養した間葉系幹細胞を移植している。
- ⑥ 骨髄移植は治療の方法や安全性が明らかとなっている。

3. 研究目的

根治療法のない致死的な重症低ホスファターゼ症の患者に提供者由来の間葉系幹細胞移植を行い、患者を救命すること。

4. 研究方法

1) 重症低ホスファターゼ症の診断

低ホスファターゼ症は、四肢の短縮や変形、易骨折性、体重増加不良、低身長などで発見されて、血清ALPが低いことで診断される¹⁻⁴。致死的なタイプは、周産期あるいは乳児期のいずれかに発症する¹⁻⁴。しかし、この時期に発症する患者の中には、成長とともに徐々に症状が改善するタイプが存在する²⁻⁴。血清ALPの値は重症な患者ほど低いが、その閾値を設定することはできない¹。現時点で重症度を決定する因子は、呼吸障害の有無およびALP遺伝子の変異部位である^{2,3,15-18}。呼吸障害は出生時から存在することもあるが、徐々に顕著化することもあるため、診断時に有用なのはALP遺伝子変異部位の同定である。そのため、今回の臨床研究は致死的な患者に限定されるため、致死的な患者を診断する必要がある。そのため、乳幼児期発症の患者において、ALP遺伝子の全領域の遺伝子解析を行い、重症なタイプのALP遺伝子変異を有する患者を同定する。また、骨髄穿刺により骨髄約2mlを採取して、産総研・健康工学研究部門での培養や分化誘導による間葉系幹細胞の増殖能や骨形成能を調べて、患者の間葉系幹細胞の機能評価を行う。

2) 対象

この臨床研究の対象者は、重症低ホスファターゼ症の患者である。これまでの報告および疫学調査から、対象患者の条件として、以下の4項目を満たすものとする^{1-4, 15-18}。

- ① 生後6か月以内に発症する
- ② 呼吸障害を合併している
- ③ ALP活性の低いALP遺伝子変異を有している
- ④ 間葉系幹細胞の骨形成能が低下している

3) 骨髄提供者の選定

本臨床研究は健常人の骨髄および間葉系幹細胞を用いる。間葉系幹細胞は骨髄に存在するため、健常人の骨髄を採取する必要がある。患者の家族（2親等以内）の中でこの病気ではない人から、最も適切な間葉系幹細胞をもつ人を症状および血液検査（ALP、肝機能、腎機能など）、ALP遺伝子検査から選定する。また、骨髄移植を併用するため、患者および骨髄提供者のHLA検査を行い、最適な提供者を決定する。

骨髄提供者の選定基準は、以下のとおりである。

- ① 患者のご家族（血縁関係のある2親等以内）である
- ② 症状および骨レントゲン、骨密度などから、骨形成が正常に行われている
- ③ ALP活性が正常である
- ④ ALP遺伝子が正常である、または、ALP遺伝子異常があってもALP活性が正常である
- ⑤ HLAが一致している、または、一致していなくても骨髄の生着や重篤な移植後合併症が起きる可能性が低い
- ⑥ 感染症マイナス(HIV(ヒト免疫不全ウイルス)、HBV(B型肝炎)、HCV(C型肝炎)、HTLV1(成人T細胞白血病ウイルス)検査結果陰性)である
- ⑦ その他、骨髄提供者として不適切な条件を有していない

骨髄提供者の優先順位は、両親がALP遺伝子異常を認めてもその表現型が正常であり、患者とのHLA不一致の程度が骨髄移植に耐えうる場合、両親のどちらかをドナーとする。しかし、両親のどちらも、ALP遺伝子変異を有し、かつ表現型が正常でない場合（症状がある場合）、HLA不一致の程度が高く骨髄移植の合併症であるGVHDや拒絶反応などの重篤な有害事象を発生する可能性が高い場合にのみ、未成年である同胞をドナーとする。この際は、未成年の人権保護に十分に留意して、親権者に説明する。なお、未成年者からの骨髄採取について、両親に説明して同意を得るだけでなく、可能な限り未成年者本人にも十分に説明する。この場合、15歳以上の場合には、本人の承諾を得て行う。本人の承諾のない場合には、骨髄提供者としない。15歳未満の場合には、年齢に応じて本人に理解できるように説明を試みて、可能な限り本人の承諾を得ることに努力する。さらに、未成年者が骨髄提供者になる場合、島根大学医の倫理委員会で骨髄提供者としての妥当性を審査して、また、ソーシャルワーカーあるいはコーディネーターから家族および未成年である提供者に説明を行った後に、未成年が提供者として適切かどうか決定する。

4) 骨髄提供者からの骨髄採取

最も適している間葉系幹細胞を有している健常人に骨髄採取の説明を行い、同意を得られた後、骨髄を採取する。骨髄提供者が未成年の場合、代諾者に説明して、同意を得る。骨髄採取は、無菌での操作が必要であるため、手術室あるいは無菌室で行う。骨髄採取量は100～120mlである。採取中の麻酔は骨髄提供者、小児科医師および麻酔科医師により決定される。採取方法は、骨髄提供者の腸骨から、1回の穿刺で約10mlの骨髄を採取する。

5) 骨髄移植

① 移植時期

重症低ホスファターゼ症は生後間もなくより呼吸障害が出現して1年以内に亡くなるため、診断が確定したら可及的速やかに移植を行う。

② 骨髄移植の前処置

骨髄提供者の骨髄を生着させる必要があるため、提供者の骨髄を移植する前に患者さんの骨髄を抗がん剤により排除する必要がある。抗がん剤として、ブスルファン (0.9-1mg/kg/dose×4回/day、4日間)、シクロフォスファミド (50mg/kg/dose、4日間)、抗胸腺グロブリン (1.25mg/kg/dose、4日間) を用いる。なお、患者の状態により、投与量および投与薬剤を変更することもある。

③ GVHD予防

骨髄生着により発症するGVHD予防に対して、メソトレキセート (10-15mg/kg/dose、4日間) およびタクロリムスを用いる。タクロリムスの投与量は、0.02~0.04 mg/kg/dayを経静脈的に投与するが、後述している通り、間葉系幹細胞の拒絶のためにもタクロリムスを使用するため、投与量や投与期間などは、間葉系幹細胞移植の状態を考慮して、患者ごとに調節する必要がある。状態が落ち着いてきた場合、タクロリムスは経口投与に変更する。

④ その他

骨髄移植を行うに当たり、抗がん剤の副作用対策 (制吐剤など) や感染対策 (無菌室、抗菌薬予防内服など)、輸血、栄養管理などは通常の骨髄移植に準じて行う。

5) 間葉系幹細胞の培養増殖

採取された骨髄は産業技術総合研究所・健康工学研究部門に搬送され、牛胎児血清を含んでいる液体培地を用いてフラスコ内で培養すると、約14日間で間葉系幹細胞が増殖する。この培養細胞の一部を後述6)のために保存する。治療に必要な十分な細胞数を得るため、増殖した細胞を分けて、複数の別のフラスコ内で約7日間代培養し、治療に使用する。この増殖した細胞の一部も同様に保存する。牛の血清を使用することで狂牛病との関連が危惧されているが、牛海綿状脳症の発生していない地域 (ニュージーランドあるいはオーストラリア) の牛の血清を使用すること、放射線照射などによる最大限の滅菌処理を行うことなどで可能な限りの対処を行う。

なお、間葉系幹細胞の品質等の確認、および間葉系幹細胞の調製機関として適正に関しては、調製機関である産業技術総合研究所の倫理委員会で審査して頂くこととする。

さらに、島根大学での骨髄の採取、産業技術総合研究所・健康工学研究部門への骨髄の搬送および同施設での間葉系幹細胞の培養増殖、調整された間葉系幹細胞の島根大学への搬送は、本研究の島根大学の研究分担者が行うこととする。

6) 間葉系幹細胞の保存および基礎的研究

培養された間葉系幹細胞の一部は安全性の確認のため、凍結して10年間保存する。さらに、余剰の細胞は基礎的研究に使用する。

7) 間葉系幹細胞移植

① 移植時期

重症低ホスファターゼ症は生後間もなくより呼吸障害が出現して1年以内に亡くなるため、診断が確定したら可及的速やかに移植を行う。

② 患者への間葉系幹細胞の投与

産総研で培養増殖された間葉系幹細胞を経静脈的に投与する。間葉系幹細胞の移植細胞数は患者の体重当たり10⁶個/kg以上を目標とする。

③ 免疫抑制剤の投与

同種移植を行う場合、提供者と患者の主要組織抗原（HLA）を合わせる必要がある。HLAが一致していない場合、拒絶反応が誘発される。間葉系幹細胞は、HLAクラス1の発現がないため、HLAが一致していなくても拒絶反応が起きにくい^{11,19}。しかし、長期に生存し、MSCの機能を維持するためには、免疫抑制剤が必要となる^{10,20,21}。上述したように、免疫抑制剤を長期に使用しなくても、提供者の細胞が骨を作っていることが報告されていること^{6,7}、また、免疫抑制剤を長期使用することによる副作用が懸念されることから、今回は、免疫抑制剤を造血幹細胞移植および臓器移植に準じて、6か月間期間使用することとする。免疫抑制剤の中で、タクロリムスは、間葉系幹細胞の骨への分化を促進し、ALP活性を増強させることが報告されている^{20,21}。また、タクロリムスは、乳児において造血幹細胞移植や臓器移植、ネフローゼ症候群などの免疫疾患に、数多く使用されており、その安全性と有効性が示されている²²⁻²⁶。以上より、今回の移植では、タクロリムスを使用する。

タクロリムスの投与量は、0.02～0.04 mg/kg/dayを経静脈的に投与する。治療濃度域と安全域が狭いため、血中濃度を測定して、trough値を造血幹細胞移植および臓器移植を参考にして、以下のように設定する。移植後180日より、漸減中止とする。しかし、前述したGVHD予防に対してもタクロリムスを使用するため、GVHDの程度などで、投与量や血中濃度などを患者ごとに調節する必要がある。

なお、タクロリムス中止後、間葉系幹細胞の生存率および骨形成能も低下して、症状および検査値が悪化する場合は、免疫用剤の投与の延長を検討する。

投与日程	タクロリムスのトラフ値 (ng/mL)
移植前日～移植後1週間	12～15
移植後1週間～30日	10～12
移植後30日～180日	5～10

8) 移植後の評価（移植後から6歳まで）

- ・臨床症状： バイタルサインおよび呼吸状態（毎日）
身体計測、成長・発達（月1回）
- ・検査： 週1回：ALP、カルシウム、リン、マグネシウム、
一般尿（沈査も含む）、尿中カルシウム/クレアチニン

月1回：尿中ホスホエタノールアミン、ピリドキサルリン酸、
NAPスコア、副甲状腺ホルモン、ビタミンD、
骨型ALP、オステオカルシン、尿中NTX、
尿中デオキシピリジノリン

適宜：末梢血、生化学、免疫グロブリン、
タクロリムスの血中濃度

成長ホルモン、甲状腺ホルモン、骨髄穿刺、骨生検

・画像： 月1回：全身骨レントゲン、胸部レントゲン、骨塩定量

・その他： 整形外科、歯科、眼科、脳外科、リハビリテーション

*なお、臨床研究が終了後、救命された場合、骨の発達などを観察する必要があるため、また、予期せぬ症状なども確認する必要があるため、6歳から18歳まで、年1回、以下の評価を行う。

・臨床症状： 身体計測、成長・発達（月1回）

・血液検査： 末梢血、生化学、免疫グロブリン、ALP、カルシウム、リン、
マグネシウム、ピリドキサルリン酸、NAPスコア、副甲状腺
ホルモン、ビタミンD、骨型ALP、オステオカルシン、成長ホ
ルモン、甲状腺ホルモン

・尿検査： 一般尿（沈査も含む）、尿中カルシウム/クレアチニン、尿中ホ
スホエタノールアミン、尿中NTX、尿中デオキシピリジノリン

・画像： 全身骨レントゲン、胸部レントゲン、骨塩定量

・その他： 整形外科、歯科、リハビリテーション

9) 副作用とその対策

骨髄および間葉系幹細胞を投与することで起こる副作用は、アレルギー反応が挙げられる。それに対しては、抗ヒスタミン剤およびステロイドを前投与して、予防する。

抗がん剤の副作用は、食欲低下、嘔気、嘔吐、下痢などの消化器症状、脱毛、骨髄抑制（貧血、血小板減少、白血球減少）が挙げられる。消化器症状に対して、高カロリー輸液、制吐剤、骨髄抑制に対して、輸血、感染予防（無菌室、抗菌薬投与など）で対応する。

骨髄移植後の副作用として、感染症とGVHDなどが挙げられる。感染症に対して、抗菌薬投与などで対応する。GVHDに対しては、免疫抑制剤を予防的に投与（メソトレキセートおよびタクロリムス）して、もしGVHDが発症した場合、ステロイドなどの他の免疫抑制剤の投与を検討する。

特に、タクロリムスの副作用は、腎障害、高血糖、中枢神経障害（頭痛、けいれんなど）、心不全、高血圧、低マグネシウム血症、高カリウム血症、高コレステロール血症、腹部膨満、下痢、多毛、手指の振戦、感染症などが挙げられる。これらの副作用は、血中濃度に比例するものが多いことから、血中濃度測定を定期的に行い、至適濃度内に管理する。また、症状を観察し、定期的な検査を行うことで、もし副作用が生じた場合、早期に副作用を発見し、対処する。感染症に関しては、抗菌薬内服などで予防に努める。

提供者の間葉系幹細胞が生着したかどうか判定するために、定期的に骨髄検査を行う。この疾患は骨が脆弱であるため、骨髄検査に伴う骨折の危険性がある。しかし、骨髄検査に精通した医師が行うこと、同じ疾患に骨髄検査を数回行ったが骨折などの有害事象が発生していないので、その可能性は低いと思われる。また、骨折が生じにくく、骨髄検査を行いやすい腸骨から骨髄検査を行う。もし、骨折が生じた場合、整形外科の医師とともに、その治療を行う。

10) 再移植の基準と方法

骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行った後に、症状が再燃した症例について、その後間葉系幹細胞のみを投与して症状が改善している^{5,7}。そのため、骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行った後に、呼吸状態の悪化、骨折、体重増加不良などの臨床症状の悪化がみられた場合に、間葉系幹細胞のみを再移植する。その時は、再度、説明した後、同意を取ってから移植を行う。移植の方法は、骨髄移植の骨髄提供者から再度骨髄を採取して、間葉系幹細胞の培養増殖を行った後、間葉系幹細胞のみを再移植する。投与方法及び免疫抑制剤の投与は、7) ②および③に準じて行う。

11) 重大な事態が生じた場合の対処方法

骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行うことにより重大な事態(重篤な有害事象、治療効果が得られない(致死)場合)、研究責任者は研究機関の長に対して、速やかに報告する。その場合、研究機関の長は、原因の分析を含む対処方針につき、速やかに倫理委員会などの意見を聴き、当該臨床研究の中止その他の暫定的な措置を講じるよう指示する。なお、研究責任者または研究機関の長は、必要に応じ、研究機関の長または倫理委員会の指示を受ける前に、当該臨床研究の中止その他の暫定的な措置を講じる必要がある。

8) 治療期間

承認日から平成25年3月31日

9) 治療場所

- (1) 島根大学医学部附属病院3階西病棟
- (2) 産業技術総合研究所 関西センター 尼崎事業所

10) 予定人数

5名

5. 倫理的配慮

ヘルシンキ宣言の趣旨に沿って治療を行う。患者本人が幼少のため親権者または法定代理人のみの説明となる。また、骨髄採取においては骨髄提供者または骨髄提供者が幼少

の場合はその親権者（法定代理人）に説明する。臨床研究を行うかどうかの決定は親権者または法定代理人の自由意思に基づき、いずれの決定を行っても、不利益を被ることはなく、また、親権者（法定代理人）の意思により、いつでも本治療を中断することが可能である。また、本治療の対象となられた方の名前、住所などの個人情報を特定できるデータは外部へ公表することは一切ない。

6. 治療成果の公表

本治療で得られた結果やデータは学会発表や学術論文として公表する。本研究の詳細な結果は公表されるが、その場合個人に関する情報としては、年齢・性別・疾患名のみであるので、個人情報に関して保護される。

7. 個人情報の保護

上述した通り、本治療で得られた結果やデータは学会や学術論文として公表する可能性があるが、個人の名前などは一切伏せられた状態で取り扱われる。従って、個人情報に関して保護される。また、資料の保存の際の匿名化も行う。具体的には、氏名・生年月日などの個人を特定できる情報をコード化して、患者に関する情報は情報管理者の責任の下で、書類・データベース等に厳重に保管する。

8. 知的財産権

本研究の結果として特許権などが生じる可能性があるが、その権利は、患者とその家族、骨髄提供者に帰属しない。

9. 費用負担

臨床研究にかかわる費用は研究費より支払う。しかし、家族負担が適切と考えられるものについては負担して頂く。

10. 予想される結果とこの研究の発展性

本疾患は放置すると致死的な経過をとるため、救命するためには上記の治療を試みる価値があると思われる。骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行うにあたり、免疫抑制剤による副作用、拒絶反応などを合併する可能性が考えられる。これらに対して定期的検査、および適切な治療を行い、細心の注意を払って全身管理を行う。

現在、本疾患に対する根治的治療法はないため、これらの治療が成功した場合、同じ病気で苦しんでいる病気の子供たちへの応用が進み、生命予後の改善に大きく寄与する

ことが予測される。

11. 研究体制

所 属	氏 名	役割分担
島根大学医学部附属病院輸血部・講師	竹谷 健	研究総括 骨髄採取 細胞培養
島根大学医学部小児科学講座・教授	山口 清次	研究総括 情報管理者
島根大学医学部小児科学講座・准教授	福田 誠司	遺伝子検査
島根大学医学部小児科学講座・講師	金井 理恵	移植医療 細胞培養
島根大学医学部小児科学講座・講師	鬼形 和道	間葉系幹細胞培養 遺伝カウンセリング [*] 骨代謝医療
島根大学医学部小児科学講座・助教	小林 弘典	骨代謝医療
島根大学医学部小児科学講座・助教	四本 由郁	新生児医療
産業技術総合研究所・産総研招聘研究員	大串 始	CPC運営細胞培養
産業技術総合研究所・主任研究員	服部 耕治	細胞培養
産業技術総合研究所・研究員	大西 弘恵	安全性試験
産業技術総合研究所・研究員	勝部 好裕	細胞培養
産業技術総合研究所・研究員	町田 浩子	細胞培養

文献

1. Whyte MP: Hypophosphatasia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B (eds); *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed, McGraw-Hill, 2001; Vol 4:5313-5329
2. Mornet E, Nunes ME: Hypophosphatasia. *GeneReviews*
3. Mornet E: Hypophosphatasia. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2008;22:113-127
4. 大藺恵一 : 低ホスファターゼ症の治療. *Clinical Calcium* 2007;17:1214-1219
5. Whyte MP, et al: Marrow cell transplantation for infantile hypophosphatasia. *J Bone Miner Res*. 2003;18:624-636
6. Cahill RA, et al: Infantile hypophosphatasia: transplantation therapy trial using bone fragments and cultured osteoblasts. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:2923-2930
7. Tadokoro M, et al: New bone formation by allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in a patient with perinatal hypophosphatasia. *J Pediatr*. 2009;154:924-930
8. García-Castro J, et al: Mesenchymal stem cells are of recipient origin in pediatric transplantations using umbilical cord blood, peripheral blood, or bone marrow. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2007;29:388-392.
9. Bartsch K, et al: Mesenchymal stem cells remain host-derived independent of the source of the stem-cell graft and conditioning regimen used. *Transplantation*. 2009;87:217-221.
10. Kotobuki N, et al: In vivo survival and osteogenic differentiation of allogeneic rat bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs). *Cell Transplant*. 2008;17:705-712
11. Abdallah BM, et al: The use of mesenchymal (skeletal) stem cells for treatment of degenerative diseases: current status and future perspectives. *J Cell Physiol*. 2009;218:9-12
12. Abdi R, et al: Immunomodulation by mesenchymal stem cells: a potential therapeutic strategy for type 1 diabetes. *Diabetes*. 2008;57:1759-1767
13. García-Olmo D, et al: A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's Fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum*. 2005;48:1416-1423
14. Koç ON, et al: Allogeneic mesenchymal stem cell infusion for treatment of metachromatic leukodystrophy (MLD) and Hurler syndrome (MPS-IH). *Bone Marrow Transplant*. 2002;30:215-222
15. Zurutuza L, et al: Correlations of genotype and phenotype in hypophosphatasia. *Hum Mol Genet*. 1999;8:1039-1046
16. Mornet E: Hypophosphatasia: the mutations in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene. *Hum Mutat*. 2000;15:309-315
17. Michigami T, et al: Common mutations F310L and T1559del in the tissue-

- nonspecific alkaline phosphatase gene are related to distinct phenotypes in Japanese patients with hypophosphatasia. *Eur J Pediatr.* 2005;164:277-282
18. Fauvert D, et al: Mild forms of hypophosphatasia mostly result from dominant negative effect of severe alleles or from compound heterozygosity for severe and moderate alleles. *BMC Med Genet.* 2009;10:51
 19. Le Blanc K, et al: HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol.* 2003; 31:890-896
 20. Isomoto S, et al: Rapamycin as an inhibitor of osteogenic differentiation in bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Orthop Sci.* 2007;12:83-88
 21. Dong J, et al: Osteoblastic differentiation and in vivo osteogenic activity of marrow-derived mesenchymal stem cells stimulated by tacrolimus: experiment with rats. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2007;87:190-194
 22. Moudgil A, et al: Tacrolimus in pediatric renal transplantation: a review. *Indian J Pediatr.* 1999;66:263-275
 23. Boucek Jr RJ, et al: Pediatric Heart transplantation. *Curr Opin Pediatr.* 2002;14:611-619
 24. McDiarmid SV: The use of tacrolimus in pediatric liver transplantation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1998;26:90-102
 25. Sabapathy C, et al: Tacrolimus with mini-methotrexate as prophylaxis for graft-versus-host disease in pediatric patients after allogeneic peripheral blood stem cell transplant or bone marrow transplant. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2008;30:945-949
 26. Choudhry S, et al: Efficacy and safety of tacrolimus versus cyclosporine in children with steroid-resistant nephrotic syndrome: a randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis.* 2009;53:760-769

研究協力依頼の説明書

島根大学医学部附属病院			
研究責任者	講師	竹谷	健
教授(又は所属の長)	教授	山口	清次

研究課題名

〔重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植〕

この説明書は上記課題に関する研究にご協力いただくための説明文書であり，平成22年2月18日に島根大学医学部医の倫理委員会で承認されたものです。

殿

1. 研究の目的及び方法

1) 研究の目的

低ホスファターゼ症は、骨を作るのに必要なアルカリホスファターゼという酵素が少なく骨ができない遺伝性の病気です。この酵素は骨を作る細胞である骨芽細胞の上で骨を作るために働きますが、この病気はこの酵素の異常により、骨芽細胞が新しい骨が作れず、骨がもろくなって骨折してしまいます。特に乳幼児期にこの病気が発症した患者さんで、呼吸障害があり、かつアルカリホスファターゼが少ない場合、乳児期早期に骨折、呼吸障害のために亡くなってしまいます。

現在、この病気が治る治療はありません。しかし、最近、致命的な低ホスファターゼ症の患者さんに骨髄移植、骨移植、骨芽細胞・間葉系幹細胞の移植によって救命され、正常に発達している例が報告されました。すなわち、まず健康人（提供者）の骨髄を移植し、その後提供者の骨を移植して、さらに、骨芽細胞や骨芽細胞のもと（起源）の細胞である間葉系幹細胞を移植することにより正常なアルカリホスファターゼを産生する骨芽細胞が患者さんの骨に到達（生着）して正常な骨を作り出すことができました。したがって、正常の骨を作る細胞を入れる（移植する）ことでこの病気の患者さんの命を救える可能性があります。そこで、今回、私たちは、骨髄移植と間葉系幹細胞移植を一緒に行うことで重症の患者さんを救命する治療法を開発したいと考えています。その理由として、以下のことが挙げられます。

- ① 治療の方法や安全性が明らかな骨髄移植を行い、間葉系幹細胞が拒絶されない環境を整えてから、間葉系幹細胞を移植することで間葉系幹細胞

が正常な骨を作ることができることが予想される。

- ② 骨髄移植と間葉系幹細胞移植をして症状が改善した患者さんがいる
- ③ 間葉系幹細胞を培養増殖する技術が確立している

しかし、確立した治療ではないことから、この病気の患者さんに対してこの治療をさせて頂くにあたり詳しく説明させていただきます。

2)方法

① 重症低ホスファターゼ症の診断

低ホスファターゼ症は、四肢の短縮や変形、易骨折性、体重増加不良、低身長などで発見されて、血清アルカリホスファターゼが低いことで診断されます。致死的なタイプは、周産期あるいは乳児期のいずれかに発症し、呼吸障害を認めかつ、アルカリホスファターゼの機能を低くする遺伝子異常を持っています。したがって、呼吸障害の有無およびアルカリホスファターゼの遺伝子の検査を行って、重症のタイプか調べます。この重症のタイプが今回の治療の適応となります。また、骨髄穿刺により骨髄を採取して、産総研・健康工学研究部門で間葉系幹細胞を増やし（培養）、間葉系幹細胞が増える能力および骨を作る能力を調べます。

② 対象者

今回の治療の対象者は、この病気で亡くなることが予想される患者さんです。具体的には、生後6か月以内に発病して、呼吸障害を認め、アルカリホスファターゼの機能を低くする遺伝子異常および骨を作る能力の低い間葉系幹細胞を持っている患者さんです。

③ 骨髄提供者の選定

この治療では健康な人の骨髄および間葉系幹細胞を使用します。間葉系幹細胞は骨髄に存在するため、ご家族（2親等内）の中の健康な人の骨髄を採取する必要があります。最も適切な骨髄および間葉系幹細胞を持つ人を症状および血液検査（感染症検査（HIV（ヒト免疫不全ウイルス）、HBV（B型肝炎）、HCV（C型肝炎）、HTLV1（成人T細胞白血病ウイルス）を含む）、アルカリホスファターゼ遺伝子の検査、自分と他人の違いを認識するHLA検査（骨髄移植の場合、HLAがなるべく一致していることが望まれます）から選びます。骨髄提供者の優先順位は、両親がアルカリホスファターゼ遺伝子異常を認めても骨などの症状が正常で、患者さんとのHLAが一致していなくても骨髄移植に耐えうる場合、両親のどちらかを骨髄提供者とさせていただきます。

しかし、**両親のどちらも当該疾患に関連する症状があったり（すなわち、アルカリホスファターゼの機能を著しく低くするアルカリホスファターゼ遺伝子異常を持っていたり）、HLAがかなり一致しておらず骨髄移植の合併症であるGVHDや拒絶反応などの重篤な有害事象を発生する可能性が高い場合にのみ、未成年である同胞（兄弟姉妹）を骨髄提供候補者とさせていただきます。**

万が一、未成年である同胞が骨髄提供候補者になる場合、未成年の人権保護に十分に留意して、ご両親に説明させていただきます。なお、未成年者で

ある骨髄提供候補者が自らの意思を表明できる場合は、その意思を尊重すること（意に反して提供させることのないよう）にいたします。なお、未成年者からの骨髄採取について、両親に説明して同意を得るだけでなく、可能な限り未成年者本人にも十分に説明致します。この場合、15歳以上の場合には、本人の承諾を得て行います。本人の承諾のない場合には、骨髄提供者としません。15歳未満の場合には、年齢に応じて本人に理解できるように説明を試み、可能な限り本人の承諾を得ることに努力します。さらに、未成年者が骨髄提供者になる場合、島根大学医の倫理委員会で骨髄提供者としての妥当性を審査して、また、ソーシャルワーカーあるいはコーディネーターから家族および未成年である提供者に説明を行った後に、未成年が提供者として適切かどうか決定します。

④ 骨髄提供者からの骨髄採取

最も適している間葉系幹細胞を持っているご家族（2親等内）の中の健康な人に骨髄採取の説明を行い、同意を得られた後、骨髄を採取します。骨髄採取は、無菌での操作が必要であるため、手術室あるいは無菌室で行います。骨髄採取量は100-120mlです。採取中の麻酔は骨髄提供者（もしくはそのご家族）、小児科医師および麻酔科医師の診察などにより決まります。

⑤ 骨髄移植

正常なアルカリホスファターゼを持った間葉系幹細胞を患者さんの骨に生着させ、正常に機能させるためには、正常に機能している間葉系幹細胞を持った適切な提供者から間葉系幹細胞を供与して頂く必要があります。提供者が決定すれば、間葉系幹細胞を提供者の腰の骨（腸骨）から採取して、患者さんに点滴で（経静脈的に）投与します。しかし、患者さんに提供者の間葉系幹細胞をそのまま投与すると、投与された間葉系幹細胞は他人の細胞であるため、拒絶反応のために投与された正常な間葉系幹細胞が壊されてしまいます。したがって、間葉系幹細胞が拒絶されないように、患者さんの拒絶反応などの免疫の働きを持っている血液細胞を提供者のものに置き換えておく必要があります。そのために、血液細胞を有している骨髄を移植することが必要となります。

具体的には、抗がん剤を使って、患者さんの血液細胞をなくします。その後、提供者から採取された骨髄液を経静脈的に投与することによって、提供者の血液細胞に置き換えます。

⑥ 間葉系幹細胞の培養増殖

採取された骨髄は産業技術総合研究所・健康工学研究部門に搬送されます。牛胎児血清を含んでいる液体培地の中に骨髄を培養すると、1ヶ月頃までに間葉系幹細胞が増えてきます。なお、牛の血清を使用することで狂牛病との関連が危惧されています。牛海綿状脳症の発生していない地域（ニュージーランドあるいはオーストラリア）の血清で、放射線照射処理済みのものを使用することなどで可能な限りの対処を行います。なお、万が一、増やした間葉系幹細胞に細菌などが混入した場合、その細胞は廃棄し、再度、骨髄提供者から骨髄を採取して、新たに間葉系幹細胞を調整し

ます。

⑦ 間葉系幹細胞移植

産総研で増やした間葉系幹細胞を患者さんの静脈に点滴で投与します。その後、患者さんの体内に入った間葉系幹細胞が長期間正常に働くために、免疫抑制剤（タクロリムス、プログラフ®）を点滴または内服で使用します。使用期間は移植後半年までです。しかし、症状や検査の値によって、使用期間が延長することがあります。移植を行ったあと、定期的に診察、血液検査、尿検査、レントゲン検査などを行い、注意深く経過を観察致します。

⑧ 再移植

呼吸状態の悪化、骨折、体重増加不良などの臨床症状の悪化がみられた場合に、同じ方法で間葉系幹細胞移植を行うことがあります。その時は、再度、説明して同意を取らせて頂きます。

2. 予期される効果, 並びに危険性とその対処方法

1) 予期される効果

これらの治療が成功した場合、患者さんは数か月後に徐々に骨が強くなり、自分で呼吸できるようになります。その後、からだの大きさは小柄となる可能性があります、知能は正常に発達することが予想されます。

2) 危険性とその対処方法

骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行うにあたり以下に示すような副作用、合併症、後遺症の危険性があります。その危険性が最小限になるように以下に示すような対処を行い、最善を尽くします。

① 骨髄移植

1) 抗腫瘍剤による副作用

- ・骨髄抑制による赤血球減少（貧血）、白血球減少、血小板減少
→輸血、白血球を増加させる薬で対処します。
- ・消化器症状：悪心、嘔吐、下痢、食欲低下、口内炎など
→輸液、制吐剤投与などで対処します。
- ・肝機能障害、腎機能障害など
→その時点で原因を調べて、原因に対する適切な治療を行います。

2) 移植片対宿主病（GVHD）

- ・提供者の免疫担当細胞が患者さんの臓器（主に肝臓、腸管、皮膚）を攻撃して生じる病気です。
→移植後、免疫抑制剤を投与してこの病気を予防します。もし発症した場合、免疫抑制剤を増量あるいは変更して対処します。

3) 感染症

- ・白血球が少ない時期や、免疫抑制剤を投与している時期は、感染しやすい

状態です。特に、通常ならば感染しない弱いウイルスや細菌などに感染しやすくなります。

→抗ウイルス薬などの予防投与を行います。もし、発症した場合、感染源を明らかにして、その治療を行います。

4) 拒絶反応

- ・提供者の血液細胞を患者さんが拒絶してしまう場合があります。

→原因を確かめて、最善の治療を行います。

5) その他

- ・呼吸障害、血管障害など

→それぞれの状態を正確に把握して、最善を尽くします。

特に、現在すでに呼吸を補助している状態であり、肺炎などの感染に伴う呼吸不全を起こす危険があります。

② 間葉系幹細胞移植

間葉系幹細胞を投与することで起こる副作用は、アレルギー反応があります。これに対しては、間葉系幹細胞を移植する前にアレルギーを抑える薬（抗ヒスタミン剤およびステロイド）を投与して、予防します。

③ 免疫抑制剤

今回の骨髄移植のGVHD予防および間葉系幹細胞移植の拒絶予防に対して、タクロリムスという免疫抑制剤を使用します。タクロリムス（プログラフ®）の副作用は、腎障害、高血糖、中枢神経障害（頭痛、けいれんなど）、心不全、高血圧、低マグネシウム血症、高カリウム血症、高コレステロール血症、腹部膨満、下痢、多毛、手指の振戦、感染症などが挙げられます。これらの副作用は、血中濃度に比例するものが多いことから、血中濃度測定を定期的に行い、至適濃度内に管理します。また、症状を観察し、定期的な検査を行うことで、もし副作用が生じた場合、早期に副作用を発見し、対処します。また、感染症に関しては、抗菌薬内服などで予防に努めます。

④ その他

提供者の間葉系幹細胞が生着したかどうか判定するために、定期的に骨髄検査を行います。この疾患は骨が弱いため、骨髄検査に伴う骨折の危険性があります。しかし、骨髄検査に精通した医師が行うこと、同じ疾患に骨髄検査を数回行ったが骨折などの有害事象が発生していないので、その可能性は低いと思われれます。また、骨折が生じにくく、骨髄検査を行いやすい腸骨から骨髄検査を行います。もし、骨折が生じた場合、整形外科の医師とともに、その治療を行います。

3. 間葉系幹細胞の保存および基礎的研究

培養された間葉系幹細胞の一部は安全性の確認のため、凍結して10年間保存します。さらに、余った細胞は基礎的研究に使用させていただきます。

4. 費用負担とその補償

臨床研究にかかわる費用は研究費でまかなわれます。臨床研究に使用された臨床研究用医薬品或いはそれに関連する医療行為による副作用の補償に対する保険への加入が義務付けられています。万一あなたのお子さんに健康被害が生じた場合、その保険から医療費などを負担します。しかし、この臨床研究に対して、保険を引き受ける保険会社がなかった場合は、この治療により生じる副作用に対する費用補償を行うことができません。

5. 当該疾患に対する他の治療法の有無及びその方法

現在の段階では、重症低ホスファターゼ症において上記の治療以外で救命できた例はありません。

6. 研究への協力に同意した後であっても、自らの自由意思でいつでも同意を撤回でき、また、そのことによって不利益を受けないこと。

本治療への参加の同意はご家族の自由意志であり、同意しない場合でも不当な診療上の不利益を受けるものではありません。同意後も、ご家族（またはあなたのお子さん）の意志によりいつでも撤回することができ、それによる不利益を受けることはありません。

7. 研究成果の公表と個人情報の保護

本治療で得られた結果やデータは学会や学術論文として公表する可能性があります。従って、あなたのお子さんの名前などは一切伏せられた状態で取り扱われます。従って、あなたのお子さんの人権は守られ、あなたのお子さんの個人情報に関わるすべての秘密を保証します。また、資料の保存の際に、匿名化を行います。具体的には、氏名・生年月日などの個人を特定できる情報をコード化して、あなたのお子さんに関する情報は情報管理者の責任の下で、書類・データベース等に厳重に保管させていただきます。

8. 知的財産権に関して

本研究の結果として特許権などが生じる可能性があります。その権利は、患者さんとその家族、骨髄提供者に帰属しません。

9. 研究に対するご相談の体制

本治療に対して疑問がある場合には、担当の先生に何でもいつでも質問し、説明を受けてください。また、担当の先生にお聞きになりにくいことや、本治療の責任者に直接質問されたい場合は、下記の研究代表者までお問い合わせください。以上の点をご理解いただいたうえで、研究へのご協力をお願い申し上げます。なお、今後、この件に関してのお問い合わせは、以下にお願いいたします。

研究代表者：竹谷健 島根大学医学部附属病院輸血部・講師
〒693-8501 島根県出雲市塩冶町89-1
TEL：0853-20-2409 FAX：0853-20-2409
E-mail ttaketani@med.shimane-u.ac.jp

説明日：平成 年 月 日

説明者
電話番号：0853-20-2409

同意書（患者さんご家族）

島根大学医学部長 殿

私は、「**重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植**」の実施計画について、平成22年2月18日に島根大学医学部医の倫理委員会で承認された説明書により、事前に十分な説明を受けました。さらに（説明者 _____）から、平成 _____年 _____月 _____日に、再度、説明書に基づいて次の事項について十分な説明を受け理解しましたので、研究に協力することに同意いたします。

説明を受けて理解した項目（□の中に✓を入れてください）

- 研究の目的及び方法
- 予期される効果、並びに危険性とその対処方法
- 基礎的研究
- 費用負担とその補償
- 当該疾患に対する他の治療法の有無及びその方法
- 研究への協力に同意した後であっても、自らの自由意思でいつでも同意を撤回でき、また、そのことによって不利益を受けないこと。
- 研究成果の発表および個人情報の保護に関すること。
- 研究に関するあらゆる疑問に対して、いつでも研究責任者である（輸血部・講師 竹谷健）から追加説明を受けられること

上記の内容を理解しましたので、下記のように返答致します。

- 骨髄移植併用間葉系幹細胞移植および基礎的研究に同意します。
- 骨髄移植併用間葉系幹細胞移植には同意しますが、基礎的研究は拒否します。

平成 _____年 _____月 _____日

同意者（本人） _____ [自署]
住所 _____

代諾者（続柄： _____） _____ [自署]
住所 _____

（同意書を提出した後、同意を撤回される場合は、下記に署名の上、ご提出ください。）

島根大学医学部長 殿

私は、「**重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植**」の研究協力を、平成 _____年 _____月 _____日に同意いたしましたが、これを撤回します。

平成 _____年 _____月 _____日

同意者（本人） _____ [自署]
住所 _____

代諾者（続柄： _____） _____ [自署]
住所 _____

研究協力依頼の説明書

島根大学医学部附属病院			
研究責任者	講師	竹谷	健
教授(又は所属の長)	教授	山口	清次

研究課題名

〔重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植〕 に対する骨髄採取

この説明書は上記課題に関する研究にご協力いただくための説明文書であり、平成22年2月18日に島根大学医学部医の倫理委員会で承認されたものです。

殿

1 はじめに

低ホスファターゼ症は、骨を作るのに必要なアルカリホスファターゼという酵素が少なく骨ができない遺伝性の病気です。この酵素は骨を作る細胞である骨芽細胞の上で骨を作るために働きますが、この病気はこの酵素の異常により、骨芽細胞が新しい骨が作れず、骨がもろくなって骨折してしまいます。特に乳幼児期にこの病気が発症した患者さんで、呼吸障害があり、かつアルカリホスファターゼが少ない場合は、呼吸障害のために生後1年以内に亡くなってしまいます。現在のところ、この病気を治す治療はありません。しかし、最近、骨髄移植、骨移植、骨を作る細胞（骨芽細胞・間葉系幹細胞）の移植によって命が助かり、体は小柄ですが知能は正常に発達している患者さんが報告されました。そこで、今回、私たちは、骨髄および間葉系幹細胞を患者さんに移植することで、患者を救命する治療法を開発したいと考えています。

この治療を行うには、正常に機能するアルカリホスファターゼを持った骨髄および間葉系幹細胞を持っている人からこれらの細胞を供与して頂く必要があります。間葉系幹細胞は骨髄の中に存在することから、健康な人から骨髄採取という方法で骨髄を頂く必要があります。この骨髄採取をさせて頂くにあたり説明させて頂きます。

なお、骨髄提供者の選定基準は以下の通りです。

- ① 患者のご家族（2親等以内）である
- ② 症状および骨レントゲン、骨密度などから、骨形成が正常に行われている
- ③ ALP活性が正常である
- ④ *ALP*遺伝子が正常である、または、*ALP*遺伝子異常があってもALP活性が正

常である

- ⑤ HLA が一致している、または、一致していなくても骨髄の生着や重篤な移植後合併症が起きる可能性が低い
- ⑥ 感染症マイナス(HIV(ヒト免疫不全ウイルス)、HBV(B型肝炎)、HCV(C型肝炎)、HTLV1(成人T細胞白血病ウイルス)検査結果陰性)である
- ⑦ その他、骨髄提供者として不適切な条件を有していない

骨髄提供者の優先順位は、両親がアルカリホスファターゼ遺伝子異常を認めても骨などの症状が正常で、患者さんとのHLAが一致していなくても骨髄移植に耐えうる場合、両親のどちらかを骨髄提供者とさせていただきます。しかし、両親のどちらも、アルカリホスファターゼの機能を著しく低くするアルカリホスファターゼ遺伝子異常を持っていたり、HLAがかなり一致しておらず骨髄移植の合併症であるGVHDや拒絶反応などの重篤な有害事象を発生する可能性が高い場合にのみ、未成年である同胞（兄弟姉妹）を骨髄提供者とさせていただきます。万が一、未成年である同胞が骨髄提供者になる場合、未成年の人権保護に十分に留意して、ご両親に説明させていただきます。

この治療では健康な人の骨髄および間葉系幹細胞を使用します。間葉系幹細胞は骨髄に存在するため、ご家族（2親等内）の中の健康な人の骨髄を採取する必要があります。最も適切な骨髄および間葉系幹細胞を持つ人を症状および血液検査（感染症検査（HIV（ヒト免疫不全ウイルス）、HBV（B型肝炎）、HCV（C型肝炎）、HTLV1（成人T細胞白血病ウイルス）を含む）、アルカリホスファターゼ遺伝子の検査、自分と他人の違いを認識するHLA検査（骨髄移植の場合、HLAがなるべく一致していることが望まれます）から選びます。骨髄提供者の優先順位は、両親がアルカリホスファターゼ遺伝子異常を認めても骨などの症状が正常で、患者さんとのHLAが一致していなくても骨髄移植に耐えうる場合、両親のどちらかを骨髄提供者とさせていただきます。

しかし、両親のどちらも当該疾患に関連する症状があったり（すなわち、アルカリホスファターゼの機能を著しく低くするアルカリホスファターゼ遺伝子異常を持っていたり）、HLAがかなり一致しておらず骨髄移植の合併症であるGVHDや拒絶反応などの重篤な有害事象を発生する可能性が高い場合にのみ、未成年である同胞（兄弟姉妹）を骨髄提供候補者とさせていただきます。

万が一、未成年である同胞が骨髄提供候補者になる場合、未成年の人権保護に十分に留意して、ご両親に説明させていただきます。なお、未成年者である骨髄提供候補者が自らの意思を表明できる場合は、その意思を尊重すること（意に反して提供させることのないよう）にいたします。なお、未成年者からの骨髄採取について、両親に説明して同意を得るだけでなく、可能な限り未成年者本人にも十分に説明致します。この場合、15歳以上の場合には、本人の承諾を得て行います。本人の承諾のない場合には、骨髄提供者としません。15歳未満の場合には、年齢に応じて本人に理解できるように説明を試み、可能な限り本人の承諾を得ることに努力します。さら

に、未成年者が骨髄提供者になる場合、島根大学医の倫理委員会で骨髄提供者としての妥当性を審査して、また、ソーシャルワーカーあるいはコーディネーターから家族および未成年である提供者に説明を行った後に、未成年が提供者として適切かどうか決定します。

2 目的

重症低ホスファターゼ症の患者さんに骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行うために、骨髄を採取させていただきます。

3 方法

骨髄採取をさせて頂く前に、骨髄採取を行うための諸検査（尿検査、血液検査（感染症検査（HIV（ヒト免疫不全ウイルス）、HBV（B型肝炎）、HCV（C型肝炎）、HTLV（成人T細胞白血病ウイルス）を含む）、心電図、胸部レントゲン写真撮影など）を行わせて頂き、これらの検査に異常がないことを確認します。

骨髄採取は、無菌での操作が必要であるため、手術室または無菌室で行います。骨髄採取量は100～120mlです。採取中の麻酔は骨髄提供者（あるいはそのご家族）、小児科医師および麻酔科医師の相談の上で決まります。

採取された骨髄液は骨髄移植に用いて、その一部は間葉系幹細胞を増やすために使用されます。試験管内で増えた間葉系幹細胞を患者さんに移植します。

患者さんの状態およびによっては、繰り返し間葉系幹細胞を移植する必要があるため、また、試験管内で増えた間葉系幹細胞に細菌などが混入した場合、その細胞は破棄するため、再度骨髄採取を行わせて頂くことがあります。その時は、再度、説明して同意を取らせて頂きます。

4 予期される効果

これらの治療が成功した場合、患者さんは数か月後に徐々に骨が強くなり、自分で呼吸できるようになります。その後、身体のサイズは小柄となる可能性があります。知能は正常に発達することが予想されます。

5 危険性とその対処方法

これまでの報告では骨髄採取の合併症として、採取部位の痛みおよび出血、発熱、排尿時痛、肝機能障害などが挙げられます。麻酔による重大な事故は極めて低率ではありますが一定の確率で起こっていることは事実です。これらが生じた場合、全力を挙げて適切な治療をさせていただきます。なお、これまで骨髄採取時の全身麻酔は全世界で5万件以上といわれていますが、死亡事故は2件報告されています。

6 基礎的研究

培養された間葉系幹細胞の一部は安全性の確認のため、10年間凍結保存します。さらに、余った細胞は基礎的研究に使用させていただきます。

7 費用負担とその補償

骨髄採取にかかわる費用は研究費でまかなわれます。臨床研究に使用された臨床研究用医薬品或いはそれに関連する医療行為による副作用の補償に対する保険への加入が義務付けられています。万一あなた（あなたのお子さん）に健康被害が生じた場合、その保険から医療費などを負担します。しかし、この臨床研究に対して、保険を引き受ける保険会社がなかった場合は、この治療により生じる副作用に対する費用補償を行うことができません。

8 当該疾患に対する他の治療法の有無及びその方法

現在の段階では、重症低ホスファターゼ症において上記の治療以外で救命できた例はありません。

9 骨髄採取を受けることに同意した後であっても、自由意思でいつでも同意を撤回でき、また、そのことによって不利益を受けないこと。

骨髄採取を受けることに同意された後でも、ご本人の自由意思によっていつでも撤回できます。また、その場合でも、患者さんの状態に応じて、できる限りの治療は続けます。したがって、この骨髄採取を撤回された場合でも、いかなる不利益を受けることはありません。

10 個人情報の保護に関すること

骨髄採取で得られた結果やデータは学会発表や学術論文として公表されることがあります。その場合、患者さんや提供者の名前などは一切伏せられた状態で取り扱われます。したがって、患者さんおよびご家族、提供者の人権は守られ、個人情報に関するすべての秘密は保証します。また、資料の保存の際に、匿名化を行います。具体的には、氏名・生年月日などの個人を特定できる情報をコード化して、あなた（あなたのお子さん）に関する情報は情報管理者の責任の下で、書類・データベース等に厳重に保管させていただきます。

11 知的財産権に関して

本研究の結果として特許権などが生じる可能性があります。その権利は、患者さんとその家族、骨髄提供者に帰属しません。

12 骨髄採取についてのご相談

本治療に対して疑問がある場合には、担当の先生にいつでも何でも質問し、説明を受けてください。また、担当の先生にお聞きになりにくいことや、本治療の責任者に直接質問されたい場合は、下記の研究代表者までお問い合わせください。以上の点をご理解いただいたうえで、研究へのご協力をお願い申し上げます。

げます。なお、今後、この件に関してのお問い合わせは、以下にお願いいたします。

研究代表者：竹谷健 島根大学医学部附属病院輸血部・講師
〒693-8501 島根県出雲市塩冶町89-1
TEL：0853-20-2409 FAX：0853-20-2409
E-mail ttaketani@med.shimane-u.ac.jp

説明日：平成 年 月 日

説明者
電話番号：0853-20-2409

同意書（骨髄提供者様）

島根大学医学部長 殿

私は、「**重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植**」の骨髄採取について、平成22年2月18日に島根大学医学部医の倫理委員会で承認された説明書により、事前に十分な説明を受けました。さらに（説明者 _____）から、平成 ____年 ____月 ____日に、再度、説明書に基づいて次の事項について十分な説明を受け理解しましたので、研究に協力することに同意いたします。

説明を受けて理解した項目（□の中に✓を入れてください）

- 研究の目的及び方法
- 予期される効果，並びに危険性とその対処方法
- 基礎的研究
- 費用負担とその補償
- 当該疾患に対する他の治療法の有無及びその方法
- 研究への協力に同意した後であっても，自らの自由意思でいつでも同意を撤回でき，また，そのことによって不利益を受けないこと。
- 研究成果の発表および個人情報の保護に関すること。
- 研究に関するあらゆる疑問に対して，いつでも研究責任者である（輸血部・講師 竹谷健）から追加説明を受けられること

上記の内容を理解しましたので、下記のように返答致します。

- 骨髄採取および基礎的研究に同意します。
- 骨髄採取には同意しますが、基礎的研究は拒否します。

平成 ____年 ____月 ____日

同意者（本人） _____〔自署〕
住所 _____

代諾者（続柄： _____） _____〔自署〕
住所 _____

(同意書を提出した後、同意を撤回される場合は、下記に署名の上、ご提出ください。)

島根大学医学部長 殿

私は、「**重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植**」の骨髄採取に、平成 ____年 ____月 ____日に同意いたしましたが、これを撤回します。

平成 ____年 ____月 ____日

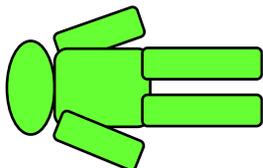
同意者（本人） _____〔自署〕
住所 _____

代諾者（続柄： _____） _____〔自署〕
住所 _____

重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植

島根大学

重症低ホスファターゼ症
の診断



① レントゲン検査

② 血液検査

③ 遺伝子検査

血液

骨髄

④ 骨形成能検査

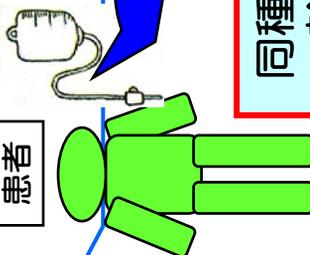


セルプロセッシング
センター

対象患者
生後6か月以内の発症
呼吸障害を認める
ALP活性の低いALP遺伝子異常
骨髄間葉系幹細胞の骨形成能低下

患者

移植



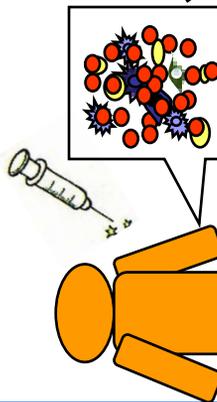
同種骨髄間葉系
幹細胞移植

同種骨髄移植

培養



骨髄間葉系幹細胞



骨髄採取

患者家族
(骨髄提供者)

産総研

平成22年4月21日

奈良県立医科大学から申請のあったヒト幹細胞
臨床研究実施計画に係る意見について

ヒト幹細胞臨床研究に関する
審査委員会

委員長 永井良三

奈良県立医科大学から申請のあった下記のヒト幹細胞臨床研究実施計画について、本審査委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりとりまとめたので報告いたします。

記

1. 顎骨嚢胞摘出後の骨欠損を対象とした自己骨髄培養細胞由来再生培養骨の有用性を検証する研究
申請者：奈良県立医科大学 学長 吉岡 章
申請日：平成21年8月31日

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	顎骨嚢胞摘出後の骨欠損を対象とした自己骨髄培養細胞由来再生培養骨の有用性を検証する研究
申請年月日	平成21年8月31日
実施施設及び研究責任者	実施施設：奈良県立医科大学 研究責任者：桐田 忠昭
対象疾患	顎骨嚢胞
ヒト幹細胞の種類	骨髄由来間葉系細胞
実施期間及び対象症例数	登録期間 承認後5年間 培養骨移植群10症例、自家骨移植群10症例
治療研究の概要	本研究は、自家骨移植が必要な比較的規模の大きな顎骨嚢胞に対して、自己骨髄培養細胞由来再生培養骨を用いて骨欠損部への補填を行う治療法の開発を行う。患者自身の骨髄細胞から分離・培養して得られた骨芽細胞とセラミックを複合化することにより得られる培養骨移植法が自家骨移植法の代替法となり得るか検討する。
その他（外国での状況等）	奈良県立医科大学整形外科学講座では、大腿骨壊死に対して自己骨髄培養細胞の臨床研究が行われた。ドイツではPradelらが、骨髄培養細胞の顎骨疾患へ応用した報告がある。ともに、数例の症例報告がみられる段階にとどまる。
新規性について	本研究は顎骨疾患への応用に関して、骨髄由来間葉系細胞と人工骨を用いることに新規性が認められる。

2. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会における審議概要

1) 第1回審議

①開催日時：平成21年10月7日（水）17:00～19:00

（第9回 ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会）

②議事概要

平成21年8月31日付けで奈良県立医科大学から申請のあったヒト幹細胞臨床研究実施計画「顎骨良性腫瘍、顎骨腫瘍類似疾患を対象とした自己骨髄培養細胞由来再生培養骨の有用性を検証する研究」（対象疾患：顎骨良性腫瘍、顎骨腫瘍類似疾患）について、申請者からの提出資料を基に、指針への適合性に関する議論が行われた。

各委員からの疑義・確認事項については、事務局で整理の上申請者に確認を依頼することとし、その結果を基に再度検討することとした。

（本審査委員会からの主な疑義・確認事項）

1. プロトコールについて

- 自家培養骨の定義を明らかにして、インフォームドコンセントにもわかりやすく反映していただきたい。
- 症例選択の基準として、骨欠損のサイズ、周囲骨との立体的関係を記載して、客観性を明らかにしていただきたい。
- 適応に良性疾患があるが、悪性疾患以外で高頻度に再発する疾患は適応除外にすべき。
- 切除手術をおこなってから、この臨床試験（骨の細胞治療）を開始するまでの期間を明記する必要がある。

2. 研究体制について

- 産総研との共同研究契約では、医師が赴いて自ら細胞を培養することと、産総研のCPCの入退室管理システムなどによりそのことを記録保管することは可能か。

3. 品質・安全性について

- 培養で用いたゲンタマイシンについて、移植時の残存量について示してください。
- MSCは増幅培養（約2+1週間）、分化培養工程（約2週間）とされていますが、それぞれ次の工程へ移るための基準を明らかにしてください。また、もし増幅が遅くなった場合等の対処基準も明らかにしてください。
- 搬出工程について、担当医が品質試験の結果を見て搬出の可否判定を行うとありますが、その基準等を明らかにしてください。
- エンドトキシンについて、最終製品での試験を行うこと。ウイルス等の試験方法を説明してください。また、マイコプラズマ否定試験については、PCR法で妥当とする根拠を説明してください。
- クーラーボックスでの搬送の際に、安全性に問題はないか。また、搬送中

にクーラーボックス内の温度が異常であった場合を想定し、移植を実施する前に奈良県立医大で搬送中の温度記録の確認を行うことが推奨される。

4. インフォームドコンセントについて

- 患者の選択により治療方法を決定することを明示し、それぞれの治療法について詳しく説明を求める。
- 被試験者への説明文に、細胞治療がおこなえなかった場合の対処方法も記載して欲しい。

2) 第2回審議

- ①開催日時： 平成22年1月7日（木）16:00～18:00
（第10回 ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会）

②議事概要

前回の審議における本審査委員会からの確認に対し、奈良県立医科大学から回答書及び追加資料が提出されたことを受けて、引き続き実施計画の指針への適合性について、第2回目の審議を行った。

各委員からの疑義・確認事項については、事務局で整理の上申請者に確認を依頼することとし、その結果を基に再度検討することとした。

（本審査委員会からの主な疑義・確認事項）

1. プロトコールについて

- 高頻度に再発する良性腫瘍は適応疾患から除外すべきである。なぜなら、再発に対する治療の影響を評価する事が困難であり、副作用としての腫瘍増殖を否定することも難しいと考えられるためである。
- 高頻度に再発する良性腫瘍に対しては腫瘍摘出と同時に移植せずに、一定の経過観察期間後に再発を否定した上で移植治療を行うなどの配慮が必要。
- 高頻度に再発する良性腫瘍を適応に加える正当な理由がある場合には、その正当な理由を記載した上で、
 - ①有害事象（腫瘍再発）と治療の関係を確認するためのプロトコールに変更し、安全性の評価を主目的にすべき。
 - ②説明同意文書に腫瘍の再発率を記載し、被験者に治療による影響が不明であることを十分に説明する必要がある。
 - ③腫瘍再発に対する治療方法を明らかにして、被験者の安全を保証していただきたい。

2. 品質・安全性について

- エンドトキシンの汚染は、原料や用いる基材からの汚染のほか、細胞培養工程を含めた加工段階での混入も想定される。最終製品を用いてエンドトキシンを測定しておくことは必要。
- 日本薬局方では、PCR法はあくまでも補助的な手法と位置づけられており、またその使用に当たっては試験の判定結果がマイコプラズマの否定につながる

とする妥当性を示されなければならないとしている。

○ エンドトキシン試験、マイコプラズマ試験の結果が投与後に明らかになることがあると思われるがそのときの対応もそれぞれ追記していただきたい。

3) 第3回審議

①開催日時： 平成22年4月2日(金) 15:00~17:00

(第11回 ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会)

②議事概要

前回の審議における本審査委員会からの確認に対し、奈良県立医科大学から回答書及び追加資料が提出されたことを受けて、第3回目の審議を行った結果、当該ヒト幹細胞臨床研究実施計画を了承し、次回以降の科学技術部会に報告することとした。

3. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会における審議を踏まえた第1回審議時からの実施計画及び被験者への同意説明文書などの主な変更内容

(実施計画書)

- 患者さん自身の骨髄から骨を作る細胞を取り出し、体の外で骨を作ったものを再生培養骨と定義し、それを患部に移植することとした。
- 対象疾患から良性腫瘍は除外し、顎骨嚢胞のみを対象とした。臨床研究の名称を「顎骨嚢胞摘出後の骨欠損を対象とした自己骨髄培養細胞由来再生培養骨の有用性を検証する研究」と変更した。
- 被験者等の選定基準として、長径2~4cmの骨欠損、骨壁が2壁以上残存している症例を対象とした。
- 細胞培養作業は、奈良県立医科大学の医師・歯科医師が培養して、産総研のスタッフがサポートすることとした。

(試験物概要書)

- 再生培養骨は生理食塩水で3回洗浄後に移植するため、ゲンタマイシン量を計算し、総量が16.9 μ gとの極めて微量な結果であることを示した。またゲンタマイシンによるショックの既往がある患者は対象患者から除外した。
- 最終製品を用いてエンドトキシン試験を行うこととした。自己血清含有培地の無菌試験およびエンドトキシン試験、患者骨髄および培養上清の無菌試験、最終培地交換時の培養細胞およびその時の培養上清を用いたマイコプラズマ否定試験がいずれも陰性の時、搬出可とした。また、マイコプラズマ否定試験の検出感度及び特異性の検証実験について示した。
- 細胞の増殖が著しく不良の場合は、主治医および研究責任者が協議の上、患者の意思を確認し、従来の治療法を行うこととした。

4. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会の検討結果

奈良県立医科大学からのヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：顎骨嚢胞）に関して、ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会は、主として倫理的および安全性等にかかる観点から以上の通り論点整理を進め、それらの結果を実施計画及び患者への同意説明文書に適切に反映させた。その上で、本審査委員会は本実施計画の内容が倫理的・科学的に妥当であると判断した。

次回以降の科学技術部会に報告する。