第57回科学技術部会	資料4
平成22年5月17日	

ヒト幹細胞臨床研究実施計画について

【慶應義塾大学医学部】
○ 末梢動脈疾患患者に対するG－CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験. P1

【財団法人住友病院】
○ 末梢動脈疾患患者に対するG－CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験. P31

【島根大学医学部】
○ 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. P70

【奈良県立医科大学】
○ 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. P113

平成 22 年 4 月 21 日

慶應義塾大学医学部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

慶應義塾大学医学部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．末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験
　申請者：慶應義塾大学医学部　医学部長　末松　誠
　申請日：平成 22 年 2 月 18 日

１．ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	末梢動脈疾患患者に対するG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験
申請年月日	平成２２年２月１８日
実施施設及び 研究責任者	実施施設：慶應義塾大学医学部 研究責任者：尾原　秀明
対象疾患	末梢動脈疾患
ヒト幹細胞の種類	G-CSF動員自家末梢血単核球細胞
実施期間及び 対象症例数	厚生労働大臣の意見発出から3年間、144例（推奨療法群72例，推奨療法＋細胞移植治療群72例）
治療研究の概要	G-CSF皮下注射から4日目に自己末梢血を採取、アフェレシスにより単核球を採取、末梢動脈疾患患肢に筋肉内注射し、末梢血管再生効果を見る。札幌北楡病院等を含む計21施設で多施設共同研究を予定。
その他（外国での状況等）	Inabaら、Asaharaらは，G-CSFで動員された末梢血単核球からCD34陽性細胞を単離・純化し，慢性重症下肢虚血患者に対して臨床研究を実施。一方,Kawamuraら(2005)はCD34陽性細胞を単離・純化することなく，G-CSF動員による末梢血由来の単核球細胞を重症下肢虚血患者への移植を報告している。その他、Huang, Ishida(2005)、Hoshino（2007）による同様の臨床研究の報告がある。
新規性について	本研究は用いる幹細胞、対象疾患としての新規性はないが、計21施設が参加予定の多施設臨床研究として実施され、推奨療法群あるいはG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植併用治療群のいずれかに無作為に割り付け，この併用治療の有効性と安全性を評価するものであり、ランダム化比較試験としての新規性を認める。

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 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
平成 22 年 2 月 18 日付けで慶應義塾大学医学部から申請のあったヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：既存の治療に抵抗性の末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病））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。
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の検討結果

慶應義塾大学医学部からのヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：既存の治療に抵抗性の末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病））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、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。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成２２年２月18 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 番地（〒160-8582）
	名　　称	慶應義塾大学医学部 電話　：03-3353-1211（大代表） 電話　：03-5363-3611（倫理委員会事務局） ＦＡＸ：03-5363-3612（倫理委員会事務局）
	研究機関の長 役職名・氏名	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
末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験	慶應義塾大学病院医学部 外科学（一般・消化器） 尾原 秀明

医政局研究開発振興課
医政研収 第　号
H22.2.24

ヒ ト 幹 細 胞 臨 床 研 究 実 施 計 画 書

臨床研究の名称		末梢動脈疾患患者に対するG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験
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番地
	電話番号	03-3353-1211（大代表） 03-5363-3611（倫理委員会事務局）
	FAX番号	03-5363-3612（倫理委員会事務局）
研究機関の長		
	氏名	末松 誠
	役職	医学部長
研究責任者		
	所属	外科学（一般･消化器）
	役職	助教
	氏名	尾原 秀明
	連絡先 Tel/Fax	TEL:03-3353-1211 Ext.62334/FAX:03-3355-4707
	連絡先 E-mail	obara@sc.itc.keio.ac.jp
	最終学歴	1993年 慶應義塾大学医学部卒
	専攻科目	血管外科
	専門医・指導医資格	日本外科学会 専門医、日本心臓血管外科学会 専門医、日本脈管学会 専門医、日本消化器外科学会 専門医、ステントグラフト指導医
	臨床経験歴	17年
	細胞治療研究歴	4年
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	
	所在地	
	電話番号/FAX番号	
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	
	氏名	
臨床研究の目的・意義		【目的】既存の治療に抵抗性の末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病）患者を対象として，TASCII及び日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」に準じて治療を行う推奨療法群あるいは推奨療法及びG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植併用治療群のいずれかへ無作為に割り付け，この併用治療の有効性と安全性を，推奨療法との比較によって評価する。 主要評価項目は，無増悪生存期間とする。また，副次評価項目は，Fontaine分類及びRutherford分類の推移，生存期間，下肢温存期間，下肢温存生存期間，有害事象の発生頻度及びその内容と，プロトコル治療開始後1, 6ヶ月後及び1年後の潰瘍・壊疽のサイズ，下肢の虚血性疼痛の重症度，足関節上腕血圧比，足肢上腕血圧比，跛行出現距離及び最大歩行距離とする。尚、本臨床試験は19施設の参加が予定されている多施設臨床試験である。 【意義】下肢末梢血管障害に対しては一定の効果が期待される治療法が存在はするものの，日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」によると間歇性跛行の場合，患者の約25%は臨床症状が悪化し，5～10%は慢性重症下肢虚血へ移行する。また，慢性重症下肢虚血の場合は 1 年後の転帰として，30%が下肢切断に，25%が死亡に至る。本邦においても，年間約 1 万人以上に下肢切断が行なわれているとも言われ，下肢切断は日常的QOLを著しく低下させ，生への意欲も喪失させるため，救肢は社会的及び医学的に急務である。
臨床研究の対象疾患		
	名称	末梢動脈疾患

	選定理由	近年，わが国においては一般人口における高齢化社会が急速に進行し，また生活習慣が欧米化した結果，下肢末梢血管障害，特に閉塞性動脈硬化症患者が増加していると言われている。下肢末梢血管障害は，間歇性跛行と慢性重症下肢虚血に大別される。前者は運動により必ず生じる筋肉のだるさや痛み，あるいはこむら返りといった下肢筋の不快な症状を訴え，これらは休憩により軽減する。一方，後者は典型的な慢性虚血性安静時疼痛や，潰瘍や壊疽などの虚血性皮膚病変を伴う。重症度分類である Fontaine 分類では間歇性跛行が FontaineⅡ，慢性重症下肢虚血が FontaineⅢ及びⅣとなる。 日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」によると間歇性跛行に対しては運動療法が一定の効果が認められている。3 ヶ月以上の間，監視下運動を実施した前向き試験では，トレッドミルにおける運動パフォーマンスの明らかな向上，及び運動時の痛みの軽減が見られている。しかしながら，多くの患者には例えば重症冠動脈疾患，筋骨格系の制限，神経学的障害等により運動の禁忌がある。さらに，運動施設まで遠い，居住区域では適切な運動プログラムが利用できない，あるいはかかる費用が高いという理由で，監視下運動療法に参加したがらない患者もいる。また，間歇性跛行に対する薬物療法に関しては，血管拡張，代謝及び抗血小板作用を持つホスホジエステラーゼⅢ阻害剤であるシロスタゾールならびにセロトニンのタイプ 2 拮抗薬で，筋代謝を改善し，赤血球及び血小板の凝集を抑制するとされるナフチドロフリルが臨床的有用性についてエビデンスを有する医薬品とされている。シロスタゾールはランダム化プラセボ比較試験において QOL の向上を伴う無痛歩行距離ならびに最大歩行距離の延長を示した。ナフチドロフリルはプラセボと比較し，無痛歩行距離を 26%延長した。また，最近の 3 つの試験において，ナフチドロフリルによるトレッドミルパフォーマンス及び QOL に対する効果が確認された。（ナフチドロフリルは本邦では未承認薬） 同様に慢性重症下肢虚血に対する治療としては日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」によると，血行再建術が最適な治療とされている。しかしながら，重度の併存症を有する，あるいは閉塞性動脈硬化の部位や範囲によって血行再建術の対象とならない場合がある。腸骨動脈及び膝窩動脈の閉塞に対して血行再建術は有効であるが，膝窩動脈以下の動脈閉塞に対してのエビデンスは不十分である。また薬物療法に関しては，現在推奨される医薬品は存在しない。 別紙 6：臨床試験実施計画書；3.根拠と背景（4 頁 14 行～5 頁 2 行）参照
被験者等の選定基準		登録時において，以下の選択規準をすべて満たし，除外規準のいずれにも該当しない症例を適格症例とする。 **選択規準** 1) 下肢血管造影にて閉塞あるいは狭窄が確認された，慢性閉塞性動脈硬化症又はバージャー病患者 2) Fontaine 重症度分類のⅡからⅣかつ，より重症な一方の下肢が Rutherford 重症度分類の 3 から 5 群に分類される患者 3) 血管形成術や膝窩動脈までのバイパス手術の適応がない患者(狭窄部位がびまん性，あるいは末梢の細小動脈に存在しバイパス術や形成術の適用が不可能な重症患者)，あるいはこれらの既存治療を受けたにもかかわらずコントロール不良な患者 4) 非喫煙患者又は 1 ヶ月以上禁煙している患者 5) 同意取得時の年齢が 20 歳以上 75 歳以下で，本人から文書による同意が得られている患者 **除外規準** 1) 1 ヶ月以内に Fontaine 分類あるいは Rutherford 分類で重症度が増悪している病態進行性の患者 2) 大切断が予定されている患者 3) 血管形成術又はバイパス手術，他の外科的治療，もしくは LDL アフェレシスから 1 ヶ月以上経過していない患者 4) G-CSF 製剤及びアフェレシスに対する重篤な過敏症，副作用の既往を有する患者 5) コントロール不良な虚血性心疾患，心不全，不整脈を合併する患者 6) 頭蓋内外の主幹動脈に重度の狭窄性病変を有する患者 7) 心筋梗塞，脳梗塞，脳出血又は一過性脳虚血発作発症後 6 ヶ月未満の患者

		8) 虚血性心疾患，脳梗塞又は脳出血の既往があり Fontaine Ⅳ度に分類される透析施行中の患者 9) 糖尿病増殖性網膜症（新福田分類 BI から BV）を合併する患者 10) 悪性腫瘍を合併する，又は 3 年以内の既往である患者 11) 血液検査の結果，白血球 4,000/μL 未満又は 10,000/μL 以上，血小板数が 50,000/μL 未満，AST(GOT)100 IU/L 以上，ALT(GPT)100 IU/L 以上のうち，いずれかに該当する患者 12) 間質性肺炎の合併あるいは既往のある，又は間質性肺炎を起こす可能性のある薬剤を服薬中の患者 13) 38℃以上の発熱を伴う感染症を合併する患者 14) 脾腫が認められる患者 15) 原疾患に起因しない他の要因による跛行症状，安静時疼痛，皮膚潰瘍及び壊疽を有する患者 16) 下肢に重症の神経障害を有しており本臨床試験における評価が困難である患者 17) コントロール困難な精神障害を合併する患者 18) 甲状腺機能亢進症を合併あるいは既往のある患者 19) 他の臨床試験に参加中の，又は以前に参加した臨床試験の終了から 6 ヶ月以上経過していない患者 20) 妊婦，授乳婦，妊娠している可能性のある又は治療期終了時までに妊娠を計画している女性患者，あるいはパートナーの妊娠を希望する男性患者 別紙 6：臨床試験実施計画書；9.適格基準（16 頁）参照
臨床研究に用いるヒト幹細胞		
	種類	G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞
	由来	○自己 ・ ×~~非自己~~ ・ ×~~株化細胞~~ ○生体由来 ・ ×~~死体由来~~
	採取、調製、移植又は投与の方法	1. <u>G-CSF 投与の手順</u> 1) フィルグラスチムを 1 回 200μg/m² (5μg/kg 相当)の用量で，1 日 1 回 4 日間皮下注射する。 2) フィルグラスチム投与中は連日血液学的検査を施行する。白血球数が 50,000/μl を超えた場合はフィルグラスチムを 1 日 1 回 100μg/m² (2.5μg/kg 相当)に減量し，75,000/μl を超えた場合はフィルグラスチム投与を中止する。 3) 4 あるいは 5 日目に血液成分分離装置を用いてアフェレシスを行う。 <u>2. 血液処理量</u> 血液成分分離装置：米国 GAMBRO BCT 社製 COBE Spectra を用いて、血液処理量は患者体重当たり 100～200ml（体重 50kg の場合 5L～10L）とし，総血液処理量は 10L を上限とする。 <u>3. 採取の手順</u> 1) 採取に先立ち，十分な血流が維持できる静脈または血液透析用シャントから採血ラインと返血ラインを確保する。 2) 採取中は医師と看護師が立ち会い，定期的に血圧と心電図をモニターしながら実施する。血管迷走神経反射，クエン酸中毒，不整脈，心虚血症状，穿刺部位の出血や血腫などの合併症に細心の注意を払う。 3) 採取に伴って血小板数が減少するため，採取終了直後に血小板数を測定する。 4) 採取終了後少なくとも 30 分間は採取施設内で安静を保ち，体調に問題がないことを確認する。 <u>4. 採取細胞の評価</u> 成分採血装置の回路より単核球液の入った採血パックを無菌的に取り出し，操作アダプターを採血パックに取り付け検体の一部を，シリンジで無菌的に採取し，血液検査と CD34 陽性細胞の定量用に提出する。 有核細胞数を目算又は自動血球測定器で，CD34 陽性細胞陽性率をフローサイトメトリーで ISCT(International Society for Cellular Therapy）法に準じた方法で測定し，産物量をもとに総有核細胞数と細胞分画、総 CD34 陽性細胞数を算出する。 <u>5. 移植方法</u> 細胞移植は手術室で麻酔の下で実施し，両下肢に病変がある場合は両下肢に、採取細胞全量を使用し細胞移植を実施する。 移植予定部位

		血管造影で血流の途絶がある範囲を中心とした筋肉内（腓腹筋・前脛骨筋・足底部・足趾等）と，壊疽，潰瘍がある場合には，その周囲を移植予定部位とする。 6. 消毒方法 ・ 移植予定部位をポビドンヨードで消毒する。 ・ 消毒は移植予定部位よりも十分に広く行う。 ・ 全周性に行い，指間は無消毒野が残らないよう十分に注意して行う。 ・ 壊死部がある場合には綿球を変え十分に消毒を行う。 ・ ポビドンヨードがアレルギー等で使用できない場合は塩化ベンザルコニウムなどを使用する。 7. 細胞溶液の注入方法 1) 1 ヵ所の注入量は 0.5mL を目安とし、採取された細胞溶液量より概算で何ヵ所注射できるかを検討し注入ヵ所数（目安として 70～150 ヵ所）を決定し、注入部位をマーキングする。 2) 採取液は均一に攪拌した上で、採取バックの操作アダプターからシリンジで無菌的に採取し，移植予定部位に，23～27G 針を用いて筋注する。 3) 指腹，足底部の皮膚が厚い部位への注入は 1 回の注入溶液量を少なめに調節する。 8. 細胞移植後の局所処置法 移植部位をポビドンヨードで消毒する。注射部位から軽度出血があれば圧迫止血を行う。
	調製（加工）行程	×~~有~~ ・ ○無
	非自己由来材料使用	×~~有~~ ・ ○無 ~~動物種（　　）~~
	複数機関での実施	×~~有~~ ・ ○無
	他の医療機関への授受・販売	×~~有~~ ・ ○無
安全性についての評価		末梢血管再生治療研究会への参加 6 施設を対象に，2001 年 12 月 1 日から 2006 年 12 月 31 日までの間に，重症下肢末梢血管障害の患者へ G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞を移植した 162 症例のレトロスペクティブ調査（PAD-CT Retro）を行い，移植の治療成績及び有害事象の発現の種類/頻度を解析した。全症例から極めて予後不良の Rutherford 分類 6 群 21 例，Fontaine 分類不能 7 例，糖尿病性壊疽 4 例及び SLE 7 例の計 39 例を除外した 123 例の解析結果から，予後因子は Fontaine 分類と壊疽有無と透析歴が有意に独立した因子として選択された。また，移植後 1 ヶ月以内の治療関連死亡は見られなかった。1 年以内の死亡は 15 症例（12.2%）で，虚血性心疾患の既往がある透析患者が 9 例（60%），脳血管障害の既往がある透析患者が 2 例（13%）含まれおり，死因は心不全 4 例，心筋梗塞 3 例，脳梗塞 2 例，肺炎 2 例，不整脈 1 例，胆嚢炎 1 例，呼吸不全 1 例，自殺 1 例であった（自家末梢血単核球細胞移植 概要書参照）。日本透析学会の統計データでは，2005 年末には全透析患者は 257,765 症例，2006 年の死亡患者数は 24,034 症例（9.3%）で，死亡原因は心不全 24.9%，脳血管障害 9.4%，感染症 19.9%，悪性腫瘍 9.2%，カリウム中毒/頓死 5.1%，心筋梗塞 4.4%，悪液質/尿毒症 3.1%，慢性肝炎/肝硬変 1.3%，腸閉塞 1.1%，自殺/拒否 0.9%，災害死 0.7%，肺血栓/肺梗塞 0.3%，脳症 0.1%，その他 9.5%，不明 8.3%と報告されている。なお，本臨床試験の適格規準では，PAD-CT Retro の 1 年以内死亡例 15 例は全て不適格であった。また、全症例中、ASO で糖尿病を合併している 93 例の患者（既往歴平均 20.8 年）で，G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療に起因した重篤な有害事象は発生していない。 その他，Huang ら，Ishida ら，Hoshino ら，もほぼ同様に G-CSF 動員による末梢血由来の単核球細胞を重症下肢虚血患者に移植し有用な結果を得たことを報告している。 別紙 4：自家末梢血単核球細胞移植概要書：2.4 患者情報，移植前検査所見，移植情報の要約（7～10 頁）、2.5 エンドポイントの解析（11～17 頁）、2.6 追加解析結果（18～24 頁）参照 別紙 6：臨床試験実施計画書；3.根拠と背景（6 頁 3～20 行）参照
臨床研究の実施が可能であると判断した理由		最近再生医療の研究が盛んとなり，特に血管の再生研究が数多くなされ，既にいくつも臨床研究が実施され，その有効性が示唆されるものも出てきた。当初は血管内皮増殖因子（VEGF）や，線維芽細胞増殖因子（FGF）などの血管新生因子の利用が検討されたが，それらの因子そのものでは主に半減期が短いことから，それらを分泌させる遺伝子治療が考えられ，実際に臨床研究もなされている。

	Isner らは VEGF の遺伝子治療を，Morishita らは HGF の遺伝子治療を実施し，一定の治療効果が認められたことを報告している。しかしながら現段階では，これらは対照群のない小規模な試験にとどまっており，また遺伝子治療という特殊性から試料調製の煩雑さと安全性への懸念が残る。 白血病を中心とした血液悪性腫瘍においては薬剤による化学療法あるいは全身放射線照射後に自家及び同種の造血幹細胞移植が普及しており現在では年間 17,000 件以上が実施されている。当初，移植のための造血幹細胞を含む単核球細胞は全身麻酔及び自己血輸血が必要な骨髄からの採取であったが，造血幹細胞を骨髄から末梢血に動員させることの出来る G-CSF が利用可能となると末梢血からの造血幹細胞を含む単核球細胞の採取が普及してきた。 このような背景の元，別の面からのアプローチとして，Asahara らがヒトの CD34 陽性造血幹細胞中に血管内皮前駆細胞が存在し，これらを下肢虚血モデル動物に移植することにより，血管が再生されることを明らかにしたことに端を発し，造血幹細胞の傷害部位への移植に注目が集まってきた。そのような中で 2002 年，Matsubara らは重症下肢虚血患者へ骨髄由来の単核球移植を試みて，臨床上有用性があることを報告している。骨髄由来単核球細胞には，血管内皮前駆細胞（CD34 陽性細胞）は数%しか含まれておらず，その他の細胞も同時に移植することの危険性も指摘されている。Matsubara らの報告以降，国内外の数多くの施設で，同様の手技による治療が試みられ，本邦でもすでに 10 施設以上が先進医療の認定を受けている。現在まで懸念されているような骨髄由来単核球細胞移植に伴う副作用は報告されていない。 骨髄由来単核球細胞の危険性回避，並びに効率的な血管再生を目指し，Inaba らや Asahara ら（データ未発表）は，G-CSF で動員された末梢血単核球から CD34 陽性細胞を単離・純化し，慢性重症下肢虚血患者に移植し臨床効果が確認されている。末梢血単核球からの CD34 陽性細胞単離・純化には，煩雑な操作及び費用がかかるためか，その後同様の治療研究を試みる施設は少ない。 一方，Kawamura らは CD34 陽性細胞を単離・純化することなく，G-CSF 動員による末梢血由来の単核球細胞を重症下肢虚血患者に移植することを試みた。その結果，臨床効果を認め，同時に G-CSF，アフェレシス，あるいは移植した細胞に由来すると考えられるような重篤な副作用は報告されていない。 次いで本臨床試験において造血幹細胞動員のための G-CSF の投与量及び投与期間の設定に至った背景について記す。 G-CSF（フィルグラスチム）は 1991 年の発売以降，主に「がん化学療法による好中球減少症」を対象に世界中で用いられてきたが，2000 年本邦において「造血幹細胞の末梢血中への動員」の効能・効果が追加され，がん患者あるいは健康人ドナーに 400μg/m^2（10μg/kg 相当）を 1 日 1 回又は 2 回に分割し，5 日間連日又は末梢血幹細胞採取終了時まで連日皮下投与するという用量・用法で用いられてきた。また，Asahara らの報告以降，造血幹細胞あるいはそれを含む単核球を用いて血管を再生させるという研究が盛んに行なわれ，中には Minatoguchi らの様に単核球細胞を採取することなしに G-CSF による動員のみで心筋梗塞モデル動物の心血管再生を試み，一定の効果を確認したという報告もなされた。その後，これらの成果を臨床に結び付けるべく心筋梗塞後の患者を初めとした心血管障害患者に，G-CSF を投与する臨床研究が幾つかなされた。 Hill らは彼らの臨床研究から G-CSF の 10μg/kg を 5 日間投与することにより，重症心血管障害患者に心筋梗塞が引き起こされる可能性を指摘したが，対照群の設定が無く患者群もリスクが高かったため，G-CSF と心筋梗塞発症の間に明確な因果関係は判らなかった。また，Kang らは，心筋梗塞発症後の患者に G-CSF の 10μg/kg を 4 日間投与し，狭窄血管部にステントを挿置したところ，その後の観察でステント挿置部位に再狭窄が観察されたと報告している。ただし，その後 Kang らは G-CSF の投与量を 5μg/kg 投与日数を 3 日間とし，さらに挿置するステントを通常の bare metal から，薬剤が塗布された DES（Drug Eluting Stent）とすることで再狭窄は見られなくなると報告した。 さらに，Kuethe ら，Ince ら，Zohlnhofer ら，Ripa ら，Jorgensen ら，Susuki らにより心筋梗塞を中心とした心疾患患者に，G-CSF を投与するという臨床研究が行なわれた。効果は各々の研究でまちまちの結果であったが，安全性に関してはすべての臨床研究で G-CSF に起因するものと考えられる副作用は観察されず，これらすべての報告においては対象とした心疾患患者に対する G-CSF 投与は安全で認容性ありとしている。なお，これらの臨床研究の殆どで対照群が設定されており，また G-CSF の投与量は 10μg/kg がほとんどで，投与期間は 4 から 7 日であった。また，

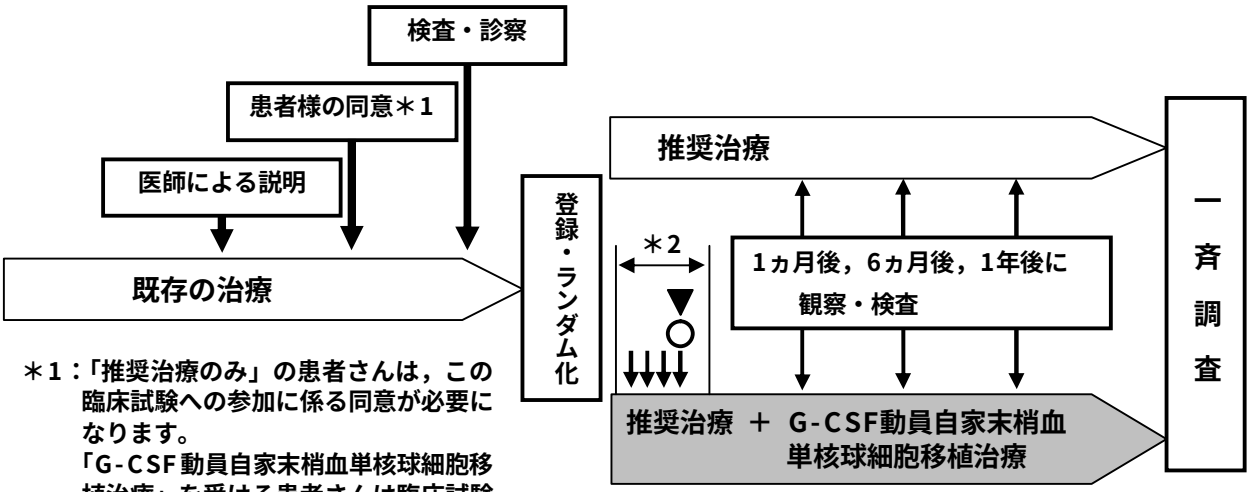
	前出の重症下肢虚血患者に対する臨床研究では，Inaba ら，Kawamura ら，Hoshino ら，は G-CSF を 5μg/kg で 4 日間投与することで，また Asahara ら（データ未発表），Huang ら，Ishida らは 10μg/kg で 5 日間投与することで，造血幹細胞の末梢血への動員を行なっていた。 一方，幹細胞動員に用いられる G-CSF（フィルグラスチム）の投与量・投与期間は通常 400μg/m²（10μg/kg 相当）を 5 日間（4～6 日間）であるが，Tanaka らが実施した 10 名の健康人ドナーにおける，フィルグラスチムの投与量と造血幹細胞動員効果及び認容性を検討した臨床研究においては，動員効果と認容性の面から 200μg/m²（5μg/kg 相当）を 5 日間皮下投与することが至適であると結論している。 本臨床試験における G-CSF（フィルグラスチム）の投与量・投与期間を決定するにあたり，上記 Inaba ら，Kawamura ら，Hoshino らの臨床研究において 200μg/m²（5μg/kg 相当）の用量で有効性並びに安全性が確認されたことと併せて末梢血管再生治療研究会の PAD-Retro 調査及び全般的な安全性を考慮した結果，本臨床試験において造血幹細胞を動員するための G-CSF（フィルグラスチム）投与量・投与期間を，200μg/m²（5μg/kg 相当）4 日間とした。 以上の状況から，下肢末梢血管障害に対する単核球細胞移植はその細胞の由来に依らず臨床効果が期待されるが，明確に計画されランダマイズされた大規模な試験が存在しないため，効果と安全性を明確に示唆するまでには至っておらず，移植細胞由来毎に治療法を比較した試験が存在しないため，臨床効果及び安全性の比較をすることはできない。また，病態から考えると，病態が進行してこれらの治療法を持ってしても，治療効果が期待できなくなる前に，これらの治療が実施されることが望まれるが，病態が軽症～中等症の患者に対してリスクとベネフィットは未だ明らかにされていない。 これらを鑑み，軽症～中等症を含み，かつ単核球細胞移植の効果が得られにくいと考える病態進行性の症例を除いた患者（具体的には，下肢血管造影にて閉塞あるいは狭窄が確認された，慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病患者で，Fontaine 重症度分類のⅡ･Ⅲ･Ⅳ，かつ，より重症な一方の下肢が Rutherford 重症度分類の分類の 3･4 群又は 5 群に属する患者）を対象に，TASCII 及び日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」に準じて行われる「推奨療法」あるいは，「推奨療法及び G-CSF 動員による末梢血から採取した自家末梢血単核球細胞移植治療」のいずれかをランダムに割り付け，この併用治療が推奨療法に比べて優越した有効性を示し，かつ同等の安全性を有することを検証することとした。 別紙 6：臨床試験実施計画書；3.根拠と背景（5 頁 9 行～6 頁 1 行、6 頁 20 行～7 頁）参照
臨床研究の実施計画	本臨床試験は、末梢血管再生治療研究会主導による、「末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験」に参加することにより北野病院で実施されるものである。内容は、既存の治療に抵抗性の末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病）患者で、上記選択基準・除外基準に合致する患者を対象として，TASCII 及び日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」に準じて治療を行う推奨療法群あるいは推奨療法及び G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植併用治療群のいずれかへランダムに割り付け，この併用治療の有効性と安全性を，推奨療法との比較によって評価する。全体のプロトコールで 144 例（推奨療法群 72 例，推奨療法＋細胞移植治療群 72 例）が目標症例数であり、このうちの一部（約 10 例）を担当する。試験期間は 2009 年 1 月～2012 年 1 月で、プロトコール治療は登録から 1 年間、最終症例登録後 1 年後には一斉調査を行なう。 別紙 6：試験実施計画書参照
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	試験責任医師又は試験分担医師は，被験者が本臨床試験に参加する前に，被験者に対して説明・同意文書を用いて十分に口頭で詳しく説明し，本臨床試験の参加について自由意思による同意を被験者から文書により得るものとする。 試験責任医師又は試験分担医師は，同意を得る前に被験者が質問をする機会と，本臨床試験に参加するか否かを判断するのに十分な時間を与えるものとする。その際，試験責任医師又は試験分担医師，又は補足説明者としての本臨床試験協力者は，全ての質問に対して被験者が満足するように答えるものとする。 同意文書には，説明を行った試験責任医師又は試験分担医師及び被験者が各自日

		付を記入し，記名捺印又は署名する。その同意文書は被験者へ交付し，実施医療機関ではその写し等をカルテに添付して保管する。なお，本臨床試験協力者が補足的に説明を行った場合には，協力者も記名捺印又は署名し，日付を記入するものとする。 被験者が本臨床試験に参加している間に，説明・同意説明文書が改訂された場合は，試験責任医師又は試験分担医師は，その都度当該情報を速やかに被験者に伝え本臨床試験に参加するか否かについて，被験者の意思を確認するとともに，改訂された説明・同意文書を用いて改めて説明し，本臨床試験の参加継続について被験者から自由意思による同意を文書により得るものとする。 本臨床試験参加中の被験者が同意の撤回を申し出た場合，試験責任医師又は試験分担医師，ならびに被験者はその旨を記載した文書（同意撤回文書）に各自日付を記入し，記名捺印又は署名する。その同意撤回文書は被験者へ交付し，実施医療機関ではその写し等をカルテに添付して保管する。 別紙 6：臨床試験実施計画書；8.説明と同意（15 頁）参照
	説明事項	説明文書・同意書（様式）及び同意撤回書は試験責任医師が作成する。説明文書には，少なくとも以下の事項が含まれていなければならない。ただし，被験者を意図的に誘導するような記載をしてはならない。 1) 試験が研究を伴うこと 2) 試験の目的 3) 試験の方法 4) 被験者の試験への参加予定期間 5) 試験に参加する予定の被験者数 6) 予期される臨床上の利益及び危険性又は不便 7) 患者を被験者にする場合には，当該患者に対する他の治療方法の有無及びその治療方法に関して予想される重要な利益及び危険性 8) 試験に関連する健康被害が発生した場合に被験者が受けることのできる補償及び治療 9) 試験への参加は被験者の自由意思によるものであり，被験者（又はその代諾者）は，被験者の試験への参加を随時拒否又は撤回することができること。また，拒否・撤回によって被験者が不利な扱いを受けたり，試験に参加しない場合に受けるべき利益を失ったりすることはないこと。 10) 試験への参加の継続について被験者（又はその代諾者）の意思に影響を与える可能性のある情報が得られた場合には速やかに被験者（又はその代諾者）に伝えられること。 11) 試験への参加を中止させる場合の条件又は理由 12) モニタリング又は監査担当者，倫理審査委員会及び規制当局が原医療記録を閲覧できること。その際，被験者の秘密は保全されること。また，同意書（様式）に被験者（又はその代諾者）が記名捺印又は署名することによって閲覧を認めたことになること。 13) 試験の結果が公表される場合であっても，被験者の秘密は保全されること。 14) 被験者が費用負担する場合にはその内容 15) 被験者に金銭等が支払われる場合にはその内容 16) 試験責任医師又は試験分担医師の氏名，職名，連絡先 17) 被験者が試験及び被験者の権利に関してさらに情報が欲しい場合又は試験に関連する健康被害が生じた場合に照会すべき又は連絡をとるべき実施医療機関の相談窓口 18) 被験者が守るべき事項 19) 当該臨床試験の成果により特許権等が生み出される可能性があること及び特許権等が生み出された場合の帰属先 20) 当該臨床試験に係る資金源，起こりうる利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり 21) 説明文書作成日，版 同意書（様式）には，以下の事項を含まなければならない。 1) 臨床試験名 2) 説明文書作成日，版 3) 説明日，試験責任医師又は試験分担医師の記名捺印もしくは署名欄

		4) 同意日，被験者の記名捺印もしくは署名欄 5) 説明の内容を理解し，試験に参加することに同意する旨の記述 6) 実施医療機関名 同意撤回書には，以下の事項を含まなければならない。 1) 臨床試験名 2) 試験責任医師又は試験分担医師の記名捺印もしくは署名欄 3) 同意撤回日，被験者の記名捺印もしくは署名欄 4) 試験参加への同意を撤回する旨の記述 5) 実施医療機関名 試験開始後に試験責任医師が被験者の同意に関連する新たな知見を得，説明文書・同意書（様式）の改訂が必要と判断した場合には，それを改訂する。被験者の同意に関連する新たな知見とは，例えば当該治療法等に関連する新たな有害事象の情報，あるいは当該疾患に係る新治療法等の開発に関する情報などを指す。なお，改訂の内容を重大と判断する場合は所属する医療機関の倫理審査委員会に提出し，その承認を得る。 別紙 5：説明同意文書；参照 別紙 6：臨床試験実施計画書；19.倫理的事項（41～42 頁）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もの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		主任研究者，研究事務局及び独立データモニタリング委員は，一次報告後の対応，二次報告後の対応，独立データモニタリング委員会による評価・勧告，対策の決定，最終報告後の対応を行う。手順の詳細については，臨床試験実施計画書等を参照のこと 別紙 6：臨床試験実施計画書；12.有害事象・重大な事態の評価・報告（23～25 頁）、18.独立データモニタリング委員会（41 頁）、22.試験の終了と早期中止（45 頁）、27.9 重篤な有害事象発生時の報告・対応マニュアル（82～85 頁）参照
臨床研究終了後の追跡調査の方法		最終症例登録から 1 年後に，一斉調査（転帰と細胞移植治療実施の有無）を行う。
臨床研究に伴う補償		
	補償の有無	×~~有~~　・　○無 本臨床試験の G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療実施に起因して有害事象が発生し被験者に健康被害が生じた時は，適切な治療その他必要な措置を受けることができるように実施医療機関，試験責任医師，主任研究者が対応し，提供される治療等には財団法人地域医学研究基金から助成された施設研究費で支払う。だだし、被験者への金銭での補償は行わない。
	補償がある場合、その内容	
個人情報保護の方法		
	連結可能匿名化の方法	試験責任医師及び試験分担医師は，症例登録票及び症例報告書等を当該医療機関外に提供する際には，連結可能匿名化を行うために新たに被験者識別コードを付し，それを用いる。医療機関外の者が，被験者を特定できる情報（氏名・住所・電話番号など）は記載しない。 別紙 6：臨床試験実施計画書；27.7.匿名化番号対照表（78 頁）参照
	その他	試験に携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。データセンターが医療機関へ照会する際の被験者の特定は，試験責任医師及び試験分担医師が管理する被験者識別コード又はデータセンターが発行した登録番号を用いて行う。原資料の直接閲覧を行ったモニタリング担当者，監査担当者，規制当局の担当者などは，そこで得られた情報を外部へ漏洩しない。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に配慮する。
その他必要な事項 （細則を確認してください）		① 当該研究に係わる研究資金の調達方法
		本臨床試験は，財団法人地域医学研究基金の助成により実施される。 別紙 6：臨床試験実施計画書；20.試験の費用負担（44 頁）参照
		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
		本臨床試験と同等の治療を、既に下記の 6 施設が実施しており臨床効果が期待されるが、末梢動脈疾患の推奨治療（TASCII 及び日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」）と明確に計画され無作為に割り付けされた大規模な試験を行っていないため、有効性を明確に示唆するまでには至っていない。 ①当該治療を 2005 年 6 月に高度先進医療の認定を受け、健康保険法が改正した 2006 年 10 月からは先進医療として当該治療を実施。 北楡会 札幌北楡病院 ②当該治療を 2006 年 10 月以降、先進医療の認定を受け当該治療を実施。 独立行政法人国立病院機構 千葉東病院 東京医科歯科大学医学部附属病院 ③ヒト幹細胞を用いる臨床研究の倫理指針の施行前(平成 18 年 9 月 1 日以前)に施設の倫理委員会から当該治療の実施の承認を得て単施設の臨床研究として実施。 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 板橋中央総合病院 神奈川県循環器呼吸器病センター 本臨床試験は下記の 21 施設の参加が予定されている多施設臨床試験として実施され、既存の治療に抵抗性の末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病）患者を対象として，TASCII 及び日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」に準じた治療が行われる推奨療法群あるいは推奨療法及び G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植併用治療群のいずれかを無作為に割り付け，この併用治療の有効性と安全性を推奨療法との比較によって評価する。 主任研究者 北楡会 札幌北楡病院 外科　堀江 卓 研究参加予定施設及び試験責任医師 北楡会 札幌北楡病院 外科　堀江 卓 市立函館病院 心臓血管外科　森下 清文 青森県立中央病院 血液内科　久保 恒明 国立病院機構千葉東病院 外科　岩下 力 明生会 東葉クリニック 外科　林 良輔 板橋中央総合病院 血液浄化療法部　赤松 眞 東邦大学医療センター大森病院 腎センター　水入 苑生 東京医科歯科大学医学部附属病院 老年病内科　金子 英司 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 腎センター　星野 純一 慶應義塾大学病院 一般・消化器外科　尾原 秀明 神奈川県立循環器呼吸器病センター 心臓血管外科　市川 由紀夫 東海大学医学部 外科学系 形成外科学　田中 理佳 湘南鎌倉総合病院 腎臓内科　小林 修三 田附興風会 医学研究所 北野病院 血液浄化センター　塚本 達雄 国家公務員共済組合連合会 呉共済病院 内科　久傳 康史 島根大学医学部附属病院 心臓血管外科　織田 禎二 徳島赤十字病院 外科　阪田 章聖 天神会 新古賀病院　古賀 伸彦 長崎大学医学部･歯学部附属病院 血液浄化療法部　錦戸 雅春 有隣厚生会 東部病院 血管外科　花田 明香 財団法人 住友病院 腎センター　阪口 勝彦

本臨床試験の手順



＊1：「推奨治療のみ」の患者さんは，この臨床試験への参加に係る同意が必要になります。
「G-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植治療」を受ける患者さんは臨床試験への参加に係る同意と併せて，「細胞採取」，「細胞移植」に係る同意が必要になります。

＊2 約7から10日間の入院を必要とします。
↓：G-CSF投与
○：細胞採取
▼：細胞移植

G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療の説明図

G-CSF を，1 日 1 回体表面積 m^2 あたり 200μg（体重 kg あたり 5μg）を，連続 4 日間皮下注射します。

皮下注射開始後 4 日目に血液成分分離装置を使用して，静脈から 3～4 時間かけて単核球細胞成分を 50～100mL ほど採取パックに採取します。なお，この装置は厚生労働省から製造販売輸入承認を受けている装置であり，医療機器として医療の現場で使用されています。

手術室で麻酔科医の麻酔管理のもと、採取した全ての単核球細胞を，採取バックの操作アダプターからシリンジで無菌的に採取し、1 部位 0.5mL を上限として筋肉内注射により移植します。

添付資料

- 研究者の略歴および研究業績・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・別紙 1
- 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況・・・・・・・・・・・別紙 2
- 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・・・・別紙 3
- 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・・・・・・・別紙 4
- インフォームド・コンセントにおける説明文章及び同意文章様式・・・別紙 5
- 試験実施計画書　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・別紙 6
- 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況・・・・・・・・・別紙 7

別紙 3

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

1. この臨床試験の必要性

1). 慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病について

慢性閉塞性動脈硬化症は，動脈硬化その他の原因のために血液の流れが悪くなり慢性の血流障害を起こすことで，足先の冷たい感じやしびれ，歩行時の痛み，安静時でも感じる痛み，さらには足先の潰瘍（皮膚の一部がただれてくずれた状態），壊死（組織の一部が死んだ状態）を起こし，下肢切断に至ることもあります。

バージャー病は閉塞性血栓血管炎と呼ばれることもあり，血栓による動脈閉塞のために血流障害を起こすことが原因で，慢性閉塞性動脈硬化症と似た症状を示します。

日本では，慢性閉塞性動脈硬化症患者は約 500 万人，バージャー病患者は約 1 万人いるといわれています。現在，生活環境の欧米化・高齢化に伴い，慢性閉塞性動脈硬化症患者が急速に増加しています。

2). 従来の治療

慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病に対して，日本の学会や国際的に推奨される治療指針に従い，危険因子として考えられている高血圧症，糖尿病，高脂血症，高尿酸血症を合併する場合にはこれらに対する治療を行われ，合わせて血流改善を目的として抗血小板薬が使用されます。

さらに，症状に応じて歩行等の運動療法や局所保温・炭酸泉療法，血管拡張薬などの薬物療法も実施され，喫煙者には禁煙の指導が行われます。

また，膝から上の比較的太い動脈に狭窄部位がある重症患者に対しては，カテーテルによる血管拡張術や血管バイパス術などの手術が実施されます。薬物治療で十分な効果が得られず外科的治療が困難な場合には，動脈硬化の原因の一つとされる血漿中の LDL コレステロールなどを除去する目的で血漿交換療法が用いられます。

しかし，これらの薬を服用しても足先の冷たい感じやしびれ，歩行時の痛み，安静時でも感じる痛みおよび足先の潰瘍の改善効果が得られない場合や，病変部位や範囲によって手術の対象とならない，または手術をしても症状が再発する場合があり，下肢の切断を余儀なくされる患者が年間 1 万人以上いるのが現状です。

よって，これら難治性状態を克服するような新たな治療が望まれています。

2. 新しい治療

慢性閉塞性動脈硬化症およびバージャー病に対する新しい治療として，「顆粒球増殖因子（G-CSF）動員自家末梢血単核球細胞移植」（以下，『自己血中細胞移植治療』と呼びます）があります。

これは，G-CSF を使って，自己血中の血管発生を促す可能性がある細胞を集め，集めた細胞を下肢の病変部位の筋肉内に一定の間隔で注射することで，血流を改善させ，患者の症状を軽減させることを目標とした治療が提案されています。この治療は，これまでのいくつかの臨床研究結果から有用性が示唆されており，従来の治療で効果が得られない，または手術の適応が困難な部位に病変がある患者に対する治療になる可能性があります。

その他の血管再生療法として，肝細胞増殖因子や血管内皮細胞増殖因子などの人工的遺伝子を注入する方法や，自分の骨髄細胞を用いた細胞移植法が報告されています。しかし遺伝子物質による治療法は倫理面，骨髄細胞移植法は長時間全身麻酔による体力面の問題があり，我々は自己血中細胞移植治療が低侵襲で優れた治療法であると考えています。

3. この臨床試験の目的

この臨床試験では，慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病の患者に，日本の学会や国際的に推奨される治療指針に従った「推奨治療のみ」，あるいは「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」のいずれかを受けていただき，「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」の有効性と安全性を調べます。

4. この臨床試験の方法

対象となる患者

1) 下肢血管造影にて閉塞あるいは狭窄が確認された慢性閉塞性動脈硬化症又はバージャー病患者であること。
2) 非喫煙患者又は 1 ヶ月以上禁煙している患者
3) 同意取得時の年齢が 20 歳以上 75 歳以下で，患者本人から文書同意が得られていること。
4) 病態進行性の患者ではないこと。
5) 大切断が予定されている患者ではないこと。
6) G-CSF 製剤及びアフェレシスに対する重篤な過敏症，副作用の既往を有する患者ではないこと。

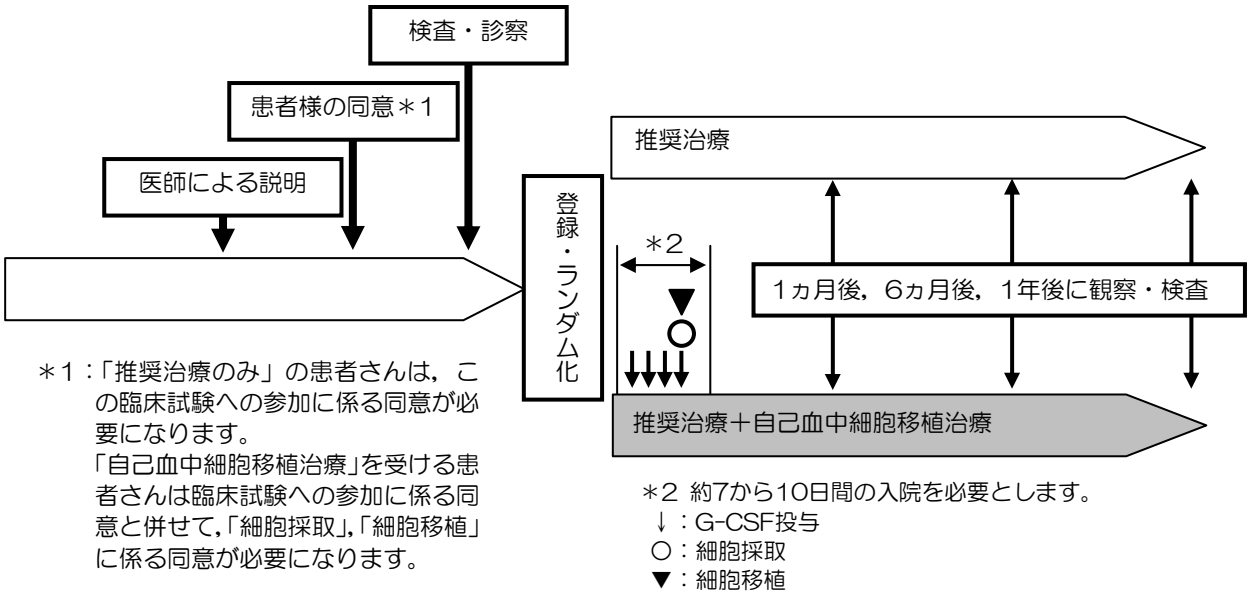
5. 治療の方法

この臨床試験で計画された治療（以下『プロトコール治療』と呼びます）のうち，被験者が「推奨治療のみ」あるいは「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」のいずれの治療を受けるかは，あらかじめ定められたルールに従って，第三者が決定します。このような方法をランダム化と言います。ランダム化によりそれぞれの治療を受ける患者のグループの特徴が似たようになり，治療の違いによる効果や安全性を正確に評価できます。この臨床試験ではそれぞれの治療をうける確率は２分の１です。

一般的に，ある治療の有効性と安全性を調べるには，別の治療と比較する必要があります。調べたい治療（以下，『試験治療』と呼びます）のみの臨床試験を行った場合，効果が認められたとしても，その効果が治療によるものなのかどうかを判別することができません。

そこでこの臨床試験では，「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」の効果や副作用を確認するために，「推奨治療のみ」と比較します。

通常，比較対照の治療として，その時点で最も優れていると考えられている薬や治療が採用されます。この臨床試験では，日本の学会や国際的に推奨される治療指針に従い，抗血小板薬やその他の危険因子に対する薬などを使用します。



6. 推奨治療

血流改善を目的として，抗血小板薬が頻繁に使用されます。また，危険因子として考えられている高血圧症，糖尿病，高脂血症，高尿酸血症を合併する場合には，これらに対する治療が行われます。なお，これらの薬の使用方法および使用量は，被験者の状態に合わせて，医師により判断されます。

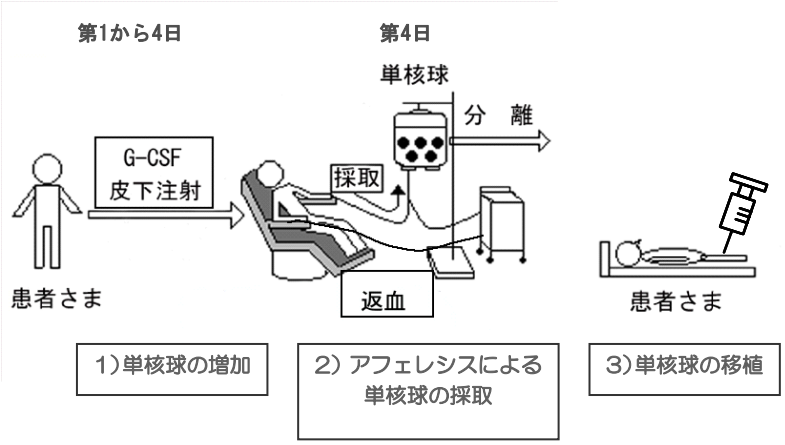
7. 推奨治療＋自己血中細胞移植治療

上記の薬物治療に加え，被験者の血液中の単核球細胞という成分を病変部位に移植する治療を行います。両方の下肢に病変部位がある場合は両方の下肢に移植します。

移植のステップとして，

1）自己血液中の単核球細胞を増加させるステップ
2）増加させた単核球細胞を採り出すステップ
3）採り出した単核球細胞を病変部位へ移植するステップ

の，大きく 3 つのステップからなります。同意に関して，「細胞採取」，「細胞移植」に係る同意が必要になります。なお，この治療では，厚生労働省より承認を受けている薬剤および医療機器を使用します。



1）自己血液中の単核球細胞を増加させるステップ

G-CSF を，1 日 1 回体表面積 m^2 あたり 200μg（体重 kg あたり 5μg）を，連続 4 日間皮下注射します。

2) 増加させた単核球細胞を採取するステップ

皮下注射開始後 4 日目に血液成分分離装置を使用して，静脈から 3～4 時間かけて単核球細胞成分を 50～100mL ほど採取します。なお，この装置は厚生労働省から製造販売輸入承認を受けている装置であり，医療機器として医療の現場で使用されています。

3) 採取した単核球細胞を病変部位へ移植するステップ

手術室で麻酔科医の麻酔管理のもと、採取した全ての単核球細胞を，1 部位 0.5mL を上限として筋肉内注射により移植します。

別紙 5

末梢動脈疾患患者に対するG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験に対するご協力のお願い

実施責任者　　：尾原　秀明
研究機関　　：慶應義塾大学医学部
　　一般・消化器外科
共同研究組織名：末梢血管再生治療研究会
　　での多施設共同研究

2009年10月27日 第2.1版
2009年10月05日 第2版
2009年09月16日 第1版

0 はじめに

この文書は，当院で実施している「末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験」という臨床試験について説明したものです。担当医師からこの臨床試験の説明をお聞きになり，試験の内容を十分理解して頂いた上で，この臨床試験に参加されるかどうかをあなたの自由意思で決めてください。この臨床試験に参加してもよいと考えられた場合には，「同意書」にご署名いただきますようお願い致します。

たとえ参加されなくても今後の治療において，不利益になることはなく、この臨床試験以外の最善の治療を受けることが出来ます。

さらに，この臨床試験への参加に同意した後でも，臨床試験が開始されてからでも，あなたが参加の辞退を希望されれば，いつでも自由に辞退することができます。辞退した場合でも，あなたにはこの臨床試験治療以外の最善の治療が行われますので，治療上の不利益を被ることはありません。

なお、この臨床研究は川村明夫（札幌北楡病院 会長）が研究代表者，堀江 卓（札幌北楡病院 外科部長）が主任研究者となって全国の約 20 施設が参加し，末梢血管再生治療研究会が実施する多施設共同臨床研究です。

1 研究目的

この臨床試験では，慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病の患者さんに，日本の学会や国際的に推奨される治療指針に従った「推奨治療のみ」，あるいは「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」のいずれかを受けていただき，「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」の有効性と安全性を調べます。

1.1 この臨床試験の必要性

1.1.1 慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病について

あなたの病気は，末梢動脈疾患の慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病と診断されています。

慢性閉塞性動脈硬化症は，動脈硬化その他の原因のために血液の流れが悪くなり慢性の血流障害を起こすことで，足先の冷たい感じやしびれ，歩行時の痛み，安静時でも感じる痛み，さらには足先の潰瘍（皮膚の一部がただれてくずれた状態），壊死（組織の一部が死んだ状態）を起こし，下肢切断に至ることもあります。

バージャー病は閉塞性血栓血管炎と呼ばれることもあり，血栓による動脈閉塞のために血流障害を起こすことが原因で，慢性閉塞性動脈硬化症と似た症状を示します。

日本では，慢性閉塞性動脈硬化症患者さんは約 500 万人，バージャー病患者さんは約 1 万人いるといわれています。現在，生活環境の欧米化・高齢化に伴い，慢性閉塞性動脈硬化症患者さんが急速に増加しています。

1.1.2 従来の治療

慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病に対して，日本の学会や国際的に推奨される治療指針に従い，危険因子として考えられている高血圧症，糖尿病，高脂血症，高尿酸血症を合併する場合にはこれらに対する治療が行われ，合わせて血流改善を目的として抗血小板薬が使用されます。

さらに，症状に応じて歩行等の運動療法や局所保温・炭酸泉療法，血管拡張薬などの薬物療法も実施され，喫煙者には禁煙の指導が行われます。

また，膝から上の比較的太い動脈に狭窄部位がある重症患者さんに対しては，カテーテルによる血管拡張術や血管バイパス術などの手術が実施されます。薬物治療で十分な効果が得られず外科的治療が困難な場合には，動脈硬化の原因の一つとされる血漿中の LDL コレステロールなどを除去する目的で血漿交換療法が用いられます。

しかし，これらお薬を服用しても足先の冷たい感じやしびれ，歩行時の痛み，安静時でも感じる痛みおよび足先の潰瘍の改善効果が得られない場合や，病変部位や範囲によって手術の対象とならない，または手術をしても症状が再発する場合があり，下肢の切断を余儀なくされる患者さんが年間 1 万人以上いらっしゃるのが現状です。

よって，これら難治性状態を克服するような新たな治療が望まれています。

1.1.3 新しい治療

慢性閉塞性動脈硬化症およびバージャー病に対する新しい治療として，「顆粒球増殖因子（G-CSF）動員自家末梢血単核球細胞移植」（以下，『自己血中細胞移植治療』と呼びます）があります。

これは，G-CSF という薬を使って，自己血中の血管発生を促す可能性がある細胞を集め，集めた細胞を下肢の病変部位の筋肉内に複数箇所に注射することで，血流を改善させ，患者さんの症状を軽減させることを目標とした治療が提案されています。

この治療は，これまでのいくつかの臨床研究結果から有用性が示唆されており，従来の治療で効果が得られない，または手術の適応が困難な部位に病変がある患者さんに対する治療になる可能性があります。

その他の血管再生療法として，肝細胞増殖因子や血管内皮細胞増殖因子などの人工的遺伝子を注入する方法や，自分の骨髄細胞を用いた細胞移植法が報告されています。

しかし遺伝子物質による治療法は倫理面，骨髄細胞移植法は長時間全身麻酔による体力面の問題があり，我々は自己血中細胞移植治療が低侵襲で優れた治療法であると考えています。

自己血中細胞移植治療は，2005 年 6 月に高度先進医療の認定を受け，健康保険法が改正した 2006 年 10 月からは先進医療（八十七 末梢血幹細胞による血管再生治療）として，北楡会 札幌北楡病院，独立行政法人国立病院機構 千葉東病院，東京医科歯科大学医学部附属病院，国家公務員共済組合連合会 虎の門病院の 4 施設で実施されております。

2 研究協力の任意性と撤回の自由

この文書は，当院で実施している「末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験」という臨床試験について説明したものです。担当医師からこの臨床試験の説明をお聞きになり，試験の内容を十分理解して頂いた上で，この臨床試験に参加されるかどうかをあなたの自由意思で決めてください。この臨床試験に参加してもよいと考えられた場合には，「同意書」にご署名いただきますようお願い致します。

たとえ参加されなくても今後の治療において，不利益になることはなく、この臨床試験以外の最善の治療を受けることが出来ます。

さらに，この臨床試験への参加に同意した後でも，臨床試験が開始されてからでも，あなたが参加の辞退を希望されれば，いつでも自由に辞退することができます。辞退した場合でも，あなたにはこの臨床試験治療以外の最善の治療が行われますので，治療上の不利益を被ることはありません。

3 研究方法・研究協力事項

3.1 対象となる患者さん

以下 1)-5)の全てにあてはまる方が対象となります。

1) 検査で詰まった/狭くなった血管が見つかった，慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病患者さん
2) 医師により，この臨床試験で規定する病気の分類規準にあてはまる診断がなされた患者さん
3) 医師により，詰まった/狭くなった血管を手術できない，または手術しても回復が難しいと診断された患者さん
4) タバコを吸わない，または 1 ヶ月以上禁煙している患者さん
5) 同意取得時の年齢が 20 歳以上 75 歳以下で，ご本人から文書同意が得られた患者さん

ただし，以下のいずれかにあてはまる方は対象とはなりません。

1) 1 ヶ月以内にあなたの病気が悪化している患者さん
2) 大切断が予定されている患者さん
3) 手術やこれに準じる治療から 1 ヶ月以上経過していない患者さん
4) 過去にこの臨床試験で使用するお薬や機器を用いた療法に対して重い過敏症，副作用があった患者さん
5) 重い心臓病，不整脈を有する患者さん
6) 頭や首の動脈血管が重度に狭くなっている患者さん
7) 心筋梗塞,脳梗塞,脳出血または一過性脳虚血発作を発症して 6 ヶ月経過していない患者さん
8) 過去に心臓病，脳梗塞または脳出血中を発症したことがあり，あなたの病気が非常に重症と

判断される，透析患者さん
9) 重い糖尿病網膜症を有する患者さん
10) がんと診断されている，または過去にがん完治と診断されてから無再発期間が 3 年以上経過していない患者さん
11) 血液検査の結果,白血球数,血小板数及び肝臓機能を示す検査値が規準を満たさない患者さん
12) 過去に間質性肺炎を発症したことのある，または現在発症している，もしくは間質性肺炎を起こす可能性のあるお薬を服用中の患者さん
13) 38℃以上の発熱を伴う感染症に罹っている患者さん
14) 検査により脾臓の腫れが確認された患者さん
15) 慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病が原因ではない，歩行時のふらつき，足の痛み，皮膚潰瘍および壊疽を有する患者さん
16) 足に重い神経障害を有する患者さん
17) 重い精神障害を有する患者さん
18) 過去に甲状腺機能亢進症を発症したことのある，または現在発症している患者さん
19) 他の臨床試験に参加中の，または以前に参加した臨床試験の終了から 6 ヶ月以上経過していない患者さん
20) 妊婦，授乳婦，妊娠している可能性のある，または治療期終了時までに妊娠を計画している女性患者さん，あるいはパートナーの妊娠を希望する男性患者さん

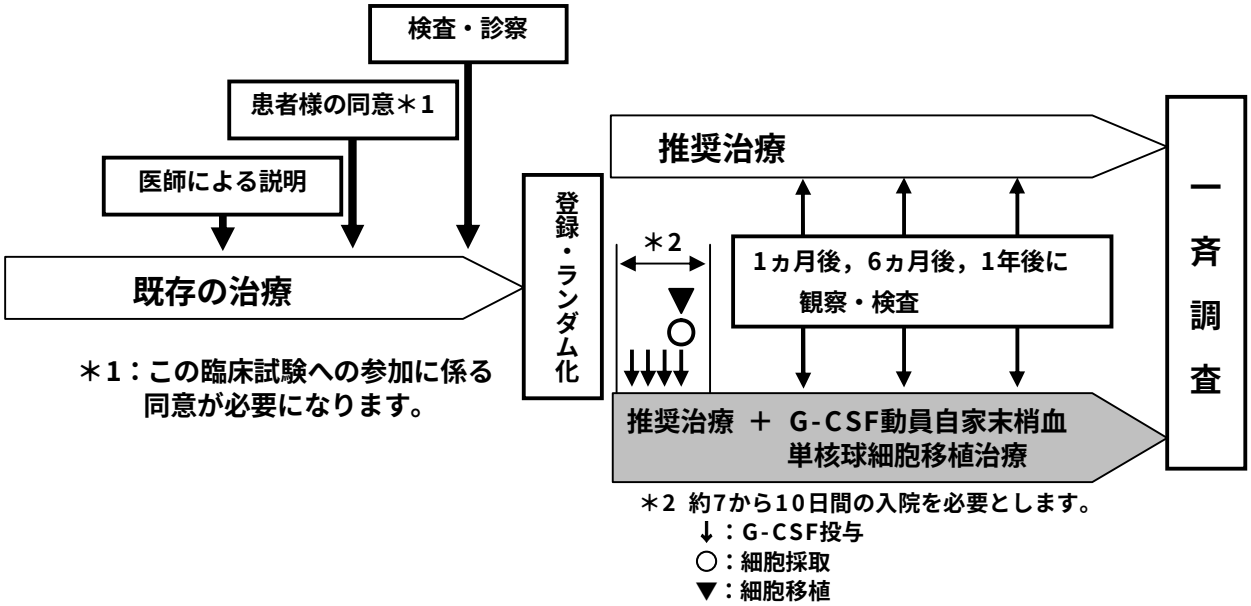
3.2 治療の方法

この臨床試験で計画された治療（以下『プロトコル治療』と呼びます）のうち，あなたが「推奨治療のみ」あるいは「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」のいずれの治療を受けるかは，あらかじめ定められたルールに従って，第三者が決定します。このような方法をランダム化と言います。ランダム化によりそれぞれの治療を受ける患者さんのグループの特徴が似たようになり，治療の違いによる効果や安全性を正確に評価できます。なお、ランダム化ではどちらのグループに入るかについては、患者さんの希望には添えません。この臨床試験ではそれぞれの治療をうける確率は２分の１です。

一般的に，ある治療の有効性と安全性を調べるには，別の治療と比較する必要があります。調べたい治療（以下,『試験治療』と呼びます）のみの臨床試験を行った場合，効果が認められたとしても，その効果が治療によるものなのかどうかを判別することができません。

そこでこの臨床試験では,「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」の効果や副作用を確認するために,「推奨治療のみ」と比較します。

通常，比較対照の治療として，その時点で最も優れていると考えられているお薬や治療が採用されます。この臨床試験では，日本の学会や国際的に推奨される治療指針に従い，抗血小板薬やその他の危険因子に対するお薬などを使用します。



3.2.1 推奨治療

血流改善を目的として，抗血小板薬というお薬が頻繁に使用されます。また，危険因子として考えられている高血圧症，糖尿病，高脂血症，高尿酸血症を合併する場合には，これらに対する治療が行われます。なお，これらのお薬の使用方法および使用量は，あなたの状態に合わせて，医師により判断されます。

3.2.2 推奨治療＋自己血中細胞移植治療

上記の薬物治療に加え，あなたの血液中の単核球細胞という成分を病変部位に移植する治療を行います。両方の下肢に病変部位がある場合は両方の下肢に移植します。

移植のステップとして，1）自己血液中の単核球細胞を増加させるステップ，2）増加させた単核球細胞を採り出すステップ，3）採り出した単核球細胞を病変部位へ移植するステップの，大きく３つのステップからなります。同意に関して，「細胞採取」，「細胞移植」に係る同意が必要になります。なお，この治療では，厚生労働省より承認を受けている薬剤および医療機器を使用します。

G-CSF を，1 日 1 回体表面積 m² あたり 200μg（体重 kg あたり 5μg）を，連続 4 日間皮下注射します。

皮下注射開始後 4 日目に血液成分分離装置を使用して，静脈から 3～4 時間かけて単核球細胞成分を 50～100mL ほど採取パックに採取します。なお，この装置は厚生労働省から製造販売輸入承認を受けている装置であり，医療機器として医療の現場で使用されています。

手術室で麻酔科医の麻酔管理のもと、採取した全ての単核球細胞を，採取バックの操作アダプターからシリンジで無菌的に採取し、1 部位 0.5mL を上限として筋肉内注射により移植します。

1）自己血液中の単核球細胞を増加させるステップ

通常，単核球細胞は骨髄中に多く存在し，血液中にわずかしか存在していません。そこで，移植に必要な数の単核球細胞を血液中から得るため，骨髄中から単核球細胞を動員する効果がある顆粒球増殖因子（G-CSF，販売名：グラン®）というお薬を使用します。このお薬を，1 日 1 回体表面積 ㎡ あたり 200μg（体重 kg あたり 5μg）を，連続 4 日間皮下注射します。

2）増加させた単核球細胞を採取するステップ

皮下注射開始後 4 あるいは 5 日目に血液成分分離装置を使用して，あなたの静脈から３～４時間かけて単核球細胞成分を５０～１００㎖ ほど採取します。なお，この装置は厚生労働省から製造販売輸入承認を受けている装置であり，医療機器として医療の現場で使用されています。

3）採取した単核球細胞を病変部位へ移植するステップ

手術室で麻酔科医の麻酔管理のもと，採取した全ての単核球細胞を，1部位0.5mLを上限として，約70から150箇所に筋肉内注射により移植します。

3.3 臨床試験のスケジュール

はじめに，この臨床試験の対象者としてふさわしいか否かを判断する検査を行います。あてはまると判断された場合には，（治療開始時期；例；次回の来院日）より治療を開始します。

予定参加期間は，移植後1年間となり，さらに，本臨床試験全体のうち最後の被験者さんが登録されてから1年後に，一斉調査としてそれまでの経過について調査を行います。各時点の診察・検査項目およびスケジュールは，以下のとおりです。

3.3.1 各時点の診察・検査項目

1) 登録時
- 診察・問診，アンケート，身長・体重・手足の血圧測定
- 潰瘍・壊疽のサイズ測定
- 医療用ウォーキング機器を用いた歩行距離測定
- 血液検査：白血球数（分画：好中球，リンパ球），血小板数，ヘモグロビンA1C
  AST，ALT，LDLコレステロール
- 脾臓検査（＊腹部エコーにより検査します。）
- 心臓検査（＊心電図，心エコー，心筋シンチなどにより検査します。）
- 頭・首の血管検査（＊頭部MRAなどにより，動脈血管内の状態を検査します。）
- 足の血管検査（＊血管造影により，足の血管内の状態を検査します。）
- 眼底検査（＊眼内部の血管を検査して網膜症の有無・程度を評価します。）
- 感染症の有無の検査・調査
- 悪性腫瘍の検査
- 妊娠検査

2) 移植時（該当する患者さんのみ）
- 診察・問診
- 血液検査（登録時と同じ項目，さらに移植細胞数を検査します。）
- 腹部エコー

3) 1ヵ月後，6ヵ月後，1年後および中止時
- 診察・問診，アンケート，身長・体重・手足の血圧測定
- 潰瘍・壊疽のサイズ測定
- 医療用ウォーキング機器測定
- 心電図
- 血液検査（登録時と同じ項目を検査します。）

4) 一斉調査（最後の被験者さんが登録されてから1年後）
- 診察，問診，アンケート等の調査を実施します。

3.3.2 スケジュール表

各時点で実施される観察・検査項目について，以下表の「○」で示しました。

観察・検査項目	登録時	移植時	1, 6ヶ月, 1年後	中止時	一斉調査
診察・問診・アンケート	○		○	○	
足の潰瘍・壊疽サイズ測定	○		○	○	
医療用ウォーキング機器測定	○		○	○	
手足の血圧測定	○		○	○	
心電図	○		○	○	
血液検査	○	○	○	○	
脾臓検査	○	○			

心臓検査，頭・首・足の血管検査	○				
眼底検査	○				
感染症の有無の検査・調査	○				
悪性腫瘍の検査	○				
妊娠検査	○				
一斉調査時に必要と判断された事項					○

以上は臨床試験に参加する場合，必ず実施する診察・検査のスケジュールです。

なお，医師の判断により，被験者さんの状態に応じてそれ以外の診療行為が行われる場合があります。

3.4・併用禁止薬・併用禁止療法

以下のお薬および治療は，この臨床試験の評価に影響しますので，試験治療期間中は使用や実施はしません。

◆交感神経ブロック：局所麻酔により痛みを緩和する方法

◆フィブラストスプレー：皮膚潰瘍を治療するお薬

◆他の治験薬の使用／開発中の治療（遺伝子治療等）の実施

◆外科的血行再建術

・バイパス手術：人工血管や自分の静脈を用いて病変部位を迂回する別の流れを造る手術

・血栓内膜除去術：閉塞部が太い血管で短い範囲の時は血管を切開して閉塞部の動脈硬化病変（血栓）を取り除き，切開部は狭くならないよう人工血管や自分の静脈を使用して血管を広くする手術

◆血管内治療

・カテーテル血管拡張術：カテーテル（管）を血管内に挿入し，病変部位を風船や円筒形の金属製ステントにより血管内部を広くする手術

◆交感神経切除術

：末梢血管拡張による血流回復を目的として実施される手術

◆LDL アフェレシス

：動脈硬化の原因の一つとされる血液中の LDL コレステロールなどを除去する方法

現在，あなたが他の病院に通院されている場合は，使用しているお薬をお知らせください。また，薬局等で購入して使用しているお薬がある場合もお知らせ下さい。これらは試験を安全に行うために大切なことです。また，あなたが他の病院に通院されている場合は，この臨床試験に参加していることをその病院にお知らせすることがありますので，ご了解ください。

なお，あなたに好ましくない症状が現れたときにはその治療を優先し，上記記載にかかわらず，使用するお薬や治療は制限されません。

4 研究協力者にもたらされる利益および不利益

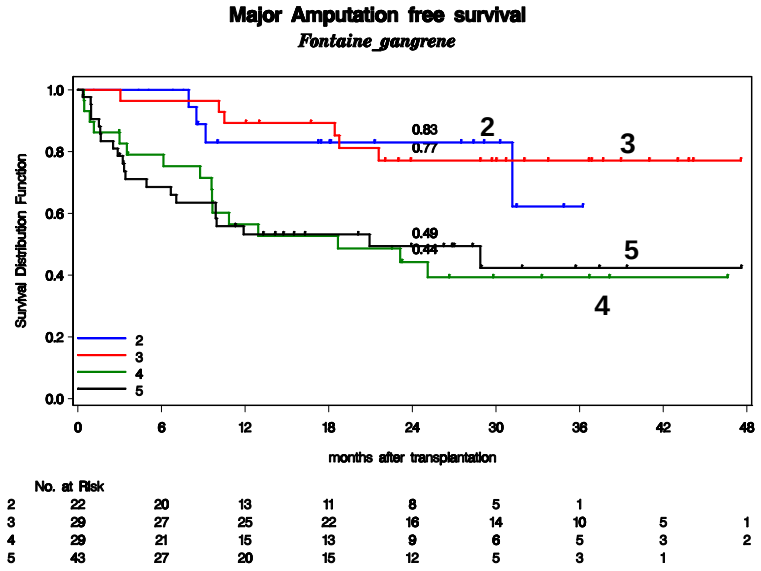
4.1 予想される効果

「推奨治療」の代表治療として，抗血小板薬が使用されます。このお薬には，足先の冷たい感じやしびれ，歩行時の痛み，安静時でも感じる痛みに対する改善効果があることが知られています。しかし，このお薬による病気の根本治療は難しく，特に早期の病態改善が求められる重症の患者さんに対する効果は不十分な場合があります。

一方，「自己血中細胞移植治療」は，これまでのいくつかの臨床研究結果から，足先の冷たい感じやしびれ，歩行時の痛み，安静時でも感じる痛み，足先の潰瘍に対して有用性が報告されており，推奨治療で効果が得られない患者さんに対する治療になることが期待されています。

自己血中細胞移植治療は，この臨床試験と同じ対象の患者さんに実施した，末梢血管再生治療研究会のデータでは，重症度が低い Fontaine II・III の患者さんは約 8 割が 2 年以内の大切断を免れ、重症度が高い Fontaine IV の患者さんでも半数が 2 年以内の大切断を免れております。

Fontaine 分類＆壊疽別下肢温存生存期間（大切断）N=123



2：Fontaine II
3：Fontaine III
4：Fontaine IV 壊疽なし
5：Fontaine IV 壊疽あり

4.2 予想される不利益

この臨床試験の対象者としてふさわしいか否かを判断する検査は、保険医療の範囲で実施しますが，慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病の通常診療では必ずしも実施されない検査が含まれており、諸検査費用の自己負担分が発生いたします。

4.3 予想される副作用

4.3.1 推奨治療

抗血小板薬の副作用として，頻回に報告される事象を以下に示します。これらの副作用は一部であり，またお薬の種類によって異なる副作用が発現する可能性がありますので，詳細については医師にお問合せください。

副作用
心臓
うっ血性心不全，心筋梗塞，狭心症，心室頻拍
肺
間質性肺炎（肺胞外壁の炎症により線維化をおこした肺炎）
肝臓
肝機能障害
黄疸
出血
脳出血，肺出血
消化管出血，鼻出血，眼底出血
血液検査
汎血球減少（赤血球，白血球，血小板のいずれもが減少した状態） 無顆粒球症（白血球成分の好中球数が著しく減少した状態）
血小板減少症

4.3.2 自己血中細胞移植治療

自己血中細胞移植治療は，これまでの臨床研究で約１６０名の患者さんに実施され，予期しない重大な副作用は報告されていません。

なお，造血幹細胞移植学会の，健常人ドナーからの末梢血幹細胞動員・採取のガイドラインでは，血栓症の既往あるいはリスクを避けるため，基礎疾患として高血圧，冠動脈疾患，脳血管障害，糖尿病，高脂血症がある人は，顆粒球増殖因子（G-CSF）投与は避けるようになっております。これは健康成人のドナーに G-CSF を投与することは治療を目的とはしていないため，極力安全に配慮するためです。

一方，この臨床試験の対象の患者さんは，効果を期待して行われる治療の一環として G-CSF が投与されます。また，これまでの約 160 名の患者さん（高血圧，冠動脈疾患，脳血管障害，糖尿病，高脂血症を基礎疾患として持つ患者さんが含まれています）で行われた臨床研究において G-CSF によるものと考えられる予期しない重大な副作用は報告されていません。

ただし，対象の患者さんには基礎疾患として高血圧，冠動脈疾患，脳血管障害，糖尿病，高脂血症等を持っている方が多く含まれておりますので，注意深く患者さんの症状を把握させていただき，G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療を実施いたします。

可能性のある副作用としては，以下の事柄が考えられます。

●G-CSF（販売名：グラン®）による重大な副作用（全体）

副作用	頻度
アレルギー	
ショック	頻度不明
肺	
間質性肺炎（肺胞外壁の炎症により線維化をおこした肺炎） 急性呼吸窮迫症候群（肺が損傷され呼吸困難などの症状を示す状態）	頻度不明
脾臓	
脾破裂	頻度不明
血液検査	
芽球の増加（未熟な白血球細胞が増加した状態）	0.1%未満

●G-CSF による末梢血幹細胞の動員による副作用

：ある時点の調査で，51 人の患者さん全員に何らかの副作用が発現しています。

副作用	頻度
疼痛	
腰痛	24 件 (47.1%)
頭痛	10 件 (19.6%)
関節痛	8 件 (15.7%)
全身症状	
発熱	6 件 (11.8%)
血液検査	
LDH 上昇（肝機能を示す検査値の異常）	44 件 (86.3%)
ALP 上昇（肝機能を示す検査値の異常）	35 件 (68.6%)
白血球減少・好中球（白血球成分のひとつ）減少	15 件 (29.4%)
血小板減少	7 件 (13.7%)
CRP 上昇（炎症状態を示す検査値の上昇）	6 件 (11.8%)

●細胞採取に伴う重大な副作用

血中のカルシウム濃度が一過性に低下することで，手・口唇のしびれなどの症状が生じる場合があります。この症状が見られた場合には，カルシウム製剤を適宜注射します。

また脱水や，めまい・吐き気・嘔吐・徐脈などの症状が生じる場合があります。この場合，補液や薬物にて適宜治療いたします。

●細胞移植による重大な副作用

細胞移植に伴い，発熱・筋肉内および皮下出血・移植部の腫脹疼痛を生じますが，ほとんどは一過性です。抗生剤・鎮痛剤・解熱剤など，必要時適宜使用いたします。また移植時に末梢神経を損傷し，足先のしびれが生じる場合もあります。稀ですが，潰瘍の状態によっては，移植後に潰瘍の悪化や，局所の感染の可能性もあります。

なお，これらの副作用以外にも他の副作用が発現する場合があります。また，副作用の発現は患者さんの状態によって異なりますので，詳細については担当医師にお尋ねください。

5 個人情報の保護

この臨床試験では，慶應病院内で、個人情報は連結表に分離し，個人情報管理者が厳重に管理しております。慶應病院外には，あなたを特定できる情報（氏名・住所・電話番号など）は送信しません。

医師・看護師・薬剤師を含む全ての病院スタッフには，通常の診療において業務上知りえたことに関して秘密を守る義務があります。病院スタッフには，この臨床試験において知った情報についても同様の守秘義務が課せられます。

しかし，この臨床試験が正しく行われているかどうかを確認するために，倫理委員会（臨床試験の実施を決定する委員会）の人，厚生労働省の人などがあなたのカルテを見ることがあります。これらの人達にも業務上知りえたことに関して秘密を守る義務があります。

この臨床試験で得られた情報（検査データ，検査画像を含む）を取りまとめるために，当院以外の機関にあなたの情報を提供します。その際には，あなたを特定できる情報（氏名・住所・電話番号など）は記載しません。

このように個人情報は厳重に管理されていますので，この臨床試験に参加することにより，あなたやあなたのご家族の個人情報が第三者に漏れる心配はありません。

この同意書に署名されますと，倫理委員等によるカルテの閲覧，当院以外の機関への情報提供および結果の公表について同意して頂いたことになります。

6 研究計画書等の開示

この臨床試験を実施する前に，厚生労働大臣に研究計画を申請し、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する倫理指針に従い審査していただき承認をいただいております。また、この臨床試験の開始時に，医学雑誌編集者国際委員会（Internatinal Committee of Medical Journal Editors:ICMJE ）の勧告に基づいて，この臨床試験の登録を行っております。

7 協力者への結果の開示

この臨床試験の結果は，2012 年頃に公表される予定です。個々の患者さんにお知らせすることはありませんが，担当医師に申し出ていただければお知らせいたします。

8 研究成果の公表

この臨床試験の結果は，2012 年頃に公表される予定です。医学雑誌などに発表する場合も，あなたを特定できる情報（氏名・住所・電話番号など）は記載しません。個人が特定できないように配慮されます。

9 研究から生じる知的財産権の帰属

この臨床試験の結果により何らかの新たな知見が得られることがあります。その際に生じる特許，その他知的財産に関する権利（特許権）は，提供されたデータに対してではなく，研究者達が研究やその成果の応用を行うことによって生まれた新しいアイデアに対するものです。ですから，特許権の発生により経済的利益が生じても，あなたはその権利を主張できません。また、この臨床研究を助成している財団法人 地域医学研究基金もその権利を主張できません。この臨床試験の結果によって生じる特許，その他知的財産に関する権利は，この臨床試験に参加した医療機関または試験担当医師に帰属します。

10 研究終了後の試料取扱の方針

症例報告書などのデータは，この臨床試験の最終試験報告書の作成後，10 年間保存します。始めの 3 年間は，データセンターに保管します。その後，主任研究者がデータを保存し，期間経過以降に廃棄します。データを破棄する場合は，匿名のまま廃棄します。

また、慶應病院内の個人情報の連結表は，研究終了後 10 年間個人情報管理者が厳重に管理し、期間

経過以降に廃棄します。データを破棄する場合は，匿名のまま廃棄します。

11 費用負担に関する事項

この臨床試験は，通常の治療と同じように健康保険の範囲内で行いますので，あなたには自己負担分をお支払い頂くことになります。

しかし，この臨床試験における試験治療期間にかかる費用、すなわち自己血中細胞移植治療に関係する期間に生じた全費用は、財団法人地域医学研究基金から助成された研究費より支払われます。

さらに，推奨療法のみを受ける被験者さんが本臨床試験で前もって決められている中止規準のうち，医師により、被験者さんの重症度が変化する、病変部位の潰瘍や壊疽が基準以上に大きくなる、新規の潰瘍・壊疽が出現するなど、原病の悪化と判断されたことで中止となり，医師が実施可能と判断しさらに被験者さんが希望した場合のみ細胞移植治療の実施が可能であり，この際の細胞移植治療に係る上記費用については，この臨床試験の研究費より支払われます。

財団法人 地域医学研究基金は，1984 年 8 月に設立され、医学・医療の研究者に数多くの助成金を交付しております。

財団法人 地域医学研究基金
〒321-0954　宇都宮市元今泉 2-1-3
TEL：028-635-6200、FAX：028-632-1166

この研究の研究責任者、及び研究代表者は、研究の遂行にあたって、特別な利益相反状態にはありません。

当院では、より優れた医療を社会に提供するために積極的に臨床研究を推進しています。そのための資金は、公的資金以外に企業や財団からの寄付や契約でまかなわれることもあります。現代社会では医学研究の発展にとって、企業との連携は必要不可欠なものとなっており、国も健全な産学連携を推奨しています。

一方で、産学連携を進めた場合、臨床研究が企業の利益のためになされるのではないかとか、研究についての説明が公正に行われないのではないかといった疑問が生じることがあります。このような状態を「利益相反」―患者さんの利益と研究者や企業の利益が相反（衝突）している状態―と呼びます。患者さんの利益が最優先されるべきであることは当然のことですが、臨床研究においてはその判断がきわめて難しくなっています。そのような問題に対応して、ヘルシンキ宣言は、「臨床研究においては、被験予定者に対して、資金源や起こりうる利害の衝突（利益相反）について十分な説明がなされなければならない」と定めています。

12 問い合わせ先

この臨床試験について，心配なことや，わからないこと，何か異常を感じられた時は，いつでも遠慮なく担当医師にご連絡ください。

研究担当責任者：　尾原　秀明
慶應義塾大学医学部　一般消化器外科　助教
住所　〒160-8582　東京都新宿区信濃町 35 一般消化器外科 医局
電話　03(5363)3802

以上の説明文書を読み終えられて、この臨床研究に参加していただけるようであれば、同意書に署名または記名・捺印をお願い致します。ご参加は強制ではなく、あなたの自由意志です。

研究協力の同意書

慶應義塾大学
医　学　部　長　殿

私は、「末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験」の研究について，＿＿＿年＿＿月＿＿＿日、説明文書を用いて説明を受け，研究の目的と方法, 私が協力して行う次の研究協力事項とその危険性について理解し、研究協力に同意します。

説明を受け理解した項目（□の中にご自分でレを付けて下さい。）

- □　1　研究目的
- □　2　研究協力の任意性と撤回の自由
- □　3　研究方法・研究協力事項
  - □　適格性確認のための諸検査を受けること
  - □　割付結果に従った治療を受けること
  - □　1･6･12 ヶ月後のフォローアップ検査を受けること
  - □　一斉調査に協力すること
  - □　診療情報を研究者に提供すること
- □　4　研究協力者にもたらされる利益および不利益
- □　5　個人情報の保護
- □　6　研究計画書等の開示
- □　7　協力者への結果の開示
- □　8　研究成果の公表
- □　9　研究から生じる知的財産権の帰属
- □　10　研究終了後の試料取扱の方針
- □　11　費用負担に関する事項
- □　12　問い合わせ先

同意日：　　年　　月　　日

（署名または捺印）＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

住所　＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

電話　＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

研究実施責任者　　尾原　秀明

説明者 氏名　＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

説明者 所属　＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

説明者 職位　＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

平成 22 年 4 月 21 日

財団法人住友病院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

財団法人住友病院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．末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験
　申請者：財団法人住友病院　院長　松澤佑次
　申請日：平成 22 年 3 月 8 日

１．ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	末梢動脈疾患患者に対するG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験
申請年月日	平成２２年３月８日
実施施設及び 研究責任者	実施施設：財団法人住友病院 研究責任者：阪口　勝彦
対象疾患	末梢動脈疾患
ヒト幹細胞の種類	G-CSF動員自家末梢血単核球細胞
実施期間及び 対象症例数	厚生労働大臣の意見発出から3年間、144例（推奨療法群72例，推奨療法＋細胞移植治療群72例）
治療研究の概要	G-CSF皮下注射から4日目に自己末梢血を採取、アフェレシスにより単核球を採取、末梢動脈疾患患肢に筋肉内注射し、末梢血管再生効果を見る。札幌北楡病院等を含む計21施設で多施設共同研究を予定。
その他（外国での状況等）	Inabaら、Asaharaらは，G-CSFで動員された末梢血単核球からCD34陽性細胞を単離・純化し，慢性重症下肢虚血患者に対して臨床研究を実施。一方,Kawamuraら(2005)はCD34陽性細胞を単離・純化することなく，G-CSF動員による末梢血由来の単核球細胞を重症下肢虚血患者への移植を報告している。その他、Huang, Ishida(2005)、Hoshino（2007）による同様の臨床研究の報告がある。
新規性について	本研究は用いる幹細胞、対象疾患としての新規性はないが、多施設臨床研究として実施され、推奨療法群あるいはG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植併用治療群のいずれかに無作為に割り付け，この併用治療の有効性と安全性を評価するものであり、ランダム化比較試験としての新規性を認める。

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 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
平成 22 年 3 月 8 日付けで財団法人住友病院から申請のあったヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：既存の治療に抵抗性の末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病））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。
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の検討結果

財団法人住友病院からのヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：既存の治療に抵抗性の末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病））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、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。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成２２年３月８日

厚生労働大臣　殿

研究機関	所　在　地	大阪府大阪市北区中之島 5-3-20（〒530-0005）
	名　　称	財団法人 住友病院 06-6443-1261（電話番号） 06-6444-3975（FAX 番号）
	研究機関の長 役職名・氏名	財団法人 住友病院 院長　松澤 佑次

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
末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験	財団法人 住友病院 腎センター センター長 腎臓・高血圧内科 診療主任部長 阪口 勝彦

ヒ ト 幹 細 胞 臨 床 研 究 実 施 計 画 書

臨床研究の名称		末梢動脈疾患患者に対するG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験
研究機関		
	名称	財団法人 住友病院
	所在地	〒530-0005 大阪府大阪市北区中之島5-3-20
	電話番号	06-6443-1261
	FAX番号	06-6444-3975
研究機関の長		
	氏名	松澤 佑次
	役職	院長
研究責任者		
	所属	腎センター、腎臓・高血圧内科
	役職	腎センター　センター長、腎臓・高血圧内科　診療主任部長
	氏名	阪口 勝彦
	連絡先 Tel/Fax	Tel: 06-6443-1261　/　Fax: 06-6444-3975
	連絡先 E-mail	sakaguchi-katsu@sumitomo-hp.or.jp
	最終学歴	昭和57年3月　大阪大学卒
	専攻科目	老年病医学、腎臓内科学
	専門医・指導医資格	日本内科学会認定内科医・指導医、腎臓学会認定専門医・指導医
	臨床経験歴	28年
	細胞治療研究歴	2年
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	
	所在地	
	電話番号/FAX番号	
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	
	氏名	
臨床研究の目的・意義		【目的】既存の治療に抵抗性の末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病）患者を対象として，TASCII及び日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」に準じて治療を行う推奨療法群あるいは推奨療法及びG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植併用治療群のいずれかへ無作為に割り付け，この併用治療の有効性と安全性を，推奨療法との比較によって評価する。 主要評価項目は，無増悪生存期間とする。また，副次評価項目は，Fontaine分類及びRutherford分類の推移，生存期間，下肢温存期間，下肢温存生存期間，有害事象の発生頻度及びその内容と，プロトコル治療開始後1, 6ヶ月後及び1年後の潰瘍・壊疽のサイズ，下肢の虚血性疼痛の重症度，足関節上腕血圧比，足肢上腕血圧比，跛行出現距離及び最大歩行距離とする。尚、本臨床試験は21施設の参加が予定されている多施設臨床試験である。 【意義】下肢末梢血管障害に対しては一定の効果が期待される治療法が存在はするものの，日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」によると間歇性跛行の場合，患者の約25%は臨床症状が悪化し，5～10%は慢性重症下肢虚血へ移行する。また，慢性重症下肢虚血の場合は 1 年後の転帰として，30%が下肢切断に，25%が死亡に至る。本邦においても，年間約 1 万人以上に下肢切断が行なわれているとも言われ，下肢切断は日常的QOLを著しく低下させ，生への意欲も喪失させるため，救肢は社会的及び医学的に急務である。
臨床研究の対象疾患		
	名称	末梢動脈疾患
	選定理由	近年，わが国においては一般人口における高齢化社会が急速に進行し，また生活習

		慣が欧米化した結果，下肢末梢血管障害，特に閉塞性動脈硬化症患者が増加していると言われている。下肢末梢血管障害は，間歇性跛行と慢性重症下肢虚血に大別される。前者は運動により必ず生じる筋肉のだるさや痛み，あるいはこむら返りといった下肢筋の不快な症状を訴え，これらは休憩により軽減する。一方，後者は典型的な慢性虚血性安静時疼痛や，潰瘍や壊疽などの虚血性皮膚病変を伴う。重症度分類である Fontaine 分類では間歇性跛行が FontaineⅡ，慢性重症下肢虚血が FontaineⅢ及びⅣとなる。 日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」によると間歇性跛行に対しては運動療法が一定の効果が認められている。3 ヶ月以上の間，監視下運動を実施した前向き試験では，トレッドミルにおける運動パフォーマンスの明らかな向上，及び運動時の痛みの軽減が見られている。しかしながら，多くの患者には例えば重症冠動脈疾患，筋骨格系の制限，神経学的障害等により運動の禁忌がある。さらに，運動施設まで遠い，居住区域では適切な運動プログラムが利用できない，あるいはかかる費用が高いという理由で，監視下運動療法に参加したがらない患者もいる。また，間歇性跛行に対する薬物療法に関しては，血管拡張，代謝及び抗血小板作用を持つホスホジエステラーゼⅢ阻害剤であるシロスタゾールならびにセロトニンのタイプ 2 拮抗薬で，筋代謝を改善し，赤血球及び血小板の凝集を抑制するとされるナフチドロフリルが臨床的有用性についてエビデンスを有する医薬品とされている。シロスタゾールはランダム化プラセボ比較試験において QOL の向上を伴う無痛歩行距離ならびに最大歩行距離の延長を示した。ナフチドロフリルはプラセボと比較し，無痛歩行距離を 26%延長した。また，最近の 3 つの試験において，ナフチドロフリルによるトレッドミルパフォーマンス及び QOL に対する効果が確認された。（ナフチドロフリルは本邦では未承認薬） 同様に慢性重症下肢虚血に対する治療としては日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」によると，血行再建術が最適な治療とされている。しかしながら，重度の併存症を有する，あるいは閉塞性動脈硬化の部位や範囲によって血行再建術の対象とならない場合がある。腸骨動脈及び膝窩動脈の閉塞に対して血行再建術は有効であるが，膝窩動脈以下の動脈閉塞に対してのエビデンスは不十分である。また薬物療法に関しては，現在推奨される医薬品は存在しない。 別紙 6：臨床試験実施計画書；3.根拠と背景（4 頁 14 行～5 頁 2 行）参照
被験者等の選定基準		登録時において，以下の選択規準をすべて満たし，除外規準のいずれにも該当しない症例を適格症例とする。 **選択規準** 1) 下肢血管造影にて閉塞あるいは狭窄が確認された，慢性閉塞性動脈硬化症又はバージャー病患者 2) Fontaine 重症度分類のⅡからⅣかつ，より重症な一方の下肢が Rutherford 重症度分類の 3 から 5 群に分類される患者 3) 血管形成術や膝窩動脈までのバイパス手術の適応がない患者(狭窄部位がびまん性，あるいは末梢の細小動脈に存在しバイパス術や形成術の適用が不可能な重症患者)，あるいはこれらの既存治療を受けたにもかかわらずコントロール不良な患者 4) 非喫煙患者又は 1 ヶ月以上禁煙している患者 5) 同意取得時の年齢が 20 歳以上 75 歳以下で，本人から文書による同意が得られている患者 **除外規準** 1) 1 ヶ月以内に Fontaine 分類あるいは Rutherford 分類で重症度が増悪している病態進行性の患者 2) 大切断が予定されている患者 3) 血管形成術又はバイパス手術，他の外科的治療，もしくは LDL アフェレシスから 1 ヶ月以上経過していない患者 4) G-CSF 製剤及びアフェレシスに対する重篤な過敏症，副作用の既往を有する患者 5) コントロール不良な虚血性心疾患，心不全，不整脈を合併する患者 6) 頭蓋内外の主幹動脈に重度の狭窄性病変を有する患者 7) 心筋梗塞，脳梗塞，脳出血又は一過性脳虚血発作発症後 6 ヶ月未満の患者 8) 虚血性心疾患，脳梗塞又は脳出血の既往があり Fontaine Ⅳ度に分類される透析

	施行中の患者 9) 糖尿病増殖性網膜症（新福田分類 BI から BV）を合併する患者 10) 悪性腫瘍を合併する，又は 3 年以内の既往である患者 11) 血液検査の結果，白血球 4,000/μL 未満又は 10,000/μL 以上，血小板数が 50,000/μL 未満，AST(GOT)100 IU/L 以上，ALT(GPT)100 IU/L 以上のうち，いずれかに該当する患者 12) 間質性肺炎の合併あるいは既往のある，又は間質性肺炎を起こす可能性のある薬剤を服薬中の患者 13) 38℃以上の発熱を伴う感染症を合併する患者 14) 脾腫が認められる患者 15) 原疾患に起因しない他の要因による跛行症状，安静時疼痛，皮膚潰瘍及び壊疽を有する患者 16) 下肢に重症の神経障害を有しており本臨床試験における評価が困難である患者 17) コントロール困難な精神障害を合併する患者 18) 甲状腺機能亢進症を合併あるいは既往のある患者 19) 他の臨床試験に参加中の，又は以前に参加した臨床試験の終了から 6 ヶ月以上経過していない患者 20) 妊婦，授乳婦，妊娠している可能性のある又は治療期終了時までに妊娠を計画している女性患者，あるいはパートナーの妊娠を希望する男性患者 別紙 6：臨床試験実施計画書；9.適格基準（16 頁）参照
臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞
由来	○自己 ・ ×~~非自己~~ ・ ×~~株化細胞~~ ○生体由来 ・ ×~~死体由来~~
採取、調製、移植又は投与の方法	1. G-CSF 投与の手順 1) フィルグラスチムを 1 回 200μg/m² (5μg/kg 相当)の用量で，1 日 1 回 4 日間皮下注射する。 2) フィルグラスチム投与中は連日血液学的検査を施行する。白血球数が 50,000/μl を超えた場合はフィルグラスチムを 1 日 1 回 100μg/m² (2.5μg/kg 相当)に減量し，75,000/μl を超えた場合はフィルグラスチム投与を中止する。 3) 4 あるいは 5 日目に血液成分分離装置を用いてアフェレシスを行う。 2. 血液処理量 血液成分分離装置：独国フレゼニウス社製 COM.TEC を用いて、血液処理量は患者体重当たり 100～200ml（体重 50kg の場合 5L～10L）とし，総血液処理量は 10L を上限とする。 3. 採取の手順 1) 採取に先立ち，十分な血流が維持できる静脈または血液透析用シャントから採血ラインと返血ラインを確保する。 2) 採取中は医師と看護師が立ち会い，定期的に血圧と心電図をモニターしながら実施する。血管迷走神経反射，クエン酸中毒，不整脈，心虚血症状，穿刺部位の出血や血腫などの合併症に細心の注意を払う。 3) 採取に伴って血小板数が減少するため，採取終了直後に血小板数を測定する。 4) 採取終了後少なくとも 30 分間は採取施設内で安静を保ち，体調に問題がないことを確認する。 4. 採取細胞の評価 成分採血装置の回路より単核球液の入った採血パックを無菌的に取り出し，操作アダプターを採血パックに取り付け検体の一部を，シリンジで無菌的に採取し，血液検査と CD34 陽性細胞の定量用に提出する。 有核細胞数を目算又は自動血球測定器で，CD34 陽性細胞陽性率をフローサイトメトリーで ISCT(International Society for Cellular Therapy）法に準じた方法で測定し，産物量をもとに総有核細胞数と細胞分画、総 CD34 陽性細胞数を算出する。 5. 移植方法 細胞移植は手術室で麻酔の下で実施し，両下肢に病変がある場合は両下肢に、採取細胞全量を使用し細胞移植を実施する。 移植予定部位 血管造影で血流の途絶がある範囲を中心とした筋肉内（腓腹筋・前脛骨筋・足底

		部・足趾等）と，壊疽，潰瘍がある場合には，その周囲を移植予定部位とする。 6. 消毒方法 ・ 移植予定部位をポビドンヨードで消毒する。 ・ 消毒は移植予定部位よりも十分に広く行う。 ・ 全周性に行い，指間は無消毒野が残らないよう十分に注意して行う。 ・ 壊死部がある場合には綿球を変え十分に消毒を行う。 ・ ポビドンヨードがアレルギー等で使用できない場合は塩化ベンザルコニウムなどを使用する。 7. 細胞溶液の注入方法 1) 1 ヵ所の注入量は 0.5mL を目安とし、採取された細胞溶液量より概算で何ヵ所注射できるかを検討し注入ヵ所数（目安として 70～150 ヵ所）を決定し、注入部位をマーキングする。 2) 採取液は均一に攪拌した上で、採取バックの操作アダプターからシリンジで無菌的に採取し，移植予定部位に，23～27G 針を用いて筋注する。 3) 指腹，足底部の皮膚が厚い部位への注入は 1 回の注入溶液量を少なめに調節する。 8. 細胞移植後の局所処置法 移植部位をポビドンヨードで消毒する。注射部位から軽度出血があれば圧迫止血を行う。
	調製（加工）行程	×~~有~~ ・ ○無
	非自己由来材料使用	×~~有~~ ・ ○無 ~~動物種（　　）~~
	複数機関での実施	×~~有~~ ・ ○無
	他の医療機関への授受・販売	×~~有~~ ・ ○無
安全性についての評価		末梢血管再生治療研究会への参加 6 施設を対象に，2001 年 12 月 1 日から 2006 年 12 月 31 日までの間に，重症下肢末梢血管障害の患者へ G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞を移植した 162 症例のレトロスペクティブ調査（PAD-CT Retro）を行い，移植の治療成績及び有害事象の発現の種類/頻度を解析した。全症例から極めて予後不良の Rutherford 分類 6 群 21 例，Fontaine 分類不能 7 例，糖尿病性壊疽 4 例及び SLE 7 例の計 39 例を除外した 123 例の解析結果から，予後因子は Fontaine 分類と壊疽有無と透析歴が有意に独立した因子として選択された。また，移植後 1 ヶ月以内の治療関連死亡は見られなかった。1 年以内の死亡は 15 症例（12.2%）で，虚血性心疾患の既往がある透析患者が 9 例（60%），脳血管障害の既往がある透析患者が 2 例（13%）含まれおり，死因は心不全 4 例，心筋梗塞 3 例，脳梗塞 2 例，肺炎 2 例，不整脈 1 例，胆嚢炎 1 例，呼吸不全 1 例，自殺 1 例であった（自家末梢血単核球細胞移植 概要書参照）。日本透析学会の統計データでは，2005 年末には全透析患者は 257,765 症例，2006 年の死亡患者数は 24,034 症例（9.3%）で，死亡原因は心不全 24.9%，脳血管障害 9.4%，感染症 19.9%，悪性腫瘍 9.2%，カリウム中毒/頓死 5.1%，心筋梗塞 4.4%，悪液質/尿毒症 3.1%，慢性肝炎/肝硬変 1.3%，腸閉塞 1.1%，自殺/拒否 0.9%，災害死 0.7%，肺血栓/肺梗塞 0.3%，脳症 0.1%，その他 9.5%，不明 8.3%と報告されている。なお，本臨床試験の適格規準では，PAD-CT Retro の 1 年以内死亡例 15 例は全て不適格であった。また、全症例中、ASO で糖尿病を合併している 93 例の患者（既往歴平均 20.8 年）で，G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療に起因した重篤な有害事象は発生していない。 その他，Huang ら，Ishida ら，Hoshino ら，もほぼ同様に G-CSF 動員による末梢血由来の単核球細胞を重症下肢虚血患者に移植し有用な結果を得たことを報告している。 別紙 4：自家末梢血単核球細胞移植概要書：2.4 患者情報，移植前検査所見，移植情報の要約（7～10 頁）、2.5 エンドポイントの解析（11～17 頁）、2.6 追加解析結果（18～24 頁）参照 別紙 6：臨床試験実施計画書；3.根拠と背景（6 頁 3～20 行）参照
臨床研究の実施が可能であると判断した理由		最近再生医療の研究が盛んとなり，特に血管の再生研究が数多くなされ，既にいくつも臨床研究が実施され，その有効性が示唆されるものも出てきた。当初は血管内皮増殖因子（VEGF）や，線維芽細胞増殖因子（FGF）などの血管新生因子の利用が検討されたが，それらの因子そのものでは主に半減期が短いことから，それらを分泌させる遺伝子治療が考えられ，実際に臨床研究もなされている。 Isner らは VEGF の遺伝子治療を，Morishita らは HGF の遺伝子治療を実施し，

	一定の治療効果が認められたことを報告している。しかしながら現段階では，これらは対照群のない小規模な試験にとどまっており，また遺伝子治療という特殊性から試料調製の煩雑さと安全性への懸念が残る。 白血病を中心とした血液悪性腫瘍においては薬剤による化学療法あるいは全身放射線照射後に自家及び同種の造血幹細胞移植が普及しており現在では年間 17,000 件以上が実施されている。当初，移植のための造血幹細胞を含む単核球細胞は全身麻酔及び自己血輸血が必要な骨髄からの採取であったが，造血幹細胞を骨髄から末梢血に動員させることの出来る G-CSF が利用可能となると末梢血からの造血幹細胞を含む単核球細胞の採取が普及してきた。 このような背景の元，別の面からのアプローチとして，Asahara らがヒトの CD34 陽性造血幹細胞中に血管内皮前駆細胞が存在し，これらを下肢虚血モデル動物に移植することにより，血管が再生されることを明らかにしたことに端を発し，造血幹細胞の傷害部位への移植に注目が集まってきた。そのような中で 2002 年，Matsubara らは重症下肢虚血患者へ骨髄由来の単核球移植を試みて，臨床上有用性があることを報告している。骨髄由来単核球細胞には，血管内皮前駆細胞（CD34 陽性細胞）は数%しか含まれておらず，その他の細胞も同時に移植することの危険性も指摘されている。Matsubara らの報告以降，国内外の数多くの施設で，同様の手技による治療が試みられ，本邦でもすでに 10 施設以上が先進医療の認定を受けている。現在まで懸念されているような骨髄由来単核球細胞移植に伴う副作用は報告されていない。 骨髄由来単核球細胞の危険性回避，並びに効率的な血管再生を目指し，Inaba らや Asahara ら（データ未発表）は，G-CSF で動員された末梢血単核球から CD34 陽性細胞を単離・純化し，慢性重症下肢虚血患者に移植し臨床効果が確認されている。末梢血単核球からの CD34 陽性細胞単離・純化には，煩雑な操作及び費用がかかるためか，その後同様の治療研究を試みる施設は少ない。 一方，Kawamura らは CD34 陽性細胞を単離・純化することなく，G-CSF 動員による末梢血由来の単核球細胞を重症下肢虚血患者に移植することを試みた。その結果，臨床効果を認め，同時に G-CSF，アフェレシス，あるいは移植した細胞に由来すると考えられるような重篤な副作用は報告されていない。 次いで本臨床試験において造血幹細胞動員のための G-CSF の投与量及び投与期間の設定に至った背景について記す。 G-CSF（フィルグラスチム）は 1991 年の発売以降，主に「がん化学療法による好中球減少症」を対象に世界中で用いられてきたが，2000 年本邦において「造血幹細胞の末梢血中への動員」の効能・効果が追加され，がん患者あるいは健康人ドナーに 400μg/m^2（10μg/kg 相当）を 1 日 1 回又は 2 回に分割し，5 日間連日又は末梢血幹細胞採取終了時まで連日皮下投与するという用量・用法で用いられてきた。また，Asahara らの報告以降，造血幹細胞あるいはそれを含む単核球を用いて血管を再生させるという研究が盛んに行なわれ，中には Minatoguchi らの様に単核球細胞を採取することなしに G-CSF による動員のみで心筋梗塞モデル動物の心血管再生を試み，一定の効果を確認したという報告もなされた。その後，これらの成果を臨床に結び付けるべく心筋梗塞後の患者を初めとした心血管障害患者に，G-CSF を投与する臨床研究が幾つかなされた。 Hill らは彼らの臨床研究から G-CSF の 10μg/kg を 5 日間投与することにより，重症心血管障害患者に心筋梗塞が引き起こされる可能性を指摘したが，対照群の設定が無く患者群もリスクが高かったため，G-CSF と心筋梗塞発症の間に明確な因果関係は判らなかった。また，Kang らは，心筋梗塞発症後の患者に G-CSF の 10μg/kg を 4 日間投与し，狭窄血管部にステントを挿置したところ，その後の観察でステント挿置部位に再狭窄が観察されたと報告している。ただし，その後 Kang らは G-CSF の投与量を 5μg/kg 投与日数を 3 日間とし，さらに挿置するステントを通常の bare metal から，薬剤が塗布された DES（Drug Eluting Stent）とすることで再狭窄は見られなくなると報告した。 さらに，Kuethe ら，Ince ら，Zohlnhofer ら，Ripa ら，Jorgensen ら，Susuki らにより心筋梗塞を中心とした心疾患患者に，G-CSF を投与するという臨床研究が行なわれた。効果は各々の研究でまちまちの結果であったが，安全性に関してはすべての臨床研究で G-CSF に起因するものと考えられる副作用は観察されず，これらすべての報告においては対象とした心疾患患者に対する G-CSF 投与は安全で認容性ありとしている。なお，これらの臨床研究の殆どで対照群が設定されており，また G-CSF の投与量は 10μg/kg がほとんどで，投与期間は 4 から 7 日であった。また，前出の重症下肢虚血患者に対する臨床研究では，Inaba ら，Kawamura ら，Hoshino

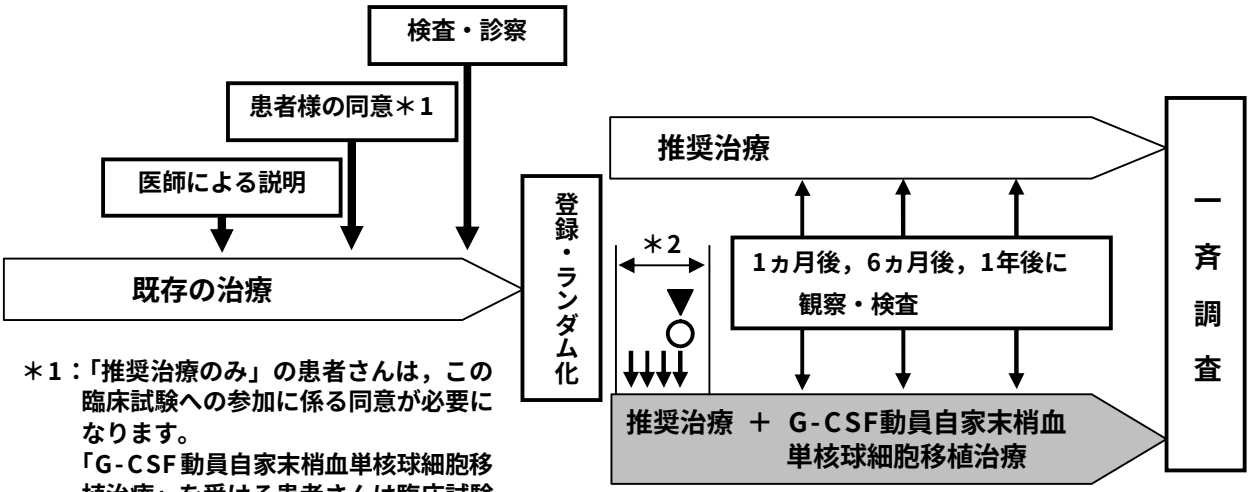
	ら，はG-CSFを5μg/kgで4日間投与することで，またAsaharaら（データ未発表），Huangら，Ishidaらは10μg/kgで5日間投与することで，造血幹細胞の末梢血への動員を行なっていた。 一方，幹細胞動員に用いられるG-CSF（フィルグラスチム）の投与量・投与期間は通常400μg/m²（10μg/kg相当）を5日間（4～6日間）であるが，Tanakaらが実施した10名の健康人ドナーにおける，フィルグラスチムの投与量と造血幹細胞動員効果及び認容性を検討した臨床研究においては，動員効果と認容性の面から200μg/m²（5μg/kg相当）を5日間皮下投与することが至適であると結論している。 本臨床試験におけるG-CSF（フィルグラスチム）の投与量・投与期間を決定するにあたり，上記Inabaら，Kawamuraら，Hoshinoらの臨床研究において200μg/m²（5μg/kg相当）の用量で有効性並びに安全性が確認されたことと併せて末梢血管再生治療研究会のPAD-Retro調査及び全般的な安全性を考慮した結果，本臨床試験において造血幹細胞を動員するためのG-CSF（フィルグラスチム）投与量・投与期間を，200μg/m²（5μg/kg相当）4日間とした。 以上の状況から，下肢末梢血管障害に対する単核球細胞移植はその細胞の由来に依らず臨床効果が期待されるが，明確に計画されランダマイズされた大規模な試験が存在しないため，効果と安全性を明確に示唆するまでには至っておらず，移植細胞由来毎に治療法を比較した試験が存在しないため，臨床効果及び安全性の比較をすることはできない。また，病態から考えると，病態が進行してこれらの治療法を持ってしても，治療効果が期待できなくなる前に，これらの治療が実施されることが望まれるが，病態が軽症～中等症の患者に対してリスクとベネフィットは未だ明らかにされていない。 これらを鑑み，軽症～中等症を含み，かつ単核球細胞移植の効果が得られにくいと考える病態進行性の症例を除いた患者（具体的には，下肢血管造影にて閉塞あるいは狭窄が確認された，慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病患者で，Fontaine重症度分類のⅡ･Ⅲ･Ⅳ，かつ，より重症な一方の下肢がRutherford重症度分類の分類の3･4群又は5群に属する患者）を対象に，TASCII及び日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」に準じて行われる「推奨療法」あるいは，「推奨療法及びG-CSF動員による末梢血から採取した自家末梢血単核球細胞移植治療」のいずれかをランダムに割り付け，この併用治療が推奨療法に比べて優越した有効性を示し，かつ同等の安全性を有することを検証することとした。 別紙6：臨床試験実施計画書；3.根拠と背景（5頁9行～6頁1行、6頁20行～7頁）参照
臨床研究の実施計画	本臨床試験は、末梢血管再生治療研究会主導による、「末梢動脈疾患患者に対するG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験」に参加することにより北野病院で実施されるものである。内容は、既存の治療に抵抗性の末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病）患者で、上記選択基準・除外基準に合致する患者を対象として，TASCII及び日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」に準じて治療を行う推奨療法群あるいは推奨療法及びG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植併用治療群のいずれかへランダムに割り付け，この併用治療の有効性と安全性を，推奨療法との比較によって評価する。全体のプロトコールで144例（推奨療法群72例，推奨療法＋細胞移植治療群72例）が目標症例数であり、このうちの一部（約10例）を担当する。試験期間は2009年1月～2012年1月で、プロトコール治療は登録から1年間、最終症例登録後1年後には一斉調査を行なう。 別紙6：試験実施計画書参照
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	試験責任医師又は試験分担医師は，被験者が本臨床試験に参加する前に，被験者に対して説明・同意文書を用いて十分に口頭で詳しく説明し，本臨床試験の参加について自由意思による同意を被験者から文書により得るものとする。 試験責任医師又は試験分担医師は，同意を得る前に被験者が質問をする機会と，本臨床試験に参加するか否かを判断するのに十分な時間を与えるものとする。その際，試験責任医師又は試験分担医師，又は補足説明者としての本臨床試験協力者は，全ての質問に対して被験者が満足するように答えるものとする。 同意文書には，説明を行った試験責任医師又は試験分担医師及び被験者が各自日付を記入し，記名捺印又は署名する。その同意文書は被験者へ交付し，実施医療機

		関ではその写し等をカルテに添付して保管する。なお，本臨床試験協力者が補足的に説明を行った場合には，協力者も記名捺印又は署名し，日付を記入するものとする。 　被験者が本臨床試験に参加している間に，説明・同意説明文書が改訂された場合は，試験責任医師又は試験分担医師は，その都度当該情報を速やかに被験者に伝え本臨床試験に参加するか否かについて，被験者の意思を確認するとともに，改訂された説明・同意文書を用いて改めて説明し，本臨床試験の参加継続について被験者から自由意思による同意を文書により得るものとする。 　本臨床試験参加中の被験者が同意の撤回を申し出た場合，試験責任医師又は試験分担医師，ならびに被験者はその旨を記載した文書（同意撤回文書）に各自日付を記入し，記名捺印又は署名する。その同意撤回文書は被験者へ交付し，実施医療機関ではその写し等をカルテに添付して保管する。 別紙 6：臨床試験実施計画書；8.説明と同意（15 頁）参照
	説明事項	説明文書・同意書（様式）及び同意撤回書は試験責任医師が作成する。説明文書には，少なくとも以下の事項が含まれていなければならない。ただし，被験者を意図的に誘導するような記載をしてはならない。 1)　試験が研究を伴うこと 2)　試験の目的 3)　試験の方法 4)　被験者の試験への参加予定期間 5)　試験に参加する予定の被験者数 6)　予期される臨床上の利益及び危険性又は不便 7)　患者を被験者にする場合には，当該患者に対する他の治療方法の有無及びその治療方法に関して予想される重要な利益及び危険性 8)　試験に関連する健康被害が発生した場合に被験者が受けることのできる補償及び治療 9)　試験への参加は被験者の自由意思によるものであり，被験者（又はその代諾者）は，被験者の試験への参加を随時拒否又は撤回することができること。また，拒否・撤回によって被験者が不利な扱いを受けたり，試験に参加しない場合に受けるべき利益を失ったりすることはないこと。 10)　試験への参加の継続について被験者（又はその代諾者）の意思に影響を与える可能性のある情報が得られた場合には速やかに被験者（又はその代諾者）に伝えられること。 11)　試験への参加を中止させる場合の条件又は理由 12)　モニタリング又は監査担当者，倫理審査委員会及び規制当局が原医療記録を閲覧できること。その際，被験者の秘密は保全されること。また，同意書（様式）に被験者（又はその代諾者）が記名捺印又は署名することによって閲覧を認めたことになること。 13)　試験の結果が公表される場合であっても，被験者の秘密は保全されること。 14)　被験者が費用負担する場合にはその内容 15)　被験者に金銭等が支払われる場合にはその内容 16)　試験責任医師又は試験分担医師の氏名，職名，連絡先 17)　被験者が試験及び被験者の権利に関してさらに情報が欲しい場合又は試験に関連する健康被害が生じた場合に照会すべき又は連絡をとるべき実施医療機関の相談窓口 18)　被験者が守るべき事項 19)　当該臨床試験の成果により特許権等が生み出される可能性があること及び特許権等が生み出された場合の帰属先 20)　当該臨床試験に係る資金源，起こりうる利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり 21)　説明文書作成日，版 　同意書（様式）には，以下の事項を含まなければならない。 1)　臨床試験名 2)　説明文書作成日，版 3)　説明日，試験責任医師又は試験分担医師の記名捺印もしくは署名欄 4)　同意日，被験者の記名捺印もしくは署名欄

		5) 説明の内容を理解し，試験に参加することに同意する旨の記述 6) 実施医療機関名 同意撤回書には，以下の事項を含まなければならない。 1) 臨床試験名 2) 試験責任医師又は試験分担医師の記名捺印もしくは署名欄 3) 同意撤回日，被験者の記名捺印もしくは署名欄 4) 試験参加への同意を撤回する旨の記述 5) 実施医療機関名 試験開始後に試験責任医師が被験者の同意に関連する新たな知見を得，説明文書・同意書（様式）の改訂が必要と判断した場合には，それを改訂する。被験者の同意に関連する新たな知見とは，例えば当該治療法等に関連する新たな有害事象の情報，あるいは当該疾患に係る新治療法等の開発に関する情報などを指す。なお，改訂の内容を重大と判断する場合は所属する医療機関の倫理審査委員会に提出し，その承認を得る。 別紙 5：説明同意文書；参照 別紙 6：臨床試験実施計画書；19.倫理的事項（41～42 頁）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もの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		主任研究者，研究事務局及び独立データモニタリング委員は，一次報告後の対応，二次報告後の対応，独立データモニタリング委員会による評価・勧告，対策の決定，最終報告後の対応を行う。手順の詳細については，臨床試験実施計画書等を参照のこと 別紙 6：臨床試験実施計画書；12.有害事象・重大な事態の評価・報告（23～25 頁）、18.独立データモニタリング委員会（41 頁）、22.試験の終了と早期中止（45 頁）、27.9 重篤な有害事象発生時の報告・対応マニュアル（82～85 頁）参照
臨床研究終了後の追跡調査の方法		最終症例登録から 1 年後に，一斉調査（転帰と細胞移植治療実施の有無）を行う。
臨床研究に伴う補償		
	補償の有無	×~~有~~　・　○無 本臨床試験の G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療実施に起因して有害事象が発生し被験者に健康被害が生じた時は，適切な治療その他必要な措置を受けることができるように実施医療機関，試験責任医師，主任研究者が対応し，提供される治療等には財団法人地域医学研究基金から助成された施設研究費で支払う。だだし、被験者への金銭での補償は行わない。
	補償がある場合、その内容	
個人情報保護の方法		
	連結可能匿名化の方法	試験責任医師及び試験分担医師は，症例登録票及び症例報告書等を当該医療機関外に提供する際には，連結可能匿名化を行うために新たに被験者識別コードを付し，それを用いる。医療機関外の者が，被験者を特定できる情報（氏名・住所・電話番号など）は記載しない。 別紙 6：臨床試験実施計画書；27.7.匿名化番号対照表（78 頁）参照
	その他	試験に携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。データセンターが医療機関へ照会する際の被験者の特定は，試験責任医師及び試験分担医師が管理する被験者識別コード又はデータセンターが発行した登録番号を用いて行う。原資料の直接閲覧を行ったモニタリング担当者，監査担当者，規制当局の担当者などは，そこで得られた情報を外部へ漏洩しない。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に配慮する。

その他必要な事項 （細則を確認してください）	① 当該研究に係わる研究資金の調達方法
	本臨床試験は，財団法人地域医学研究基金の助成により実施される。 別紙 6：臨床試験実施計画書；20.試験の費用負担（44 頁）参照
	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
	本臨床試験と同等の治療を、既に下記の 6 施設が実施しており臨床効果が期待されるが、末梢動脈疾患の推奨治療（TASCII 及び日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」）と明確に計画され無作為に割り付けされた大規模な試験を行っていないため、有効性を明確に示唆するまでには至っていない。 ①当該治療を 2005 年 6 月に高度先進医療の認定を受け、健康保険法が改正した 2006 年 10 月からは先進医療として当該治療を実施。 北楡会 札幌北楡病院 ②当該治療を 2006 年 10 月以降、先進医療の認定を受け当該治療を実施。 独立行政法人国立病院機構 千葉東病院 東京医科歯科大学医学部附属病院 ③ヒト幹細胞を用いる臨床研究の倫理指針の施行前(平成 18 年 9 月 1 日以前)に施設の倫理委員会から当該治療の実施の承認を得て単施設の臨床研究として実施。 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 板橋中央総合病院 神奈川県循環器呼吸器病センター 本臨床試験は下記の 21 施設の参加が予定されている多施設臨床試験として実施され、既存の治療に抵抗性の末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病）患者を対象として，TASCII 及び日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」に準じた治療が行われる推奨療法群あるいは推奨療法及び G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植併用治療群のいずれかを無作為に割り付け，この併用治療の有効性と安全性を推奨療法との比較によって評価する。 主任研究者 北楡会 札幌北楡病院 外科　堀江 卓 研究参加予定施設及び試験責任医師 北楡会 札幌北楡病院 外科　堀江 卓 市立函館病院 心臓血管外科　森下 清文 青森県立中央病院 血液内科　久保 恒明 国立病院機構千葉東病院 外科　岩下 力 明生会 東葉クリニック 外科　林 良輔 板橋中央総合病院 血液浄化療法部　赤松 眞 東邦大学医療センター大森病院 腎センター　水入 苑生 東京医科歯科大学医学部附属病院 老年病内科　金子 英司 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 腎センター　星野 純一 慶應義塾大学病院 一般・消化器外科　尾原 秀明 神奈川県立循環器呼吸器病センター 心臓血管外科　市川 由紀夫 東海大学医学部 外科学系 形成外科学　田中 理佳 湘南鎌倉総合病院 腎臓内科　小林 修三 田附興風会 医学研究所 北野病院 血液浄化センター　塚本 達雄 国家公務員共済組合連合会 呉共済病院 内科　久傳 康史 島根大学医学部附属病院 心臓血管外科　織田 禎二 徳島赤十字病院 外科　阪田 章聖 天神会 新古賀病院　古賀 伸彦 長崎大学医学部･歯学部附属病院 血液浄化療法部　錦戸 雅春 有隣厚生会 東部病院 血管外科　花田 明香 財団法人 住友病院 腎センター　阪口 勝彦

本臨床試験の手順



＊1：「推奨治療のみ」の患者さんは，この臨床試験への参加に係る同意が必要になります。
「G-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植治療」を受ける患者さんは臨床試験への参加に係る同意と併せて，「細胞採取」，「細胞移植」に係る同意が必要になります。

＊2 約7から10日間の入院を必要とします。
↓：G-CSF投与
○：細胞採取
▼：細胞移植

G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療の説明図

G-CSF を，1 日 1 回体表面積 m^2 あたり 200μg（体重 kg あたり 5μg）を，連続 4 日間皮下注射します。

皮下注射開始後 4 日目に血液成分分離装置を使用して，静脈から 3～4 時間かけて単核球細胞成分を 50～100mL ほど採取パックに採取します。なお，この装置は厚生労働省から製造販売輸入承認を受けている装置であり，医療機器として医療の現場で使用されています。

手術室で麻酔科医の麻酔管理のもと、採取した全ての単核球細胞を，採取バックの操作アダプターからシリンジで無菌的に採取し、1 部位 0.5mL を上限として筋肉内注射により移植します。

添付資料

- 研究者の略歴および研究業績・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・別紙 1
- 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況・・・・・・・・・・・別紙 2
- 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・・・・別紙 3
- 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・・・・・・・別紙 4
- インフォームド・コンセントにおける説明文章及び同意文章様式・・・別紙 5
- 試験実施計画書　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・別紙 6
- 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況・・・・・・・・・別紙 7

別紙 3

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

1. この臨床試験の必要性

1). 慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病について

慢性閉塞性動脈硬化症は，動脈硬化その他の原因のために血液の流れが悪くなり慢性の血流障害を起こすことで，足先の冷たい感じやしびれ，歩行時の痛み，安静時でも感じる痛み，さらには足先の潰瘍（皮膚の一部がただれてくずれた状態），壊死（組織の一部が死んだ状態）を起こし，下肢切断に至ることもあります。

バージャー病は閉塞性血栓血管炎と呼ばれることもあり，血栓による動脈閉塞のために血流障害を起こすことが原因で，慢性閉塞性動脈硬化症と似た症状を示します。

日本では，慢性閉塞性動脈硬化症患者は約 500 万人，バージャー病患者は約 1 万人いるといわれています。現在，生活環境の欧米化・高齢化に伴い，慢性閉塞性動脈硬化症患者が急速に増加しています。

2). 従来の治療

慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病に対して，日本の学会や国際的に推奨される治療指針に従い，危険因子として考えられている高血圧症，糖尿病，高脂血症，高尿酸血症を合併する場合にはこれらに対する治療を行われ，合わせて血流改善を目的として抗血小板薬が使用されます。

さらに，症状に応じて歩行等の運動療法や局所保温・炭酸泉療法，血管拡張薬などの薬物療法も実施され，喫煙者には禁煙の指導が行われます。

また，膝から上の比較的太い動脈に狭窄部位がある重症患者に対しては，カテーテルによる血管拡張術や血管バイパス術などの手術が実施されます。薬物治療で十分な効果が得られず外科的治療が困難な場合には，動脈硬化の原因の一つとされる血漿中の LDL コレステロールなどを除去する目的で血漿交換療法が用いられます。

しかし，これらの薬を服用しても足先の冷たい感じやしびれ，歩行時の痛み，安静時でも感じる痛みおよび足先の潰瘍の改善効果が得られない場合や，病変部位や範囲によって手術の対象とならない，または手術をしても症状が再発する場合があり，下肢の切断を余儀なくされる患者が年間 1 万人以上いるのが現状です。

よって，これら難治性状態を克服するような新たな治療が望まれています。

2. 新しい治療

慢性閉塞性動脈硬化症およびバージャー病に対する新しい治療として，「顆粒球増殖因子（G-CSF）動員自家末梢血単核球細胞移植」（以下，『自己血中細胞移植治療』と呼びます）があります。

これは，G-CSF を使って，自己血中の血管発生を促す可能性がある細胞を集め，集めた細胞を下肢の病変部位の筋肉内に一定の間隔で注射することで，血流を改善させ，患者の症状を軽減させることを目標とした治療が提案されています。この治療は，これまでのいくつかの臨床研究結果から有用性が示唆されており，従来の治療で効果が得られない，または手術の適応が困難な部位に病変がある患者に対する治療になる可能性があります。

その他の血管再生療法として，肝細胞増殖因子や血管内皮細胞増殖因子などの人工的遺伝子を注入する方法や，自分の骨髄細胞を用いた細胞移植法が報告されています。しかし遺伝子物質による治療法は倫理面，骨髄細胞移植法は長時間全身麻酔による体力面の問題があり，我々は自己血中細胞移植治療が低侵襲で優れた治療法であると考えています。

3. この臨床試験の目的

この臨床試験では，慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病の患者に，日本の学会や国際的に推奨される治療指針に従った「推奨治療のみ」，あるいは「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」のいずれかを受けていただき，「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」の有効性と安全性を調べます。

4. この臨床試験の方法

対象となる患者

1) 下肢血管造影にて閉塞あるいは狭窄が確認された慢性閉塞性動脈硬化症又はバージャー病患者であること。
2) 非喫煙患者又は 1 ヶ月以上禁煙している患者
3) 同意取得時の年齢が 20 歳以上 75 歳以下で，患者本人から文書同意が得られていること。
4) 病態進行性の患者ではないこと。
5) 大切断が予定されている患者ではないこと。
6) G-CSF 製剤及びアフェレシスに対する重篤な過敏症，副作用の既往を有する患者ではないこと。

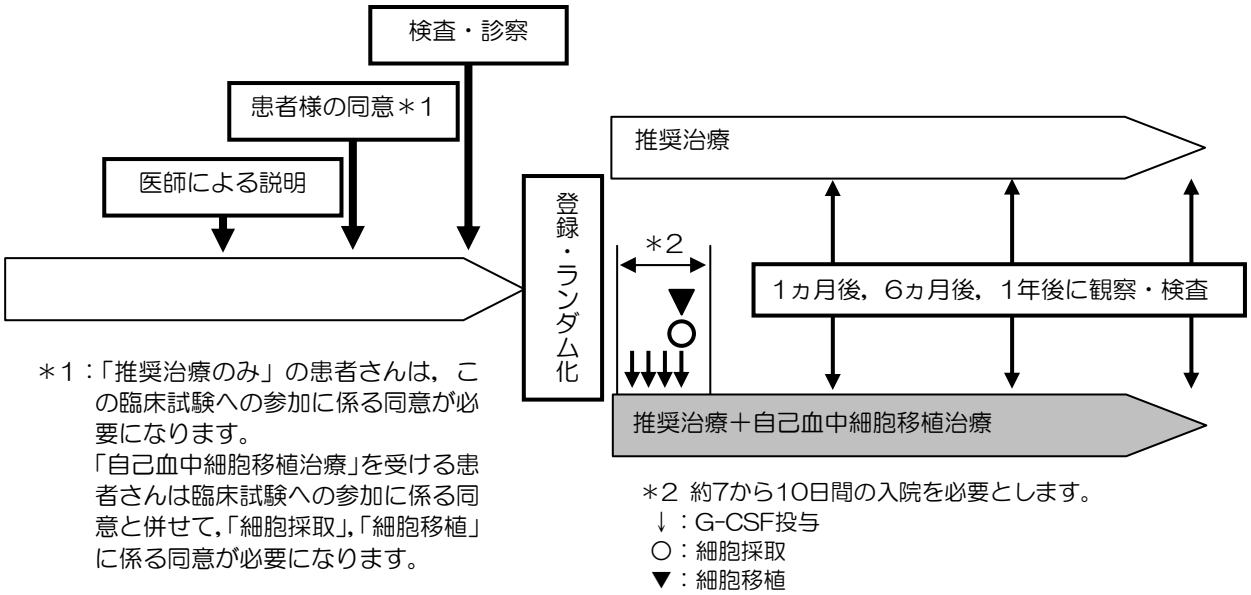
5. 治療の方法

この臨床試験で計画された治療（以下『プロトコール治療』と呼びます）のうち，被験者が「推奨治療のみ」あるいは「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」のいずれの治療を受けるかは，あらかじめ定められたルールに従って，第三者が決定します。このような方法をランダム化と言います。ランダム化によりそれぞれの治療を受ける患者のグループの特徴が似たようになり，治療の違いによる効果や安全性を正確に評価できます。この臨床試験ではそれぞれの治療をうける確率は２分の１です。

一般的に，ある治療の有効性と安全性を調べるには，別の治療と比較する必要があります。調べたい治療（以下，『試験治療』と呼びます）のみの臨床試験を行った場合，効果が認められたとしても，その効果が治療によるものなのかどうかを判別することができません。

そこでこの臨床試験では，「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」の効果や副作用を確認するために，「推奨治療のみ」と比較します。

通常，比較対照の治療として，その時点で最も優れていると考えられている薬や治療が採用されます。この臨床試験では，日本の学会や国際的に推奨される治療指針に従い，抗血小板薬やその他の危険因子に対する薬などを使用します。



6. 推奨治療

血流改善を目的として，抗血小板薬が頻繁に使用されます。また，危険因子として考えられている高血圧症，糖尿病，高脂血症，高尿酸血症を合併する場合には，これらに対する治療が行われます。なお，これらの薬の使用方法および使用量は，被験者の状態に合わせて，医師により判断されます。

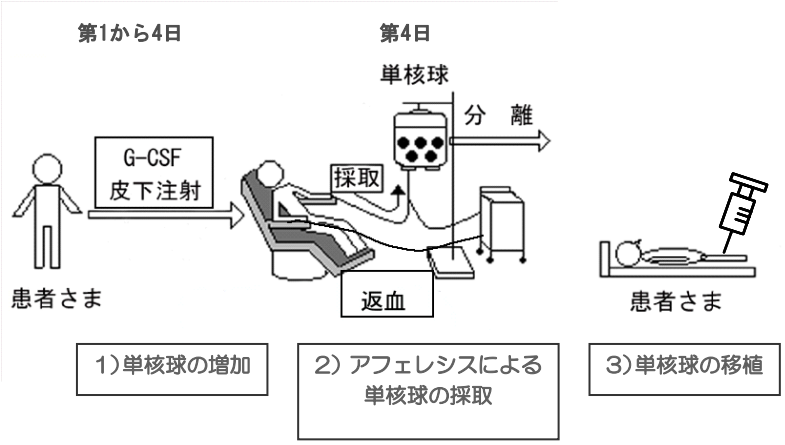
7. 推奨治療＋自己血中細胞移植治療

上記の薬物治療に加え，被験者の血液中の単核球細胞という成分を病変部位に移植する治療を行います。両方の下肢に病変部位がある場合は両方の下肢に移植します。

移植のステップとして，

1）自己血液中の単核球細胞を増加させるステップ
2）増加させた単核球細胞を採り出すステップ
3）採り出した単核球細胞を病変部位へ移植するステップ

の，大きく 3 つのステップからなります。同意に関して，「細胞採取」，「細胞移植」に係る同意が必要になります。なお，この治療では，厚生労働省より承認を受けている薬剤および医療機器を使用します。



1）自己血液中の単核球細胞を増加させるステップ

G-CSF を，1 日 1 回体表面積 m^2 あたり 200μg（体重 kg あたり 5μg）を，連続 4 日間皮下注射します。

2) 増加させた単核球細胞を採取するステップ

皮下注射開始後 4 日目に血液成分分離装置を使用して，静脈から 3～4 時間かけて単核球細胞成分を 50～100mL ほど採取します。なお，この装置は厚生労働省から製造販売輸入承認を受けている装置であり，医療機器として医療の現場で使用されています。

3) 採取した単核球細胞を病変部位へ移植するステップ

手術室で麻酔科医の麻酔管理のもと、採取した全ての単核球細胞を，1 部位 0.5mL を上限として筋肉内注射により移植します。

別紙 5

インフォームド・コンセントにおける説明文章及び同意文章様式

説明文書・同意書様式

患者さんへ

“末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験”についてのご説明

1. はじめに

この文書は，当院で実施している「末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験」という臨床試験について説明したものです。担当医師からこの臨床試験の説明をお聞きになり，試験の内容を十分理解して頂いた上で，この臨床試験に参加されるかどうかをあなたの自由意思で決めてください。この臨床試験に参加してもよいと考えられた場合には，「同意書」にご署名いただきますようお願い致します。

たとえ参加されなくても今後の治療において，不利益になることはなく、この臨床実験以外の最善の治療を受けることが出来ます。

さらに，この臨床試験への参加に同意した後でも，臨床試験が開始されてからでも，あなたが参加の辞退を希望されれば，いつでも自由に辞退することができます。辞退した場合でも，あなたにはこの臨床試験治療以外の最善の治療が行われますので，治療上の不利益を被ることはありません。

2. 臨床試験について

私たち医師は，病気で苦しんでいる患者さんに最良の治療を提供する為に，様々な研究に取り組んでいます。ある疾患に新しい治療が使えるようになるまでには，その治療が対象疾患に効果があり安全であることを確かめるために，患者さんにご協力いただく必要があります。まず，動物を対象とした試験（非臨床試験）を行った後に，人を対象とした試験へと進んでいきます。こういった人に対する試験を臨床試験といい，参加することに同意した患者さんにのみ行われる研究的な治療のことです。

臨床試験には以下のような３つの段階（相）があります。

相	参加される方	何を調べるか
第Ⅰ相試験	健康な方	治療の安全性を確かめます。
第Ⅱ相試験	患者さん（少人数）	どういった使用方法（量や飲み方など）が，効果があって，副作用が少なくてすむのか調べます。
第Ⅲ相試験	患者さん（大人数）	前相の試験でわかった使用方法で，既に使われている治療と，効果と安全性を比較します。

これらの試験を行うことにより，新しい治療の有効性および安全性が明らかになった場合には，将来あなたと同じ病気の方の治療に大きく役立つことになります。

今回ご説明する試験は，「推奨治療」と，「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」とを比較する第Ⅲ相試験です。

3. この臨床試験の必要性

3.1 慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病について

あなたの病気は，末梢動脈疾患の慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病と診断されています。

慢性閉塞性動脈硬化症は，動脈硬化その他の原因のために血液の流れが悪くなり慢性の血流障害を起こすことで，足先の冷たい感じやしびれ，歩行時の痛み，安静時でも感じる痛み，さらには足先の潰瘍（皮膚の一部がただれてくずれた状態），壊死（組織の一部が死んだ状態）を起こし，下肢切断に至ることもあります。

バージャー病は閉塞性血栓血管炎と呼ばれることもあり，血栓による動脈閉塞のために血流障害を起こすことが原因で，慢性閉塞性動脈硬化症と似た症状を示します。

日本では，慢性閉塞性動脈硬化症患者さんは約 500 万人，バージャー病患者さんは約 1 万人いるといわれています。現在，生活環境の欧米化・高齢化に伴い，慢性閉塞性動脈硬化症患者さんが急速に増加しています。

3.2 従来の治療

慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病に対して，日本の学会や国際的に推奨される治療指針に従い，危険因子として考えられている高血圧症，糖尿病，高脂血症，高尿酸血症を合併する場合にはこれらに対する治療を行われ，合わせて血流改善を目的として抗血小板薬が使用されます。

さらに，症状に応じて歩行等の運動療法や局所保温・炭酸泉療法，血管拡張薬などの薬物療法も実施され，喫煙者には禁煙の指導が行われます。

また，膝から上の比較的太い動脈に狭窄部位がある重症患者さんに対しては，カテーテルによる血管拡張術や血管バイパス術などの手術が実施されます。薬物治療で十分な効果が得られず外科的治療が困難な場合には，動脈硬化の原因の一つとされる血漿中の LDL コレステロールなどを除去する目的で血漿交換療法が用いられます。

しかし，これらお薬を服用しても足先の冷たい感じやしびれ，歩行時の痛み，安静時でも感じる痛みおよび足先の潰瘍の改善効果が得られない場合や，病変部位や範囲によって手術の対象とならない，または手術をしても症状が再発する場合があり，下肢の切断を余儀なくされる患者さんが年間 1 万人以上いらっしゃるのが現状です。

よって，これら難治性状態を克服するような新たな治療が望まれています。

3.3 新しい治療

慢性閉塞性動脈硬化症およびバージャー病に対する新しい治療として，「顆粒球増殖因子（G-CSF）動員自家末梢血単核球細胞移植」（以下，『自己血中細胞移植治療』と呼びます）があります。

これは，G-CSF という薬を使って，自己血中の血管発生を促す可能性がある細胞を集め，集めた細胞を下肢の病変部位の筋肉内に一定の間隔で注射することで，血流を改善させ，患者さんの症状を軽減させることを目標とした治療が提案されています。

この治療は，これまでのいくつかの臨床研究結果から有用性が示唆されており，従来の治療で効果が得られない，または手術の適応が困難な部位に病変がある患者さんに対する治療になる可能性があります。

その他の血管再生療法として，肝細胞増殖因子や血管内皮細胞増殖因子などの人工的遺伝子を注入する方法や，自分の骨髄細胞を用いた細胞移植法が報告されています。

しかし遺伝子物質による治療法は倫理面，骨髄細胞移植法は長時間全身麻酔による体力面の問題があり，我々は自己血中細胞移植治療が低侵襲で優れた治療法であると考えています。

4. この臨床試験の目的

この臨床試験では，慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病の患者さんに，日本の学会や国際的に推奨される治療指針に従った「推奨治療のみ」，あるいは「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」のいずれかを受けていただき，「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」の有効性と安全性を調べます。

5. この臨床試験の方法

5.1 対象となる患者さん

以下 1)-5)の全てにあてはまる方が対象となります。

1) 検査で詰まった/狭くなった血管が見つかった，慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病患者さん
2) 医師により，この臨床試験で規定する病気の分類規準にあてはまる診断がなされた患者さん
3) 医師により，詰まった/狭くなった血管を手術できない，または手術しても回復が難しいと診断された患者さん
4) タバコを吸わない，または 1 ヶ月以上禁煙している患者さん
5) 同意取得時の年齢が 20 歳以上 75 歳以下で，ご本人から文書同意が得られた患者さん

ただし，以下のいずれかにあてはまる方は対象とはなりません。

1) 1ヶ月以内にあなたの病気が悪化している患者さん
2) 大切断が予定されている患者さん
3) 手術やこれに準じる治療から1ヶ月以上経過していない患者さん
4) 過去にこの臨床試験で使用するお薬や機器を用いた療法に対して重い過敏症，副作用があった患者さん
5) 重い心臓病，不整脈を有する患者さん
6) 頭や首の動脈血管が重度に狭くなっている患者さん
7) 心筋梗塞,脳梗塞,脳出血または一過性脳虚血発作を発症して6ヶ月経過していない患者さん
8) 過去に心臓病，脳梗塞または脳出血中を発症したことがあり，あなたの病気が非常に重症と判断される，透析患者さん
9) 重い糖尿病網膜症を有する患者さん
10) がんと診断されている，または過去にがん完治と診断されてから無再発期間が3年以上経過していない患者さん
11) 血液検査の結果,白血球数,血小板数及び肝臓機能を示す検査値が規準を満たさない患者さん
12) 過去に間質性肺炎を発症したことのある，または現在発症している，もしくは間質性肺炎を起こす可能性のあるお薬を服用中の患者さん
13) 38℃以上の発熱を伴う感染症に罹っている患者さん
14) 検査により脾臓の腫れが確認された患者さん
15) 慢性閉塞性動脈硬化症またはバージャー病が原因ではない，歩行時のふらつき，足の痛み，皮膚潰瘍および壊疽を有する患者さん
16) 足に重い神経障害を有する患者さん
17) 重い精神障害を有する患者さん
18) 過去に甲状腺機能亢進症を発症したことのある,または現在発症している患者さん
19) 他の臨床試験に参加中の,または以前に参加した臨床試験の終了から6ヶ月以上経過していない患者さん
20) 妊婦，授乳婦，妊娠している可能性のある，または治療期終了時までに妊娠を計画している女性患者さん，あるいはパートナーの妊娠を希望する男性患者さん

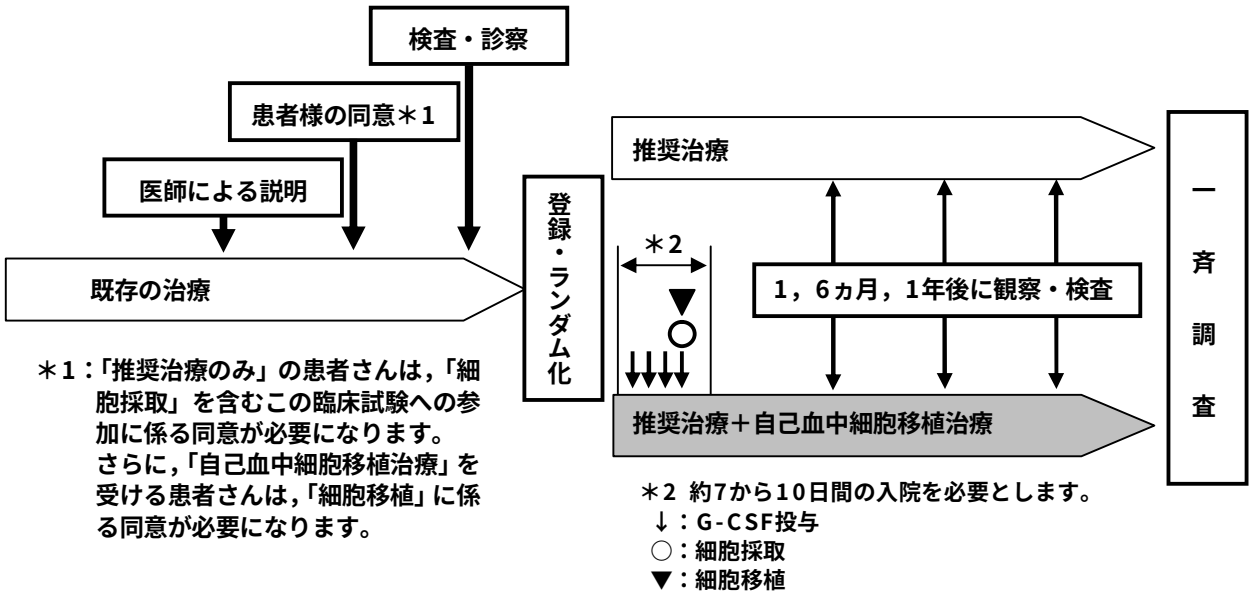
5.1.1 治療の方法

この臨床試験で計画された治療（以下『プロトコル治療』と呼びます）のうち，あなたが「推奨治療のみ」あるいは「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」のいずれの治療を受けるかは，あらかじめ定められたルールに従って，第三者が決定します。このような方法をランダム化と言います。ランダム化によりそれぞれの治療を受ける患者さんのグループの特徴が似たようになり，治療の違いによる効果や安全性を正確に評価できます。なお、ランダム化ではどちらのグループに入るかについては、患者さん希望には添えません。この臨床試験ではそれぞれの治療をうける確率は２分の１です。

一般的に，ある治療の有効性と安全性を調べるには，別の治療と比較する必要があります。調べたい治療（以下，『試験治療』と呼びます）のみの臨床試験を行った場合，効果が認められたとしても，その効果が治療によるものなのかどうかを判別することができません。

そこでこの臨床試験では，「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」の効果や副作用を確認するために，「推奨治療のみ」と比較します。

通常，比較対照の治療として，その時点で最も優れていると考えられているお薬や治療が採用されます。この臨床試験では，日本の学会や国際的に推奨される治療指針に従い，抗血小板薬やその他の危険因子に対するお薬などを使用します。



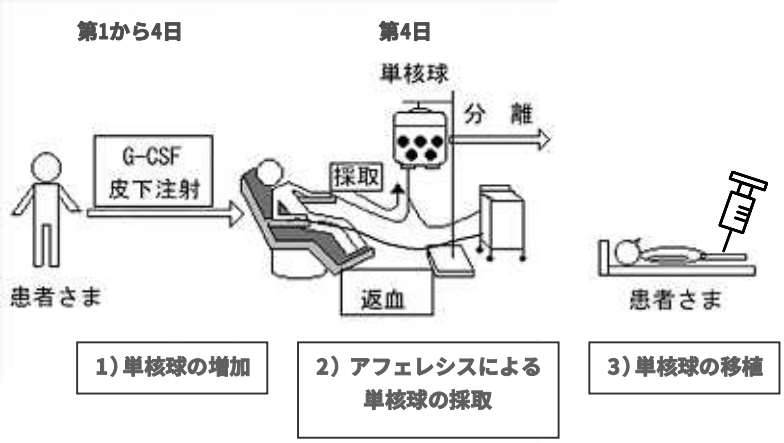
5.1.2 推奨治療

血流改善を目的として，抗血小板薬というお薬が頻繁に使用されます。また，危険因子として考えられている高血圧症，糖尿病，高脂血症，高尿酸血症を合併する場合には，これらに対する治療が行われます。なお，これらのお薬の使用方法および使用量は，あなたの状態に合わせて，医師により判断されます。

5.1.3 推奨治療＋自己血中細胞移植治療

上記の薬物治療に加え，あなたの血液中の単核球細胞という成分を病変部位に移植する治療を行います。両方の下肢に病変部位がある場合は両方の下肢に移植します。

移植のステップとして，1）自己血液中の単核球細胞を増加させるステップ，2）増加させた単核球細胞を採り出すステップ，3）採り出した単核球細胞を病変部位へ移植するステップの，大きく 3 つのステップからなります。同意に関して，「細胞採取」，「細胞移植」に係る同意が必要になります。なお，この治療では，厚生労働省より承認を受けている薬剤および医療機器を使用します。



1）　自己血液中の単核球細胞を増加させるステップ

通常，単核球細胞は骨髄中に多く存在し，血液中にわずかしか存在していません。そこで，移植に必要な数の単核球細胞を血液中から得るため，骨髄中から単核球細胞を動員する効果がある顆粒球増殖因子（G-CSF，販売名：グラン®）というお薬を使用します。このお薬を，1 日 1 回体表面積 m^2 あたり 200 μg（体重 kg あたり 5 μg）を，連続 4 日間皮下注射します。

2）　増加させた単核球細胞を採取するステップ

皮下注射開始後 4 あるいは 5 日目に血液成分分離装置を使用して，あなたの静脈から３～４時間かけて単核球細胞成分を５０～１００mL ほど採取します。なお，この装置は厚生労働省から製造販売輸入承認を受けている装置であり，医療機器として医療の現場で使用されています。

3）　採取した単核球細胞を病変部位へ移植するステップ

手術室で麻酔科医の麻酔管理のもと，採取した全ての単核球細胞を，1 部位 0.5mL を上限として，約 70 から 150 箇所に筋肉内注射により移植します。

5.2 臨床試験のスケジュール

はじめに，この臨床試験の対象者としてふさわしいか否かを判断する検査を行います。あてはまると判断された場合には，（治療開始時期；例；次回の来院日）より治療を開始します。

予定参加期間は，移植後 1 年間となり，さらに，本臨床試験全体のうち最後の被験者さんが登録されてから 1 年後に，一斉調査としてそれまでの経過について調査を行います。各時点の診察・検査項目およびスケジュールは，以下のとおりです。

5.2.1 各時点の診察・検査項目

1）登録時

・診察・問診，アンケート，身長・体重・手足の血圧測定
・潰瘍・壊疽のサイズ測定
・医療用ウォーキング機器を用いた歩行距離測定
・血液検査：白血球数（分画：好中球，リンパ球），血小板数，ヘモグロビン A1C
AST，ALT，LDL コレステロール
・脾臓検査（＊腹部エコーにより検査します。）
・心臓検査（＊心電図，心エコー，心筋シンチなどにより検査します。）
・頭・首の血管検査（＊頭部 MRA などにより，動脈血管内の状態を検査します。）
・足の血管検査（＊血管造影により，足の血管内の状態を検査します。）
・眼底検査（＊眼内部の血管を検査して網膜症の有無・程度を評価します。）
・感染症の有無の検査・調査
・悪性腫瘍の検査
・妊娠検査

2）移植時（該当する患者さんのみ）

・診察・問診
・血液検査（登録時と同じ項目，さらに移植細胞数を検査します。）
・腹部エコー

3）1 ヵ月後，6 ヵ月後，1 年後および中止時

・診察・問診，アンケート，身長・体重・手足の血圧測定
・潰瘍・壊疽のサイズ測定
・医療用ウォーキング機器測定
・心電図
・血液検査（登録時と同じ項目を検査します。）

4）一斉調査（最後の被験者さんが登録されてから 1 年後）

・診察，問診，アンケート等の調査を実施します。

5.2.2 スケジュール表

各時点で実施される観察・検査項目について，以下表の「○」で示しました。

観察・検査項目	登録時	移植時	1,6 ヶ月，1 年後	中止時	一斉調査
診察・問診・アンケート	○		○	○	
足の潰瘍・壊疽サイズ測定	○		○	○	
医療用ウォーキング機器測定	○		○	○	
手足の血圧測定	○		○	○	
心電図	○		○	○	
血液検査	○	○	○	○	
脾臓検査	○	○			
心臓検査，頭・首・足の血管検査	○				
眼底検査	○				
感染症の有無の検査・調査	○				
悪性腫瘍の検査	○				
妊娠検査	○				
一斉調査時に必要と判断された事項					○

以上は臨床試験に参加する場合，必ず実施する診察・検査のスケジュールです。

なお，医師の判断により，患者さんの状態に応じてそれ以外の診療行為が行われる場合があります。

5.3 併用禁止薬・併用禁止療法

以下のお薬および治療は，この臨床試験の評価に影響しますので，試験治療期間中は使用や実施はしません。

◆交感神経ブロック：局所麻酔により痛みを緩和する方法
◆フィブラストスプレー：皮膚潰瘍を治療するお薬
◆他の治験薬の使用／開発中の治療（遺伝子治療等）の実施
◆外科的血行再建術
・バイパス手術：人工血管や自分の静脈を用いて病変部位を迂回する別の流れを造る手術
・血栓内膜除去術：閉塞部が太い血管で短い範囲の時は血管を切開して閉塞部の動脈硬化病変（血栓）を取り除き，切開部は狭くならないよう人工血管や自分の静脈を使用して血管を広くする手術
◆血管内治療
・カテーテル血管拡張術：カテーテル（管）を血管内に挿入し，病変部位を風船や円筒形の金属製ステントにより血管内部を広くする手術
◆交感神経切除術
：末梢血管拡張による血流回復を目的として実施される手術
◆LDL アフェレシス
：動脈硬化の原因の一つとされる血液中の LDL コレステロールなどを除去する方法

現在，あなたが他の病院に通院されている場合は，使用しているお薬をお知らせください。また，薬局等で購入して使用しているお薬がある場合もお知らせ下さい。これらは試験を安全に行うために大切なことです。また，あなたが他の病院に通院されている場合は，この臨床試験に参加していることをその病院にお知らせすることがありますので，ご了解ください。

なお，あなたに好ましくない症状が現れたときにはその治療を優先し，上記記載にかかわらず，使用するお薬や治療は制限されません。

6. 試験の予定参加人数

この臨床試験は当院のみならず，全国の約 20 の施設が参加します。

試験全体では，「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」に 72 人，「推奨治療のみ」に 72 人，合計 144 人の患者さんに参加して頂く予定です。

当院では，10 人の患者さんに参加して頂く予定です。

7. 予想される効果と副作用

7.1 予想される効果

「推奨治療」の代表治療として，抗血小板薬が使用されます。このお薬には，足先の冷たい感じやしびれ，歩行時の痛み，安静時でも感じる痛みに対する改善効果があることが知られています。しかし，このお薬による病気の根本治療は難しく，特に早期の病態改善が求められる重症の患者さんに対する効果は不十分な場合があります。

一方，「自己血中細胞移植治療」は，これまでのいくつかの臨床研究結果から，足先の冷たい感じやしびれ，歩行時の痛み，安静時でも感じる痛み，足先の潰瘍に対して有用性が報告されており，推奨治療で効果が得られない患者さんに対する治療になることが期待されています。

7.2 予想される副作用

7.2.1 推奨治療

抗血小板薬の副作用として，頻回に報告される事象を以下に示します。これらの副作用は一部であり，またお薬の種類によって異なる副作用が発現する可能性がありますので，詳細については医師にお問合せください。

副作用
心臓
うっ血性心不全，心筋梗塞，狭心症，心室頻拍
肺
間質性肺炎（肺胞外壁の炎症により線維化をおこした肺炎）
肝臓
肝機能障害
黄疸
出血
脳出血，肺出血
消化管出血，鼻出血，眼底出血
血液検査
汎血球減少（赤血球，白血球，血小板のいずれもが減少した状態） 無顆粒球症（白血球成分の好中球数が著しく減少した状態）
血小板減少症

7.2.2 自己血中細胞移植治療

自己血中細胞移植治療は，これまでの臨床研究で約 160 名の患者さんに実施され，予期しない重大な副作用は報告されていません。

なお，造血幹細胞移植学会の，健常人ドナーからの末梢血幹細胞動員・採取のガイドラインでは，血栓症の既往あるいはリスクを避けるため，基礎疾患として高血圧，冠動脈疾患，脳血管障害，糖尿病，高脂血症がある人は，顆粒球増殖因子（G-CSF）投与は避けるようになっております。これは健康成人のドナーに G-CSF を投与することは治療を目的とはしていないため，極力安全に配慮するためです。

一方，この臨床試験の対象の患者さんは，効果を期待して行われる治療の一環として G-CSF が投与されます。また，これまでの約 160 名の患者さん（高血圧，冠動脈疾患，脳血管障害，糖尿病，高脂血症を基礎疾患として持つ患者さんが含まれています）で行われた臨床研究において G-CSF によるものと考えられる予期しない重大な副作用は報告されていません。

ただし，対象の患者さんには基礎疾患として高血圧，冠動脈疾患，脳血管障害，糖尿病，高脂血症等を持っている方が多く含まれておりますので，注意深く患者さんの症状を把握させていただき，G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療を実施いたします。

可能性のある副作用としては，以下の事柄が考えられます。

●G-CSF（販売名：グラン®）による重大な副作用（全体）

副作用	頻度
アレルギー	
ショック	頻度不明
肺	
間質性肺炎（肺胞外壁の炎症により線維化をおこした肺炎） 急性呼吸窮迫症候群（肺が損傷され呼吸困難などの症状を示す状態）	頻度不明
脾臓	
脾破裂	頻度不明
血液検査	
芽球の増加（未熟な白血球細胞が増加した状態）	0.1%未満

●G-CSF による末梢血幹細胞の動員による副作用
：ある時点の調査で，51 人の患者さん全員に何らかの副作用が発現しています。

副作用	頻度
疼痛	
腰痛	24 件 (47.1%)
頭痛	10 件 (19.6%)
関節痛	8 件 (15.7%)
全身症状	
発熱	6 件 (11.8%)
血液検査	
LDH 上昇（肝機能を示す検査値の異常）	44 件 (86.3%)
ALP 上昇（肝機能を示す検査値の異常）	35 件 (68.6%)
白血球減少・好中球（白血球成分のひとつ）減少	15 件 (29.4%)
血小板減少	7 件 (13.7%)
CRP 上昇（炎症状態を示す検査値の上昇）	6 件 (11.8%)

●細胞採取に伴う重大な副作用

血中のカルシウム濃度が一過性に低下することで，手・口唇のしびれなどの症状が生じる場合があります。この症状が見られた場合には，カルシウム製剤を適宜注射します。

また脱水や，めまい・吐き気・嘔吐・徐脈などの症状が生じる場合があります。この場合，補液や薬物にて適宜治療いたします。

●細胞移植による重大な副作用

細胞移植に伴い，発熱・筋肉内および皮下出血・移植部の腫脹疼痛を生じますが，ほとんどは一過性です。抗生剤・鎮痛剤・解熱剤など，必要時適宜使用いたします。また移植時に末梢神経を損傷し，足先のしびれが生じる場合もあります。稀ですが，潰瘍の状態によっては，移植後に潰瘍の悪化や，局所の感染の可能性もあります。

なお，これらの副作用以外にも他の副作用が発現する場合があります。また，副作用の発現は患者さんの状態によって異なりますので，詳細については担当医師にお尋ねください。

8. 慢性閉塞性動脈硬化症，バージャー病に対する他の治療

プロトコル治療以外の慢性閉塞性動脈硬化症およびバージャー病に対する治療としては，以下の治療があります。これらの治療を希望する場合は，担当医師にお伝え下さい。なお，これら治療の詳細は本説明文書 P9「5.4 併用禁止薬・併用禁止療法」を参照してください。

治療	予想される効果	予想される副作用	治療にかかる期間
LDL アフェレシス	血流改善による臨床症状の改善	・まれに，手・口唇のしびれ	外来
交感神経切除術	・間欠性跛行の改善	・代償性発汗（多汗） ・手術時に他の神経を損傷したことによる下肢麻痺障害	数日の入院

9. 個人情報の保護

医師・看護師・薬剤師を含む全ての病院スタッフには，通常の診療において業務上知りえたことに関して秘密を守る義務があります。病院スタッフには，この臨床試験において知った情報についても同様の守秘義務が課せられます。

しかし，この臨床試験が正しく行われているかどうかを確認するために，倫理審査委員会（臨床試験の実施を決定する委員会）の人，厚生労働省の人などがあなたのカルテを見ることがあります。これらの人達にも業務上知りえたことに関して秘密を守る義務があります。

また，この臨床試験で得られた情報（検査データ，検査画像を含む）を取りまとめるために，当院以外の機関にあなたの情報を提供します。その際には，あなたを特定できる情報（氏名・住所・電話番号など）は記載しません。取りまとめられた情報を医学雑誌などに発表する場合も，個人が特定できないように配慮されます。

症例報告書などのデータは，この臨床試験の最終試験報告書の作成後，10 年間保存します。始めの 3 年間は，データセンターに保管します。その後，主任研究者がデータを保存し，期間経過以降に廃棄します。データを破棄する場合は，匿名のまま廃棄します。

このように個人情報は厳重に管理されていますので，この臨床試験に参加することにより，あなたやあなたのご家族の個人情報が第三者に漏れる心配はありません。
この同意書に署名されますと，倫理審査委員等によるカルテの閲覧，当院以外の機関への情報提供および結果の公表について同意して頂いたことになります。

10. 臨床試験の費用

本臨床試験における試験治療期間にかかる費用、すなわち自己血中細胞移植治療に関係する期間に生じた全費用は、財団法人地域医学研究基金から助成された研究費より支払われます。

11. 健康被害が発生した場合

この臨床試験は，これまでの報告に基づいて科学的に計画され慎重に行われますが，もし，臨床試験の期間中あるいは終了時に，あなたに副作用などの健康被害が生じた場合には速やかに担当医師にご連絡ください。担当医師が適切な診療と治療を行います。

さらに，「自己血中細胞移植治療」が原因と考えられる副作用により健康被害が生じた場合には，その治療費は本臨床試験の研究費より支払われ，その他金銭での補償は行われません。

12. 試験参加の意思に影響を与える情報の伝達

臨床試験の参加期間中に，プロトコル治療に関して，あなたの試験参加への意思に影響を与える可能性のある情報等，新たな情報が得られたときには，速やかに担当医師からお知らせします。その際，試験参加を継続するかどうかについてお考えいただき，辞退することもできます。

13. 試験治療の中止について

あなたがこの臨床試験の参加に同意し，治療が開始された後で担当医師からあなたに試験治療の中止をお願いすることがあります。中止理由には大きく分けて，患者さん個人の状態に関するものとこの臨床試験全体に関するものがあります。

【患者さん個人の状態に関する中止理由】

- ◆ 本臨床試験の規準に基づき，医師によりあなたの原病の悪化が認められた場合
- ◆ あたなの病気の悪化によってプロトコル治療の継続が困難な場合
- ◆ あなたが同意を撤回した場合
- ◆ お亡くなりになった場合
- ◆ プロトコル治療開始後，対象となる患者さんの規準を満たしていないことが判明した場合
- ◆ 転院等の理由により，あなたの追跡調査が継続できない場合
- ◆ 併用禁止薬・禁止療法が実施された場合
- ◆ その他，試験担当医師が治療継続不能と判断した場合

【試験全体に関する中止理由】

- ◆ 途中評価により試験の完遂が困難と判断された場合
- ◆ 試験治療の安全性に問題があると判定された場合
- ◆ 試験の途中で継続の意義がなくなったと判断された場合

また，あなたが途中で試験を中止することになった場合には，その後，最善の治療を行います。なお，中止（同意の撤回を除く）した場合，その後の経過観察については継続して行います。

14. 同意の撤回について

いったんこの臨床試験への参加に同意された後でも，いつでも同意を撤回することができるます。万一同意を撤回されても，不利な扱いを受けたりすることはありません。

15. 試験期間中あなたに守っていただきたい事項

この臨床試験に参加することに同意された場合は，試験期間中，次の事項を守って下さい。

1） できるだけ予定されているスケジュールを守って来院してください。来院できない場合には，すみやかに担当医師にお伝え下さい。
2） 他の病気などで担当医師以外の治療を受けている場合，そのことを必ず担当医師に伝えて下さい。また，他の医師に処方された薬や，薬局等で購入した薬を服用されている場合もお知らせ下さい。
3） 試験期間中，風邪などで他の医師にかかる場合，できるだけ事前に担当医師にご相談下さい。
4） 妊娠中，授乳中，妊娠している可能性のある方は，この臨床試験に参加できません。また，この臨床試験に参加している間は，妊娠しないように注意して下さい。
5） 各種検査・処置を受けていただく際には指示を守ってください。

なお，上記の内容を守って頂けない場合は，担当医師から試験治療の中止をお願いする場合があります。

16. 試験結果の取り扱い

この臨床試験の結果は，2012 年頃に公表される予定です。個々の患者さんにお知らせすることはありませんが，担当医師に申し出ていただければお知らせいたします。

この臨床試験の結果により何らかの新たな知見が得られることがあります。その際に生じる特許，その他知的財産に関する権利（特許権）は，提供されたデータに対してではなく，研究者達が研究やその成果の応用を行うことによって生まれた新しいアイデアに対するものです。ですから，特許権の発生により経済的利益が生じても，あなたはその権利を主張できません。この臨床試験の結果によって生じる特許，その他知的財産に関する権利は，この臨床試験に参加した医療機関または試験担当医師に帰属します。

17. 問い合わせ先

この臨床試験について，心配なことや，わからないこと，何か異常を感じられた時は，いつでも遠慮なく担当医師または相談窓口にご連絡ください。

担当診療科　腎センター

担当医師　　氏名　　／電話番号　06-6443-1261

相談窓口　　氏名　阪口　勝彦　　／電話番号　06-6443-1261

夜間休日緊急連絡先　　救急センター　　／電話番号　06-6443-1261

当院の責任医師　　氏名　阪口　勝彦　　／電話番号　06-6443-1261

18. 研究組織

この臨床試験は末梢血管再生治療研究会が主体となり，財団法人地域医学研究基金の支援・助成金をうけて行います。独立データモニタリング委員会という組織は，臨床試験における効果および安全性の評価等を行います。財団法人先端医療振興財団臨床研究情報センターは，データの管理を行います。

・主任研究者：　所属　：　北楡会　札幌北楡病院　　外科
　　氏名　：　堀江　卓

同意書

財団法人　住友病院　院長　松澤　佑次　殿

臨床試験参加の同意書

―対象となる全ての患者さん―

臨床試験課題名：
末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験

- □ はじめに
- □ 臨床試験について
- □ この臨床試験の必要性
- □ この臨床試験の目的
- □ この臨床試験の方法
- □ 試験への予定参加人数
- □ 予想される効果と副作用
- □ 【対象疾患】に対する他の治療
- □ 個人情報の保護
- □ 臨床試験の費用
- □ 健康被害が発生した場合
- □ 試験参加の意思に影響を与える情報の伝達（その他の先進医療についての情報）
- □ 試験治療の中止及びその後の治療について
- □ 同意の撤回について
- □ 試験期間中あなたに守っていただきたい事項
- □ 試験結果の取り扱い
- □ 問い合わせ先
- □ 研究組織

私は上記項目について，説明文書による十分な説明を受けました。この臨床試験の内容を理解し，参加に同意します。さらに，「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」に割付けられた場合，血液中の単核球細胞を採取することに同意します。

但し，試験参加の途中で同意を撤回することがあることを申し添えます。

同 意 日：＿＿＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日　　本人署名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

説 明 日：＿＿＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日

担当医師：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿科（部）　　署名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

説 明 日：＿＿＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日

協 力 者：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿科（部）　　署名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

同意書

財団法人　住友病院　院長　松澤　佑次　殿

臨床試験参加の同意書　②（細胞移植）

―「推奨治療＋自己血中細胞移植治療」の患者さん―

臨床試験課題名：
末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験

- □ はじめに
- □ 臨床試験について
- □ この臨床試験の必要性
- □ この臨床試験の目的
- □ この臨床試験の方法
- □ 試験への予定参加人数
- □ 予想される効果と副作用
- □ 【対象疾患】に対する他の治療
- □ 個人情報の保護
- □ 臨床試験の費用
- □ 健康被害が発生した場合
- □ 試験参加の意思に影響を与える情報の伝達（その他の先進医療についての情報）
- □ 試験治療の中止及びその後の治療について
- □ 同意の撤回について
- □ 試験期間中あなたに守っていただきたい事項
- □ 試験結果の取り扱い
- □ 問い合わせ先
- □ 研究組織

私は上記項目について，説明文書による十分な説明を受けました。この臨床試験の内容を理解し，参加すること及び採取した単核球細胞を移植することに同意します。
但し，試験参加の途中で同意を撤回することがあることを申し添えます。

同 意 日：＿＿＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日　　本人署名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

説 明 日：＿＿＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日

担当医師：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿科（部）　　署名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

説 明 日：＿＿＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日

協 力 者：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿科（部）　　署名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

同意撤回書

財団法人　住友病院　院長　松澤　佑次　殿

同意撤回書

臨床試験課題名：
末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験

私は上記試験への参加に同意しましたが，同意を撤回します。

同意撤回日：　＿＿＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日

本人署名：　＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

試験責任医師または分担医師確認日：

＿＿＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日

確認者署名：　＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

平成 22 年 4 月 21 日

島根大学医学部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

島根大学医学部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．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
　　申請者：島根大学医学部　医学部長　紫藤 治
　　申請日：平成 21 年 11 月 25 日

１．ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

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
申請年月日	平成２１年１１月２５日
実施施設及び 研究責任者	実施施設：島根大学医学部 研究責任者：竹谷　健
対象疾患	重症低ホスファターゼ症
ヒト幹細胞の種類	同種骨髄由来間葉系幹細胞
実施期間及び 対象症例数	登録期間　意見発出日から平成 25 年 3 月 31 日まで １０症例
治療研究の概要	本研究は、アルカリホスファターゼ欠損により骨を作ることが障害される低ホスファターゼ症の中で、致死的な経過をとる乳幼児の患者に対して、骨髄移植後に同種骨髄間葉系幹細胞を移植するものである。ドナーは、患者の家族（2 親等以内）の中でこの病気ではない人から選定する。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き、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。
その他（外国での状況等）	この疾患の重症型は、現在の段階では、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の対症療法が行われる。これまで、同施設の経験症例を含めて 3 人の患者が骨髄移植、骨移植および骨芽細胞・間葉系幹細胞移植を施行され救命された。なお、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 製剤の治験が始まっている。
新規性について	本研究では重症低ホスファターゼ症の患者を救命するために、骨髄移植後に同種間葉系幹細胞を用いた移植をす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 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
平成 21 年 11 月 25 日付けで島根大学医学部から申請のあったヒト幹細胞臨床研究実施計画「重症低ホスファターゼ症に対する可及的早期に行う同種間葉系幹細胞移植」（対象疾患：重症低ホスファターゼ症）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）
○　3 例と少数例の報告だけで、間葉系幹細胞移植が骨髄移植よりも有用であることの説明は難しい。症例報告と同様に、骨髄移植を行い、さらに骨髄移植細胞の一部を間葉系幹細胞の培養に用いる 2 段階の治療を検討してほしい。
○ 腫瘍発生のないことの実証データをもっと明瞭に説明する必要あり。文献の内容だけでは不明瞭なので、詳細な説明が欲しい。
○ エンドトキシンの汚染は、細胞培養工程を含めた加工の段階での混入が想定される。測定を行っていれば、その原因究明が可能になり、ひいてはその後の臨床研究の安全性に生かせると考えられる。従いまして、最終製品を用いてエンドトキシン測定をしておくことは必要。
○　細胞移植説明文書および骨髄採取説明文書の個人情報保護の方法について、研究実施中の匿名化などの個人情報保護の説明を追加して欲しい。

２）第２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
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、その結果を基に持ち回りで審議することとした。

（本審査委員会からの主な疑義・確認事項）
○　未成年者（同胞）が最も条件に適した骨髄ドナーになるとの記載があり、若年者が主な対象になることが想定される。表現型が正常な両親を優先してドナーに選定し、出来得る限り若年者のドナーを保護することについて検討頂きたい。
○　市販の無血清培地や開発中の無血清培地を使用して、血清含有培地とは細胞形態や分化能などで違いがあったことに関して、無血清培地と FBS 培地での

培養の結果比較について、資料を提示していただきたい。わずかな差であれば、無血清で培養しうるのではないか。

３）第３回審議
①委員会の開催はなし。

②議事概要
　前回の審議における本審査委員会からの疑義に対し、島根大学医学部の資料が適切に提出されたことを受けて、持ち回りにて審議を行った結果、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。

（本審査委員会からの主な疑義・確認事項）

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）
○　これまでこの病気に行われた細胞治療すべてが骨髄移植と間葉系幹細胞移植を併用して症状が改善していること、間葉系幹細胞が拒絶されないために骨髄移植を前もって行う必要があることから、まず骨髄移植を行い、その骨髄を用いて間葉系幹細胞を培養して移植する２段階の治療を行うこととした。
○　研究課題名を「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」に変更した。

（試験物概要書）
○　骨髄間葉系幹細胞移植における腫瘍発生の有無に関して、医療機関と産業技術総合研究所との共同研究で実施された骨髄間葉系幹細胞移植症例の予後調査を報告した。治療中、治療後に重篤な副作用もなく安全に行われていた。最近、骨・軟骨再生医療を実施した詳細な予後追跡調査の結果を記載した。
○　最終製品を用いてエンドトキシン試験や無菌試験を行うこと、再試験を含めた検証実験の成果、細胞が汚染されていると確証できた段階で移植および培養を中止することを記載した。
○　ヒト骨髄由来間葉系幹細胞を市販の無血清培地と FBS 培地で骨芽細胞へ分化誘導し、ALP 活性を比較したデータから、FBS 培地を用いることとした。

（説明同意文書）
○　未成年が骨髄提供者になる可能性がある場合、病院のコーディネーターやソーシャルワーカーからご家族および未成年である骨髄提供者に十分な説明をしたうえで、学内倫理審査委員会での審査、承認後に、提供者として適切かどうか決定し実施することとした。

○　細胞移植説明文書および骨髄採取説明文書の個人情報保護の方法について、「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・データーベース等に厳重に保管する。」ことを明記した。

４．ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会の検討結果

島根大学医学部からのヒト幹細胞臨床研究実施計画「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」（対象疾患：重症低ホスファターゼ症）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。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成21年11月25日

厚生労働大臣　殿

研究機関	所在地	島根県出雲市塩冶町89－1
	名称	島根大学医学部
	研究機関の長 役職名・氏名	医学部長　　紫　藤　　治

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
重症低ホスファターゼ症に対する 同種間葉系幹細胞移植	島根大学医学部附属病院輸血部・講師 竹谷　健

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		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。
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いないため。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製剤の治験が始まっており、ある程度の効果が出ている。
被験者等の選定基準		被験者は以下の4つすべてを満たすこと 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
		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。 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。

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%CO_2、37℃）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10^6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℃）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、エンドトキシン検査を行う。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、エンドトキシン検査を行い、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

安全性についての評価	現在までに産業技術総合研究所は、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。
臨床研究の実施が可能であると判断した理由	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。
臨床研究の実施計画	別紙参照
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
	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。

	手続	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。
	説明事項	1）被験者用 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 2）骨髄提供者用 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
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	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。
	代諾者の選定方針	被験者の親権者または養育責任者
被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法		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。 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。 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。 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。
臨床研究終了後の追跡調査の方法		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。
臨床研究に伴う補償		
	補償の有無	有　　(無)

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・データー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。公表されう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）		①当該研究に係る研究資金の調達方法
		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。
		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
		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。

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　　）

別記様式第１号（第８条第１項関係）

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	大串　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　　大西　弘恵
健康工学研究部門・研究員　　勝部　好裕
健康工学研究部門・研究員　　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し行う。

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（氏名や個人情報は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**、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[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はなく、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10^6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、免疫用製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、ピリドキサールリン酸、
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、ピリドキサールリン酸、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・データー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
		間葉系幹細胞培養
島根大学医学部小児科学講座・講師	鬼形　和道	遺伝ｶｳﾝｾﾘﾝｸﾞ
		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. 大薗恵一：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

別記様式第９号（別記様式第１号５関係，別記様式第２号１６関係）

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、致死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、まず健常人（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頂きます。

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頂きます。

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頂きます。

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頂きます。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はなく、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が、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頂きます。

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が、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・データーベース等に厳重に保管させて頂きます。

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が、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

別記様式第１０号（別記様式第１号５関係、別記様式第２号１６関係）

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

別記様式第９号（別記様式第１号５関係，別記様式第２号１６関係）

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頂きます。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頂きます。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頂きます。

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頂きます。

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頂きます。

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頂きます。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はなく、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、骨髄を採取させて頂きます。

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が、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頂きます。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頂きます。

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・データーベース等に厳重に保管させて頂きます。

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が、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。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

別記様式第１０号（別記様式第１号５関係、別記様式第２号１６関係）

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

申　請　分　類　表

申請者＿竹谷　　健＿＿＿

（1）申請区分

☑*新規　　□継続（□期間延長　□分担者等の変更　□研究方法等の変更　□その他）

（・継続の場合，変更点を具体的に記載願います　　）

（2）申請内容

□*臨床研究　　□疫学研究　　□ヒトゲノム・遺伝子解析研究　　□医療

☑ ヒト幹細胞を用いる臨床研究

（3）研究等の形態

☑*介入研究　　□観察研究　　□調査・アンケート

（4）研究等の対象

☑*ヒト（ ☑本院受診及び入院中の患者が対象となる[1)]　□左記以外を対象とする[2)]）

□検体・データ等（□前向き　□後向き[3)]）

・検体の種類　□血液　□尿　□組織　□その他（　　）

（5）研究等の単位

☑*本学のみ又は他施設と共同で行うが本学が主研究施設となる

□上記以外（□他施設の倫理委員会等で承認あり[4)]　□未承認）

（6）上記□欄のうち，*項目全てにチェックがある場合は保険に加入する必要があるので，研究材料により下記見積依頼書を記入し提出すること

・見積依頼書【医薬品のみ】

・見積依頼書【医療用器具】

・見積依頼書【その他】

［注釈］

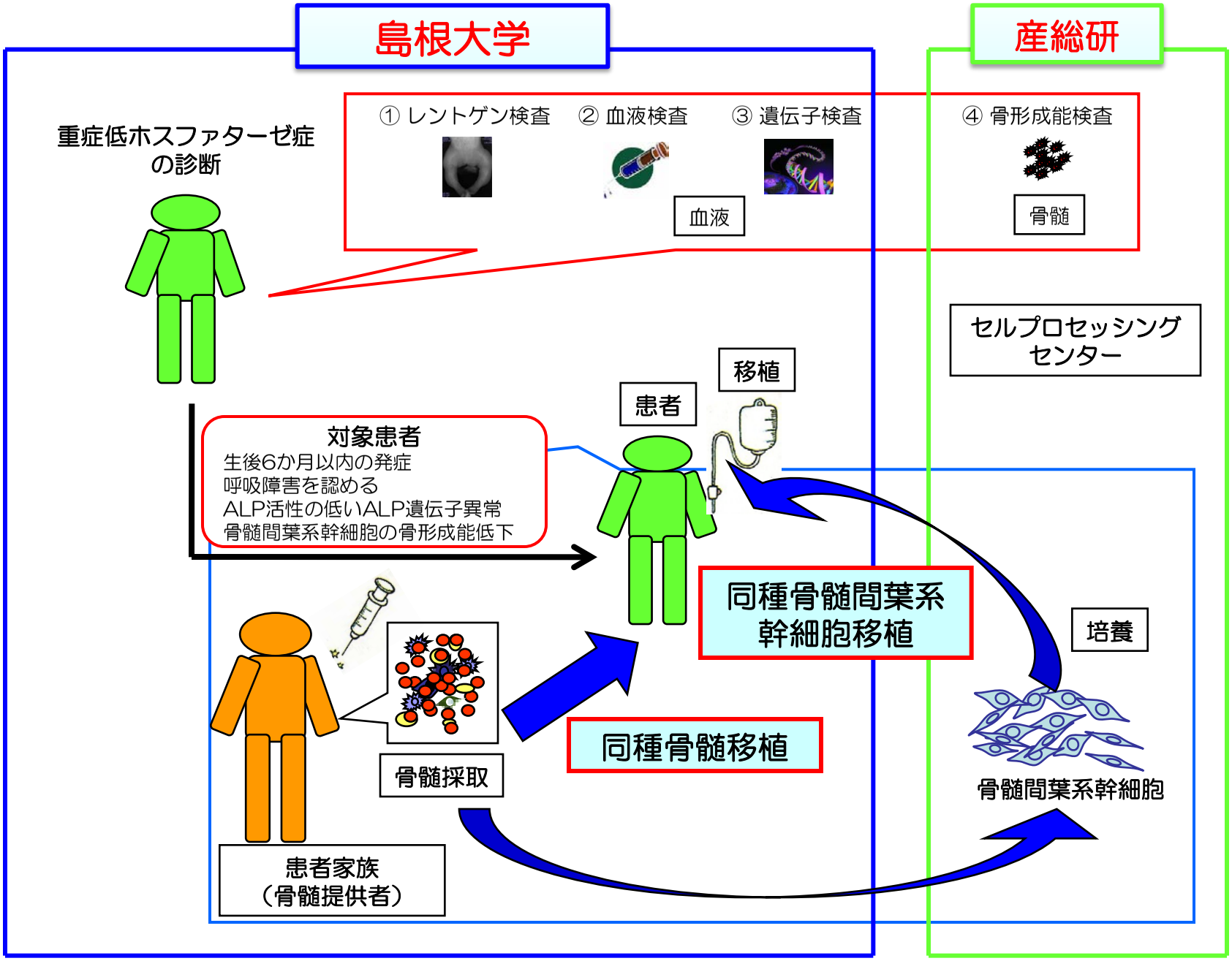
1）「利益相反自己申告書（第１次）」を分担者分も取りまとめ,会計課外部資金担当宛提出のこと

2）健常者，ボランティア，住民健診受検者等

3）インフォームドコンセントの簡略に該当する場合は，研究協力依頼の説明書及び同意書不要

4）他施設の倫理委員会承認通知書等の写しを添付することで迅速審査となる

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



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 16.9μg 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。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成２１年８月３１日

厚生労働大臣　殿

研究機関	所在地	〒６３４－８５２２ 奈良県橿原市四条町８４０
	名称	奈良県立医科大学
	研究機関の長 役職名・氏名	学長　吉　岡　　章

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
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	奈良県立医科大学　口腔外科学講座 教授　桐　田　忠　昭

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称		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
研究機関		
	名称	奈良県立医科大学
	所在地	〒634－8522　奈良県橿原市四条町840番地
	電話番号	(0744)22-3051
	FAX番号	(0744)29-8876
研究機関の長		
	役職	奈良県立医科大学学長
	氏名	吉岡　章　　印
研究責任者		
	所属	奈良県立医科大学　口腔外科学講座
	役職	教授
	氏名	桐田　忠昭　　印
	連絡先　Tel/Fax	Tel:0744－29－8875　　/Fax:0744－29－8875
	E-mail	oralsurg@naramed-u.ac.jp
	最終学歴	昭和62年　3月　奈良県立医科大学大学院医学研究科　修了
	専攻科目	口腔外科学
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	顎骨嚢胞の治療法として、摘出術、病巣掻爬術等がある。手術後には、顎骨内に大きな骨欠損が生じ、口腔顔貌の変形のみならず口腔の機能障害をきたす。このため従来から患者の健常部から採取した自家骨またはセラミックなどの人工骨を移植骨として用いていた。自家骨を用いる場合、採取量に限りがあるだけではなく、健常部に侵襲を与えるため、術後採骨部の感染、神経麻痺などの合併症が起こる可能性があり、その代替法の開発が望まれている。人工骨を移植骨として用いる方法では、大きな骨欠損には適用は難しく、またセラミック等の人工材料自体に骨形成能力がないため、人工材料と周囲の骨組織が結合するのに長期間を要する。本研究の目的は、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、骨形成能を有する骨移植材料（培養骨）が自家骨移植法の代替法となりうるのかを検討する非劣勢試験である。具体的には、培養骨移植群と自家骨移植群を画像上比較し、形態的および機能的な再建に対する培養骨移植の有効性の検証を行う。本治療法が確立されれば、自家骨移植を回避することができ、患者に与える恩恵は大なるものである。
臨床研究の対象疾患	
名称	顎骨嚢胞
選定理由	顎骨内には、さまざまな嚢胞や腫瘍が生じ、これらは、摘出・掻爬後、大きな骨欠損を生じるものもある。このため、顎顔面の変形や咀嚼・発音機能障害が生じたり、2次的な顎骨骨折が生じる可能性があり、骨欠損部への補填が必要となる。本研究では、これらの疾患のうち再発率が極めて低い顎骨嚢胞を対象疾患として選定した。
被験者等の選定基準	対象は奈良県立医科大学附属病院歯科口腔外科を受診した上記疾患を有する患者で、骨欠損に対し自家骨移植が必要と判断された患者とする。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は被験者としない。対象年齢は、20歳以上70歳未満とする。症例数は実験群（培養骨移植群）10例、対象群（自家骨移植群）10例とし、研究期間は承認後5年間とする。患者の各群への振り分け方法は、実験群・対象群及び本研究に参加しない場合のそれぞれについて患者に説明を行い、患者自らが研究に参加するか否か、研究に参加の場合はいずれの群に参加するかを決定する。実験群及び対象群については、各々10例に達した時点で各群への受け入れを中止する。また、実験群・対象群ともに10例に達した時点で本研究は終了する。
臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	骨髄由来間葉系細胞
由来	(自己)・非自己・株化細胞　　生(体)由来・死体由来

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	患者の腸骨から10数mlの骨髄を骨髄針を用いて採取し、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。採取は医師と連携の上、主治医が中央手術室あるいは口腔外科外来手術室で行う。麻酔はキシロカインを用いた局所麻酔を使用する。自己血清を培養に用いるので、骨髄採取日、もしくはそれ以前に約400mlの患者血液を中央手術室あるいは口腔外科外来手術室で採取して血清を分離する。主治医が産業技術総合研究所内セルプロセッシングセンターにて、産業技術総合研究所のスタッフの監督のもと、培養操作を行う。なお、セルプロセッシングセンターは、より高度な細胞処理を行うことを考慮され、平成20年度に産業技術総合研究所内に新たに構築されている。本セルプロセッシングセンターにおいて試験培養をおこない、従来通りヒト間葉系幹細胞の増殖や骨芽細胞への分化に問題がない事を確認している（添付書類：新規CPCでの試験的培養）。産業技術総合研究所における作業においては主治医がその責任を負う。製造指示記録書に培養を担当した主治医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％自己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、T-75 フラスコを用いて炭酸ガス培養器（5%CO2、37℃）内で行う。骨髄2mlに対して20mlの培地を加える。フラスコ底面に接着した細胞を約14日間増殖させる。これは骨髄細胞に含まれる間葉系細胞の増殖である。この増殖した細胞を動物由来成分不含のトリプシン様酵素（TrypLE Select：GIBCO カタログ番号12563）を用いてフラスコより剥離して、再度フラスコ内で培養することで必要細胞数を確保する。その後、剥離した細胞を人工骨と混和して上記培養条件下に培養を行う。用いる人工骨は、オスフェリオン（規格：A1, A2, A3, A4, G1-1, G1-5, G2-1, G2-5, G3-2, G3-5, G4-2, G4-5, 60G2-2, 60G2-5, 60G3-2, 60G3-5, 60G4-2, 60G4-5　医療機器承認番号：21800BZZ10045000号　製造販売元：オリンパス　テルモ　バイオマテリアル株式会社）で、ガンマ線照射により滅菌済みである。上記培養時に70μM アスコルビン酸、10mM βグリセロ燐酸、100nM デキサメタゾンを培地中に添加する。この条件下で培養することにより、間葉系細胞は約2週間で骨芽細胞へ分化する。この培養操作により骨芽細胞・骨基質を含む人工骨（再生培養骨）が作製できる。これらの再生培養骨を奈良県立医科大学附属病院中央手術室で、腫瘍摘出手術と同日に骨欠損部に生理食塩水もしくはPBSで3回洗浄後に移植する。細胞調整方法の詳細に関しては、（添付書類：培養手順）を参照。
調製（加工）行程	(有)・ 無
非自己由来材料使用	(有)・ 無　　動物種（ブタ　）
複数機関での実施	(有)・ 無
他の医療機関への授与・販売	有 ・(無)

安全性についての評価	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・血液採取に用いる容器・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。特に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（20～25℃）に保たれていること、およびこれまでに本方法にて搬送した骨髄を培養しても、症例に必要な細胞数が得られていることより、本方法で搬送した骨髄の安全性および有効性を確認している。自己血より採取した自己血清は液体培地調整後0.22μmフィルターによりフィルター滅菌を行った後、無菌試験、エンドトキシン試験を行う。骨髄は培養開始時に無菌試験を行う。培養過程において培養操作時の汚染に対して、無菌試験を行う。さらに最終培地交換時に培養上清より、無菌試験、マイコプラズマ否定試験，エンドトキシン試験を行い、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。マイコプラズマ否定試験は PCR 法を用いるため，サンプリング後約 1 日で結果が得られる。培養開始時に作成する調整培地について行ったエンドトキシン試験は，培養終了時までには結果が得られる。両試験で汚染が確認された場合は、移植手術を中止する。無菌試験は培養開始時，継代時，最終培地交換時，最終産物において行っており，培養開始時，継代時については手術前に結果が得られる。培養開始時，継代時の無菌試験で汚染が確認された場合は、移植手術を中止する。最終培地交換時，最終産物の無菌試験，エンドトキシン試験については最終判定を待たず手術に用いることになるが，手術日の報告で陽性と判断されなければ、移植手術を行う。最終判定にて陽性と判断された場合は、奈良県立医科大学附属病院　医療安全管理指針に則って、病院長および医療安全管理委員会委員長に報告するとともに、できるだけ早い段階で患者への説明の機会を設定する。患者の安全確保を最優先し、必要な検査（血液検査等）および治療（上記検査での陽性菌に対するスペクトルを有する抗生物質の投与等）を行う。 現在までに産業総合研究所は，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、無菌試験の結果に関わらず、術後5年間は定期的に局所、並びに全身状態を観察する。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）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。液体培地（α-MEM：GIBCO カタログ番号12571）はフィルター滅菌処理済のものを採用する。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。添加因子であるアスコルビン酸、βグリセロリン酸、デキサメタゾンは全て分析用グレードを用い、フィルター滅菌処理後に使用する。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。その使用にあたっては、事前に硫酸ゲンタマイシンに対する過敏症の既往がないことを確認する。また、移植直前に最終培養産物は、培地を破棄し、滅菌生理食塩水もしくはPBSで3回洗浄されるため、薬剤の残留は低減する。最終培養産物は、専用容器に入れ、3時間以内に奈良県立医科大学付属病院手術場に搬入する。 使用した細胞、血清、人工骨は、その一部を後証品として冷凍保存する。臨床有効性との相関性についての解析、および生存率ならびに細胞活性を測るため、3次培養時に移植用とは別に細胞培養を行い、手術日にイメージアナライザーを用いたカルシウム定量測定、ALP定量測定を行う。また、再生培養骨の一部にて、Alizarin Red S染色、Alkaline phosphate染色、ヌードラットへの皮下移植を行う。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の実施が可能であると判断した理由	本研究と同様の人工骨（β-TCP）と自己骨髄培養細胞を用いた骨再生医療が、整形外科領域の骨疾患に対し、産業技術総合研究所と奈良医科大学整形外科との臨床研究として行われている。（別紙：同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況①、④）。一定の有効性が認められたと報告されており、本臨床研究とは対象部位が異なるものの、骨再生という観点からは差異はなく、安全性および有効性の根拠となりうる。自己骨髄培養細胞の顎骨疾患への応用はドイツ(別紙：同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況②）、日本では名古屋大学附属病院歯科口腔外科(別紙：同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況③))ですでに行われており、顎骨疾患においても自己骨髄培養細胞を用いた再生医療の有用性が認められている。これらと本研究とは細胞の由来、人工骨の相違等はありますが、培養条件や用いる試薬に基本的に差異はなく、自己骨髄培養細胞を顎骨疾患に移植することの有効性と安全性の根拠となりうると考えられる。（添付書類：内外の研究との比較リスト）また、我々はラットの顎骨モデルを用いた研究を行った(添付書類：前臨床試験)。移植8週後の組織評価において、人工骨（オスフェリオン）移植では骨癒合はみられないにも関わらず、オスフェリオンを用いた再生培養骨移植では骨癒合が認められており、顎骨領域における人工骨移植の無効性および再生培養骨移植の有効性を確認した。
臨床研究の実施計画	別紙参照（実施計画審査申請書および臨床研究計画書）
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	下記説明事項について、インフォームド・コンセントにおける説明文書（添付書類：説明文書）を用いて十分に説明し、理解を得た上で、文書によるインフォームド・コンセントを与える。なお、本臨床研究の実施に際しては、臨床研究に入るとき、骨髄採取時、再生培養骨の移植時の計3回、文書にて同意の確認を行う（添付書類：同意書1、同意書2、同意書3）。
説明事項	①当該臨床研究の目的、意義及び方法　②当該研究を実施する機関名　③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並びにそれらの治療法との比較　④被験者となることを拒否することは自由であること、及び自己骨髄培養細胞の移植に同意しない場合であっても、何ら不利益を受けることはなく、また従来の治療が継続されること。⑤被験者となるべき者が自己骨髄培養細胞の移植に同意した後であっても、いつでも同意を撤回できること　⑥無償による提供であること　⑦健康被害に対する補償の有無　⑧-1個人情報の保護の方法　⑧-2研究成果が匿名化の上公表されること　⑧-3問い合わせ・苦情の受付先
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	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は被験者としない。
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	患者に生じた有害事象を最小限にとどめるため、患者の安全確保を最優先し、必要な治療を行う。さらに研究機関の長に速やかに報告し、本学の医療安全管理指針（別紙）に基いて対処する。

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		移植が終了し、退院後も本院口腔外科外来にて術後5年間は定期的に局所、並びに全身状態を観察するとともに、術後3ヶ月、6ヶ月、12ヶ月目、以後必要に応じてエックス線撮影もしくはCT撮影を行い、移植部位の状態を評価する。移植後の評価については、術後5年間は定期的に移植部位及び穿刺部位、並びに全身状態を観察するとともに、術後3ヶ月、6ヶ月、12ヶ月目、以後必要に応じてエックス線撮影およびCT撮影を行います。エックス線撮影（パントモグラフィー）の評価は、Grey level measurements法(J. Dentomaxillofac Radiol. 2002, 31:182−186.)を用い、不透過性の変化を経時的に定量評価する。CTでは、同一断面にてMPR（多断面再構成）画像を作製し、骨欠損部位に関心領域(ROI)を設定する。CT値500以上999以下を測定領域とし、病変の最大径を含んだMPR断面についてROI内の測定領域の面積を経時的に定量評価する。
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	
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。また、本研究終了後には連結不可能匿名化を行う。
	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。公表されう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）		①当該研究に係る研究資金の調達方法 本研究に係る外来診療、術前・術後検査、手術（骨髄穿刺を含む）及び細胞培養に掛かる費用は、奈良県立医科大学口腔外科学講座および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すべて負担する。
		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 奈良県立医科大学整形外科学講座などで行われている自己骨髄培養細胞の臨床研究(別紙：同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況④)と比較して、対象疾患（顎骨嚢胞）に新規性が認められる。ドイツで行われている自己骨髄培養細胞の顎骨疾患への応用(別紙：同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況②)と比較すると 、腸骨から骨髄を採取すること及び、人工骨を用いることに新規性が認められる。名古屋大学附属病院歯科口腔外科などで行われている自己骨髄培養細胞の顎骨疾患への応用(別紙：同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況③)と比較すると、人工骨を用いることに新規性が認められる。詳細は(別紙：内外の研究状況の比較リスト)を参照。

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）

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

■ 1.研究の流れを示した図やイラストなど

■ 2.研究者の略歴及び研究業績

■ 3.研究業績

■ 4.同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況

■ 5.その他（資料内容：内外の研究との比較リスト）

■ 6.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

■ 7.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

■ 8.その他（資料内容：　搬送用クーラーボックスの品質を示す書類）

■ 9.その他（資料内容：　原材料（試薬等）の品質保証書類）

■ 10.インフォームド・コンセントにおける説明文書

■ 11.同意文書1, 12.同意文書2, 13.同意文書3

■ 14.15.その他（資料内容：医の倫委要録）

■ 16.その他（資料内容：奈良医大　承認書）

■ 17.その他（資料内容：医の倫委名簿）

■ 18.その他（資料内容：医の倫委規定）

■ 19.その他（資料内容：奈良医大　実施計画審査申請書）

■ 20.その他（資料内容：奈良医大　申請書受付票）

■ 21.その他（資料内容：医工学応用実験倫理委員会議事録）

■ 22.その他（資料内容：医工学応用実験計画書審査結果）

■ 23.その他（資料内容：産総研　承認書）

■ 24.その他（資料内容：医工学　委員名簿）

■ 25.その他（資料内容：医工学応用実験取扱要領）

■ 26.その他（資料内容：医工学応用実験計画申請書）

■ 27.研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況

■ 28.29.その他（資料内容：　奈良医大手術室平面図・手術室空調）

■ 30.その他（資料内容：　標準作業手順書）

■ 31.その他（資料内容：　医療安全管理指針）

■ 32.その他（資料内容：「自己骨髄培養細胞による顎骨疾患の治療」臨床研究計画書）

■ 33.その他（資料内容：疑義回答書）

■ 34.その他（資料内容：　前臨床試験）

■ 35.その他（資料内容：新規CPCでの試験的培養）

■ 36.その他（資料内容：共同研究契約書（原契約書））

■ 37.その他（資料内容：平成20年10月度更改契約書）

■ 38.その他（資料内容：マイコプラズマ否定試験の感度および特異性の検証実験）

■ 39.その他（資料内容：奈良医大整形外科　再生培養骨による有害事象の追跡調査）

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

本臨床研究は、本来自家骨移植が必要な比較的規模の大きな顎骨疾患に対して、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、骨形成能を有する骨移植材料（培養骨）の移植法が自家骨移植法の代替法となりうるのかを検討することである。

対象患者は、顎骨内に骨欠損を生じる疾患を有するもので、骨欠損に対し自家骨移植が必要と判断されるものとする。

研究試料の調整方法については、まず骨髄採取を、患者の腸骨から骨髄針を用いて 10 数 ml 採取する。採取後主治医の責任のもと、速やかに産業技術総合研究所内のセルプロセッシングセンターに搬送し、培養を行う。 自己骨髄由来培養細胞は自己血清を含む液体培地の中に骨髄を混和し、培養フラスコ内で培養する。そして、培養フラスコ底面に接着した細胞を増殖させる。これは骨髄細胞に含まれる間葉系細胞の増殖である。この増殖した細胞を培養フラスコより剥離して、再度培養フラスコ内で培養することで必要細胞数を確保する。その後、剥離した細胞を人工骨と混和して培養を行う。上記培養時に添加因子を培地中に加えることにより間葉系細胞は約2週間で骨芽細胞へ分化する。この培養操作により骨芽細胞・骨基質を含む人工骨（培養骨）が作製可能である。

移植手技については、基本的に従来法に準ずる。コンタミネーションを否定した培養骨はセルプロセッシングセンターより速やかに奈良県立医科大学付属病院　中央手術部へ搬送され、移植手術を実施する。対象患者の術中管理、術後管理は従来法を用いた場合と何ら変わらない。

本臨床研究における治療効果の判定は、口腔外科外来の定期受診にて行う。対照を従来法による治療症例とし、定期的に CT 撮影もしくはエックス線撮影を行う。

自己骨髄培養細胞による顎骨疾患の治療研究　説明書

本臨床研究の目的

現在、口腔領域（顎の骨など）の骨疾患に対して、その疾患に対する治療を行う場合、病気により失われた骨をいかに元に戻すかは大きな課題です。従来は外科的な手術により別の部位にある健康な骨の移植や、人工的な骨（人工骨）の移植などを行ってきました。しかし、これらの治療法は体への負担が大きいことや、治療期間が長期化するという問題点があります。このような問題点を克服するために、奈良県立医科大学口腔外科では**「再生療法」**という新しい治療方法の研究が進められてきました。

再生療法を応用することで、近年では骨疾患により失われた骨を、体への負担が少ない方法で治療することが可能になりつつあります。その方法は**再生培養骨移植**と言いい、患者さん自身の骨髄から骨を作る細胞を取り出し、**体の外で骨を作って患部に移植する**というものです。すでに当附属病院整形外科より、大腿骨壊死（足の骨の病気）に対し、本研究と同様の治療方法により骨修復が得られたとの報告がなされています。しかし、現在のところ顎の骨には適用されていないため、この新しい治療法を**口腔外科領域にも応用し、体への負担が少ない顎の骨の治療法を確立**しようとするものです。

この臨床研究は奈良県立医科大学「医の倫理審査委員会」で審査され、奈良県立医科大学学長により承認されたものです。

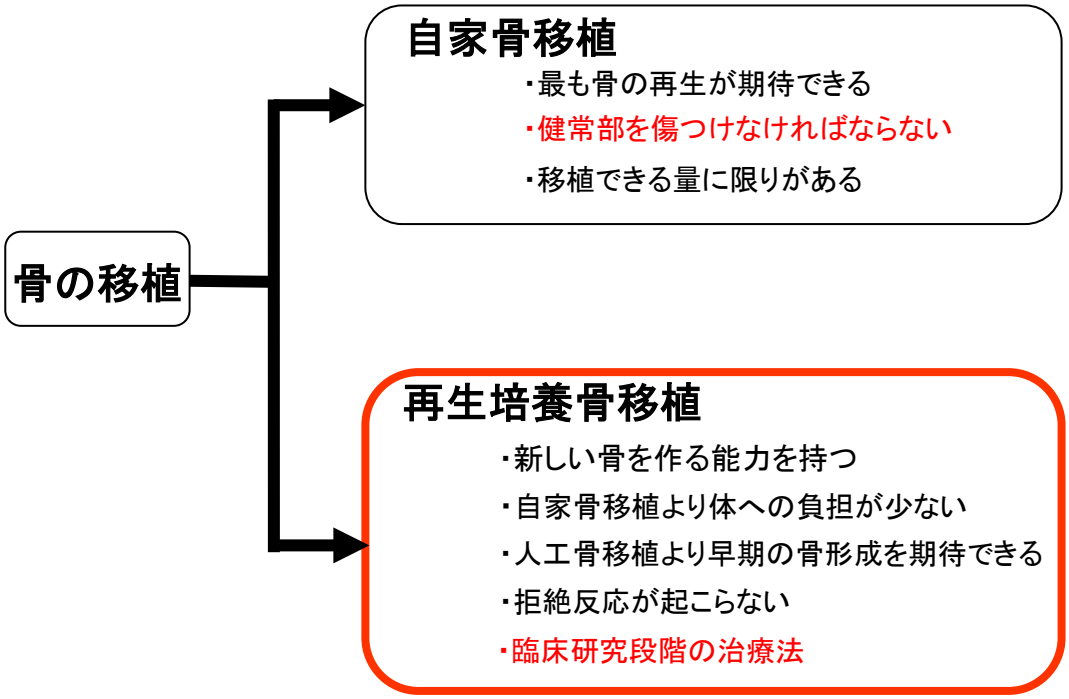
再生培養骨移植と従来の治療法との違い

顎の骨のできもの（顎骨嚢胞）により顎の骨が大きく失われた場合、従来の治療方法は患者さん本人の健康な部位（主に腰の骨）から採取した骨（自家骨）または、骨の成分を合成して作られた人工骨を移植してきました。また、失われた骨の大きさによっては、自然治癒に頼っています。自家骨を移植する方法は、現在のところ最も骨の治癒が期待できますが、健康な部位を傷つけなければならず、採取できる量にも限りがあります。人工骨を移植する方法では使用量に制限はありませんが、移植した人工骨に骨再生能力（骨を作る能力）が無いため、大きな範囲の疾患に用いるのは難しく、周囲の骨とつながるのに長い治療期間を必要とします。

本臨床研究で行う治療方法には、**自家骨を移植する方法（自家骨移植）**と、**患者さん本人の細胞により作られた骨（再生培養骨）を移植するという方法（再生培養骨移植）**があり、どちらの方法を選択するかは患者さんご自身の意思で決定することができます。再生培養骨移植では、**「患者さん本人の骨髄から、体の外で、骨を作る細胞を培養し、作製した再生培養骨を移植する」**ところが自家骨移植との大きな違いです。骨髄の採取は自家骨を採取するよりも、体への負担が少ない方法で行うことができ、自家骨とほぼ同等の骨修復力が期待されます。再生培養骨移植の危険性として、骨髄の細胞を培養するときに細菌やウイルスの感染がおこる可能性があります。しかし、感染を防ぐために培養前、培養中、培養後の各段階において検査を行うなどの様々な手

段を講じており、また細胞培養は現段階で考えられる最高の設備を有する施設で行われるため、その可能性は極めて稀です。また、治療後に予期しない合併症を生じる可能性があります。

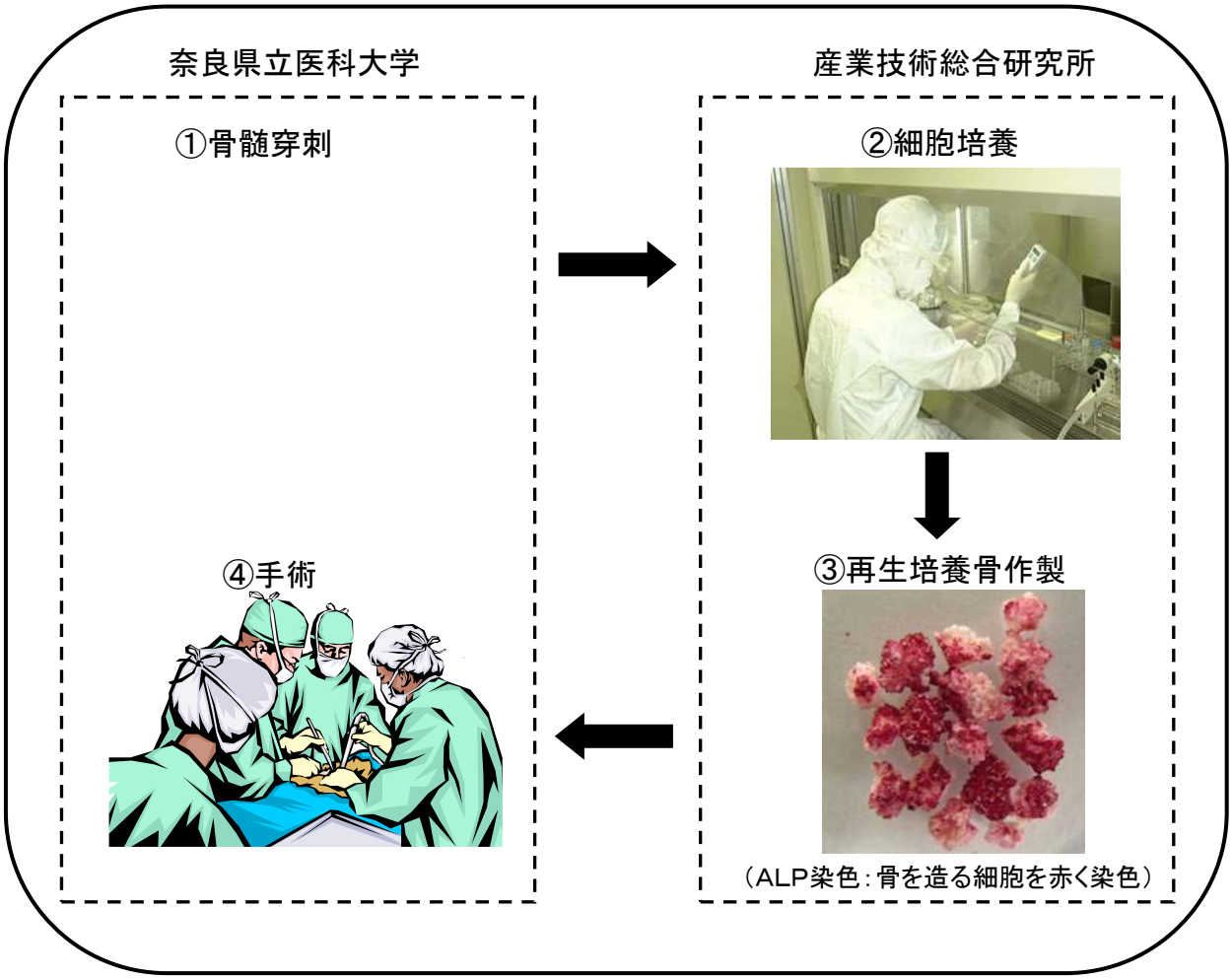
以下に骨が大きく失われた場合の骨移植の方法についての比較を図表で示します。



再生培養骨の作製方法

まず患者さん**自身**の細胞を取り出すために、**腰の骨から骨髄を注射器で 10 数 ml 採取**する必要があります(下図①)。骨髄採取時の痛みに対しては、局所麻酔を行います。注射した部位には針による小さな穴ができますが、2日程で自然に治ります。自家骨採取と比較すると、非常に体への負担が少ない方法です。採取した骨髄に対して、**「細胞培養」**(下図②)という操作を行い、骨を作る能力のある細胞を3週間ほどかけて増やします。そしてこの細胞を人工骨と組み合わせ、さらに2週間ほど細胞培養を行うことで、**人工骨の表面に患者さん自身の細胞により骨が作られます**。この骨を**再生培養骨**(下図③)といい、自分自身の細胞が作った骨なので拒絶反応は起こらず、移植後速やかに骨の形成が始まります。このようにして作製された再生培養骨は、奈良県立医科大学の中央手術室で骨が失われている部位に移植されます(下図④)。

本治療研究の流れ



これらの細胞培養は、病院外にある培養専門施設（**産業技術総合研究所のセルプロセッシングセンター**）で行われます。また細胞の一部と再生培養骨の一部は、後日の検査のために冷凍保存させていただきます。なお、細胞培養を行うための下地（培地）には患者さん**自身**の栄養（自己血清）を使用しますので、**血液を約 400mL 採血**させていただく必要があります。詳細は文末の“再生培養骨移植のフローチャート”を参照して下さい。

再生培養骨移植の危険性とそれらが生じた場合の措置

再生培養骨移植は、健康な部位から骨を取る必要がなく、腰の骨から骨髄を吸引するだけという体への負担の少ない優れた方法ですが、研究段階の治療法のため**完全なものではありません**。

本治療方法特有の危険性として、骨髄細胞を培養するときに細菌やウイルスの感染がおこる可能性があります。しかし、感染を防ぐために培養前、培養中、培養後の各段階において検査を行うなどの様々な手段を講じており、また細胞培養は現段階で考えられる最高の設備を有する

施設で行われるため、その可能性は極めて稀です。また、治療後に予期しない合併症を生じる可能性があります。本研究の治療方法にて十分な骨形成が得られない場合は、従来法による治療を行います。

手術方法は**これまでの方法と同様**であり、手術の安全性に問題はありません。もちろん、これまでの治療方法で認められるような合併症（術後の発熱、疼痛、腫脹、知覚低下や移植骨が生着しない等）がおこる可能性はあります。それらが生じた場合は、これまでの治療方法と同様に、迅速に対処致します。

移植に用いる再生培養骨の安全性が確認できなかった場合は、移植手術を中止することがあります。培養開始後に患者さんの都合（病気等）で予定日に手術ができない場合は、再生培養骨を用いた移植手術を行えないことがあります。それらの場合は、従来の治療法である自家骨移植を行うか、または再度、骨髄穿刺を行い、培養骨の移植を行うかは患者さんご自身により選択して頂くことができます。

同様の治療方法による臨床研究を、当附属病院整形外科では平成13年より現在までに整形外科領域の骨の病気を対象に50症例行っていますが、**腫瘍発生や感染といった再生培養骨による有害事象は 1 例も報告されていません。**しかし、**これらを心配される方は従来の治療法を受けられる事をお勧め致します。**

健康被害に対する補償

本臨床研究との因果関係に係わらず、健康被害が生じた場合は、患者さんの安全確保を最優先し、被害を最小限にとどめるために必要な治療を行います。本臨床研究に伴う**特別な補償はありません。**

同意にあたって

この臨床研究への協力は**あなたの自由意志**であり、強制ではありません。ご協力頂ける場合の治療法の選択もあなたの自由意思により決定できます。また、本臨床研究に同意できない場合においても、あなたの不利益になるようなことはありません。また、一旦同意された後でも、**同意を撤回することはいつでも可能です**。拒否または撤回をされても、あなたが不利益を受けることはなく、従来法による治療が継続されることをお約束致します。

治療に関わる費用について

本研究に係る外来診療、術前・術後検査、手術（骨髄穿刺を含む）及び細胞培養に掛かる費用は、奈良県立医科大学口腔外科学講座および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ですべて負担させていただきますが、**通院交通費は患者さんの自己負担**となります。

追跡調査について

手術後の経過を観察するだけでなく、本臨床研究の適切な評価を行うために追跡調査を行います。**退院後少なくとも5年間**は、口腔外科外来にて定期的に移植部位ならびに、全身状態の観察を行い、必要に応じて種々の検査を行います。また、**手術後3ヶ月、6ヶ月、12ヶ月目**、以後必要に応じて **CT 撮影**、又はレントゲン撮影を行います。

個人情報について

患者さんの個人情報を保護することは、法律で定められた医師、歯科医師の義務です。個人情報の保護にあたっては、**採取された骨髄や、血液などの検体**からは氏名、生年月日、住所などの個人を特定できる情報は取り除かれ、代わりに新しく符号が付けられることで（**「匿名化」**と言います）、個人を特定されないようにします。

この研究によって得られた結果は、個人情報保護法にのっとり、個人情報の識別ができないようにして、学会や学術雑誌等で公表されることがありますので、ご了承下さい。

基礎研究のための細胞利用

骨髄培養細胞の一部を利用して、**基礎研究**を行わせていただきます。具体的には、実験室で骨髄培養細胞を使って組織再生に関わる実験を行います。このような研究を通し、再生医療は進歩してきました。骨髄培養細胞の一部を利用して行う、基礎研究にご理解いただければ幸いです。

基礎研究で使用する細胞からは個人を特定できる情報は取り除かれ、匿名化処理が施されているため、個人が特定されることはありません。また、個人を特定するような実験は行われません。基礎研究のための細胞利用への同意は任意であり、強制するものではありません。

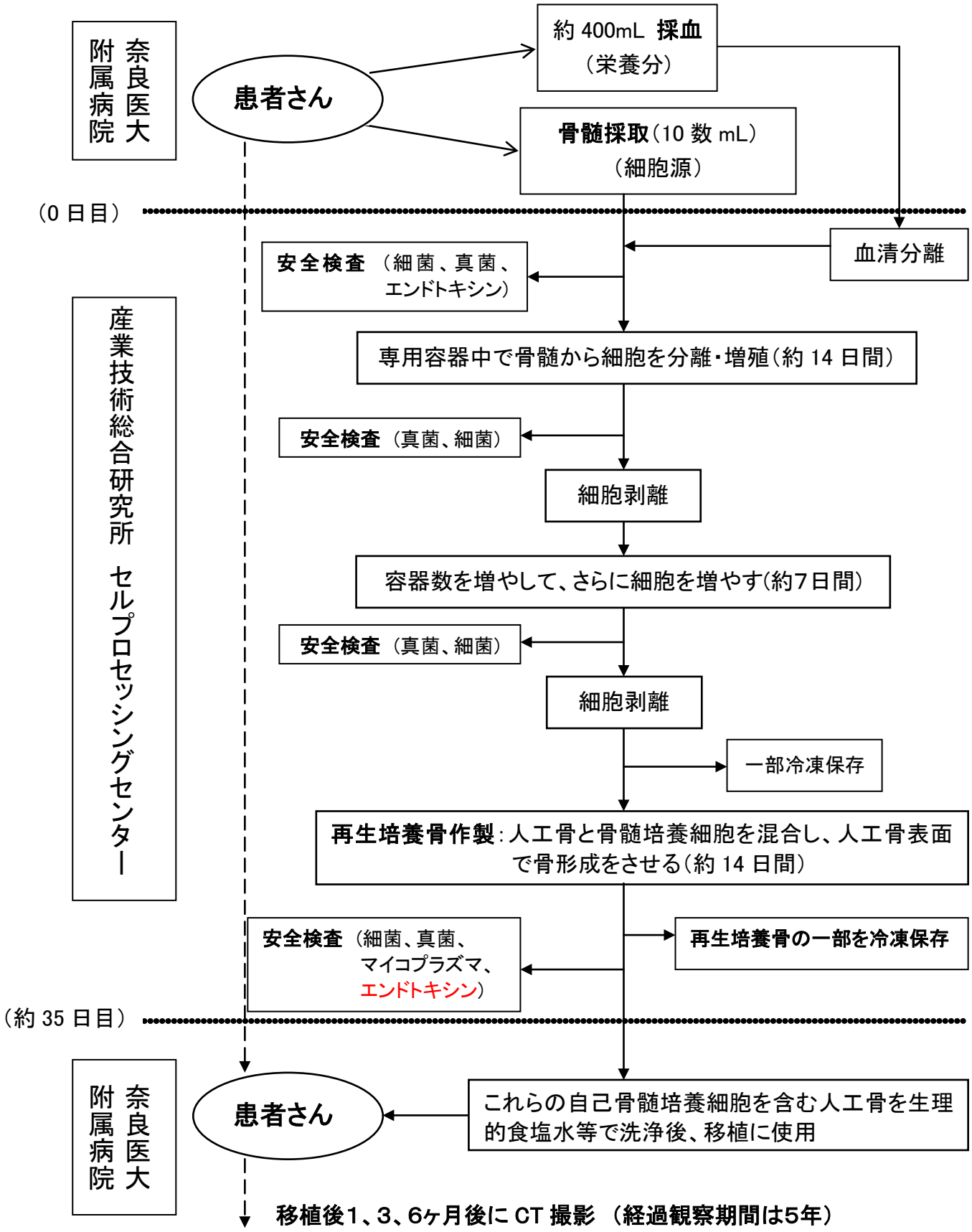
本臨床研究についての問い合わせ先

奈良県立医科大学口腔外科学講座　教授　桐田忠昭
0744-22-3051　（内線 3427）

苦情の受付先

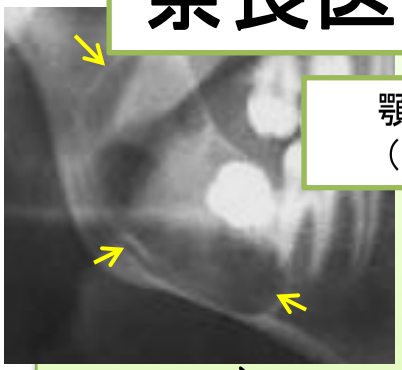
奈良県立医科大学付属病院医療相談室　0744-22-3051　（内線 3224）

再生培養骨移植のフローチャート



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

奈良医大

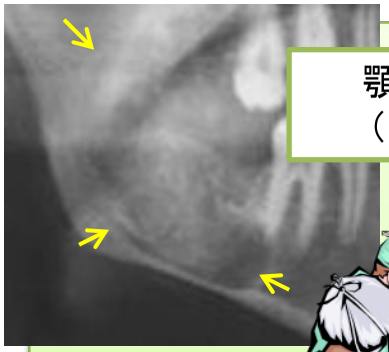


顎骨嚢胞
（術前）

骨髄採取

血液採取

主治医が
車にて運搬

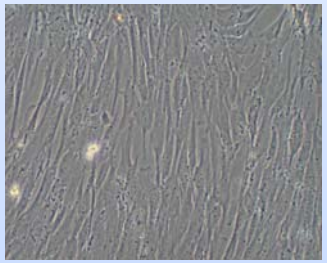


顎骨嚢胞
（術後）

培養骨移植

産総研 CPC

主治医が培養



細胞

＋

人工骨

培養骨作製

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

奈良医大口腔外科外来

顎骨嚢胞の患者

インフォームドコンセント

ヒト幹細胞臨床研究に参加しない

保険診療による治療

※ヒト幹細胞臨床研究に参加しないことで不利益は生じないことを十分に説明

ヒト幹細胞臨床研究に参加する

患者本人による治療法の選択

自己骨髄培養細胞由来再生培養骨移植手術（10名）

奈良医大

・血液採取
・骨髄採取

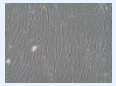
血液　骨髄

主治医が車にて運搬

再生培養骨移植

産総研 CPC

主治医が培養



細胞

人工骨

再生培養骨作成

自家骨移植手術（10名）

自家骨移植

手術後レントゲン･CT検査による治療効果判定