

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成22年 9月 27日


厚生労働大臣 殿

| | | |
|------|------------------|--|
| 研究機関 | 所在地 | 〒162-8666 東京都新宿区河田町 8-1 TEL 03-3353-8111 FAX 03-5269-2367 |
| | 名称 | 東京女子医科大学 |
| | 研究機関の長 役職名・氏名 | 東京女子医科大学 学長 宮崎 俊 |



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・役職名・氏名 |
|-----------------------------|--|
| 自己培養歯根膜細胞シートを用いた 歯周組織の再建 | 歯科口腔外科学 主任教授 安藤 智博  |

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

| | |
|-----------------|--|
| 研究課題名 | 自己培養歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建 |
| 申請年月日 | 平成22年9月27日 |
| 実施施設及び 研究責任者 | 実施施設：東京女子医科大学 安藤 智博 |
| 対象疾患 | 中等度の歯周欠損（歯周ポケット4～9 mm）を有する 歯周病 |
| ヒト幹細胞の種類 | 自己歯根膜組織由来細胞 |
| 実施期間及び 対象症例数 | 大臣意見発出から2年間、10名 |
| 治療研究の概要 | <p>本研究では、歯周病によって引き起こされた歯周組織の欠損に対して、自己培養歯根膜細胞シート移植法による、歯周組織再建技術の治療効果及び安全性を検討する。</p> <p>自己培養歯根膜細胞シートは、被験者の血清及び組織由来細胞を用いて作製し、また、温度応答性培養皿を用いて培養することで、広範な欠損に対して、より短期間の創傷治癒を期待する。術後最低6ヶ月間の観察を行い、自覚症状、各種歯周組織検査にて有効性を判定する。</p> |
| その他（外国での状況等） | <p>本研究機関では、歯根膜組織から分離した歯根膜細胞を培養増殖してシート化し、硬組織誘導した培養歯根膜細胞シートを用いることにより、より短期間で歯周組織を再建できることをラット移植モデルで確認した。さらに、イヌを用いた自己培養歯根膜細胞シートによる歯周組織再生モデルについても検討を行い、良好な結果を得ている。</p> |
| 新規性について | <p>温度応答性培養皿上で作製された自己培養細胞シートを用いた本研究は、歯周分野初の試みで、新規治療法として期待される。また、今まで困難とされてきたセメント質様組織を誘導し、より強固な靱帯様組織を再建する。</p> |

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

| | |
|--------------|--|
| 臨床研究の名称 | 自己培養歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建 |
| 研究機関 | |
| 名称 | 東京女子医科大学 |
| 所在地 | 〒162-8666 東京都新宿区河田町 8-1 |
| 電話番号 | 03-3353-8111 |
| FAX 番号 | 03-5269-2367 |
| 研究機関の長 | |
| 氏名 | 宮崎俊一 |
| 役職 | 学長 |
| 研究責任者 | |
| 氏名 | 安藤智博 |
| 役職 | 歯科口腔外科学主任教授 |
| 最終学歴 | 東京歯科大学歯学部 |
| 専攻科目 | 口腔顎顔面外科学 |
| その他の研究者とその役割 | 別紙 1 参照 |
| 臨床研究の目的・意義 | <p>本研究では、歯周病によって引き起こされた歯周組織（歯肉・歯槽骨・歯根膜・セメント質）の欠損に対して、新規に開発した自己培養歯根膜細胞シート移植法による、低侵襲な歯周組織再建技術の治療効果及び安全性を検討する。特に本研究では有効性について診査する。</p> <p>自己培養歯根膜細胞シートは、ウシ血清や異種細胞を使用せず、被験者自身の組織由来細胞及び自己血清を用いて作製することにより安全性が高い。また、温度応答性培養皿を用いて培養することで、従来の方法と比較し、より広範な欠損の、より短期間での創傷治癒が期待できる。日本国民の罹患率の高い歯周病において、このような新しい再生技術の確立は、大きな意義があると考えられる。</p> |
| 臨床研究の対象疾患 | |
| 名称 | 中等度の歯周欠損（歯周ポケット 4～9 mm）を有する歯周病 |
| 選定理由 | 中等度の歯周組織欠損は骨欠損を伴うため、従来行われているフラップ手術だけでは上皮性の付着を誘導してしまい再発することが知られている。現在臨床においては上皮細胞の深部への侵入を防ぐために遮断膜を用いる方法（Guided Tissue Regeneration法：GTR法）が保険適応されているが、術後に感染が起きやすい、膜を除去する 2 次手術が必要な場合がある、技術的に困難である、 |

| | | |
|-----------------|--|--|
| | | 組織学的には真の再生が起こらない、など問題点が多く指摘されている。そこで、自己培養歯根膜細胞シートならば、同様の再建が安全かつ短期間に実現することが可能であると考えたため上記疾患を対象とした。 |
| 被験者等の選定基準 | | <p>【選択基準】 次の選択条件をすべて満たす患者を被験者として選択する。 (1) 初診診断にて歯周炎と診断され、初期治療終了後に4～9 mmの歯周ポケットを有し、X線写真上において歯槽骨欠損が確認されている (2) 年齢20歳以上 (3) 患者本人による署名および日付が記入された同意文書を得ていること (4) 咬合に参画せずかつ健全な歯根膜組織を有する歯（例えば、第3臼歯またはそれに準ずる歯）が存在し、機能的侵襲を伴わず自己歯根膜組織の入手が可能であること</p> <p>【除外基準】 次のいずれかの条件に該当する者は除外する (1) 歯周外科手術時および従来 of 報告において歯周組織の再生に障害をきたすことが示されている医学的要因を有するもの（例えば、コントロールされていない高血圧症、心疾患、免疫機能低下、糖尿病） (2) 妊婦および妊娠の可能性のある女性 (3) 重度の喫煙習慣（例えば、11本以上/日）を有する者 (4) その他、何らかの理由により本研究を実施するのに不相当と考えられる症例</p> |
| 臨床研究に用いるヒト幹細胞 | | |
| 種類 | | 自己歯根膜組織由来細胞 |
| 採取、調製、移植又は投与の方法 | | <p>【採取方法】 抜歯部位及びその周辺をヒビテンおよびポビドンヨードにて洗浄除菌し、局所麻酔下で挺子及び鉗子、その他必要器具を用いて抜歯し、輸送液の入った密封容器に入れセルプロセッシングセンターに移送する。</p> <p>【調製方法】 抜去歯を洗浄し菌等の不活化を行い、#15メス等にて歯根中央部に付着している軟組織を採取する。抜去歯から採取した軟組織を、ろ過滅菌済のコラゲナーゼとディスパーゼの混合液へ浸漬し37℃で一定時間処理後に組織塊を除去し、得られた歯根膜細胞懸濁液を培養フラスコに播種する。歯根膜細胞を必要細胞数まで培養増</p> |

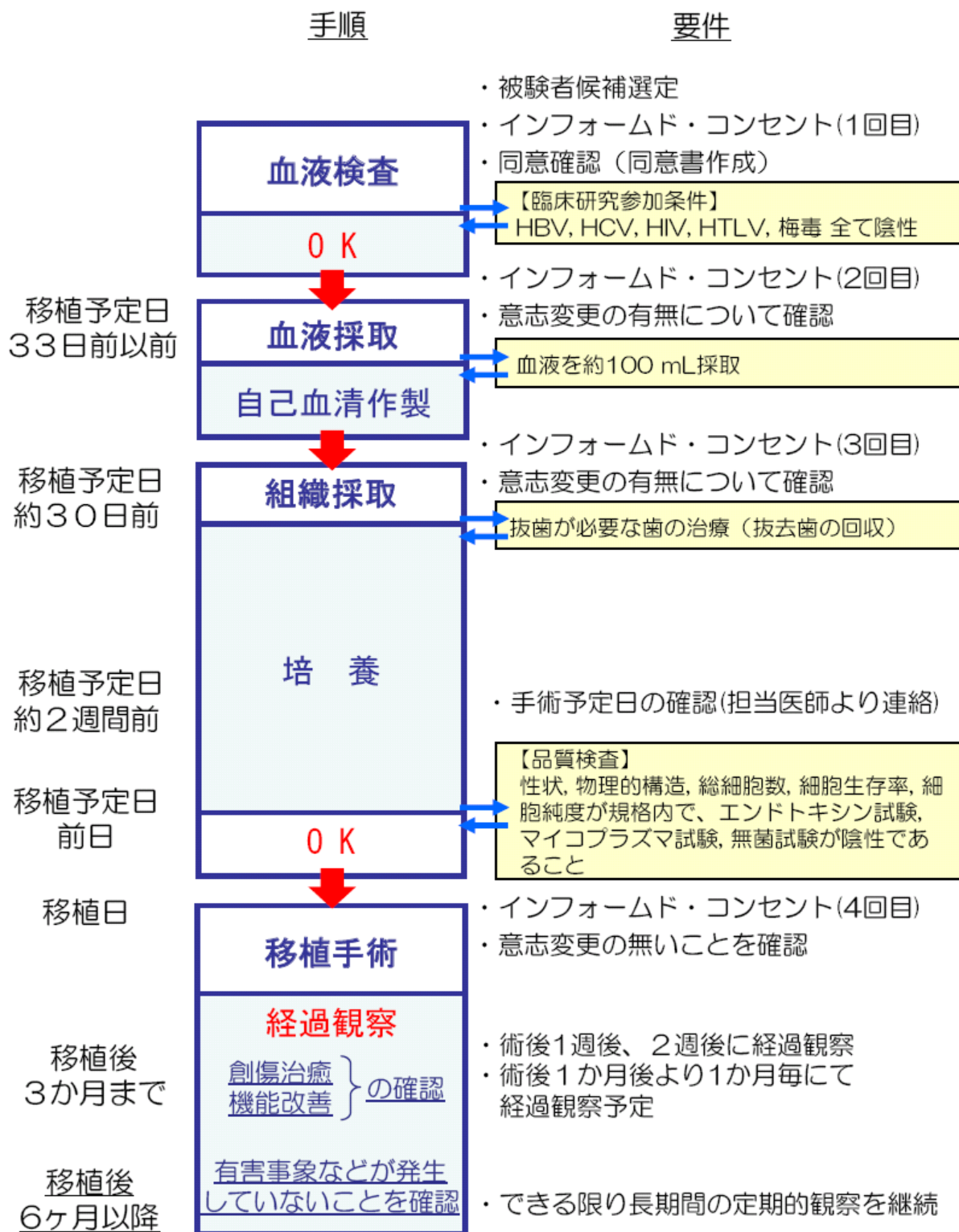
| | | |
|----------------------|--|---|
| | | <p>殖させた後、温度応答性培養皿に播種し、硬組織誘導を行いながら約14日間かけて自己培養歯根膜細胞シートを作製する。作製に要する期間は、培養増殖による個体差を含め、27～32日間である。</p> <p>【移植方法】</p> <p>手術開始前に写真を撮影し、歯周組織検査を実施する。ヒビテン綿球で術野を消毒後、局所麻酔下において患部周囲の歯周ポケット近傍を切開する。全層弁で剥離し、不良肉芽を含む軟組織を除去した後、歯周ポケットにさらされていた歯根面のスクレーピング・ルートプレーニングを行う。歯周欠損のサイズを計測後、自己培養歯根膜細胞シートを生理食塩水にて洗浄し、転写支持膜上で3層に積層したのち、移植部位の欠損サイズに合わせてトリミングする。トリミングした自己培養歯根膜細胞シートを写支持膜とともに根面に移植した後、欠損の程度に応じて必要ならば、骨欠損部分にβ-トリリン酸カルシウム（オスフェリオン：オリンパス社）を充填し、歯肉弁を復位縫合する。</p> |
| 安全性についての評価 | | <p>自己培養歯根膜細胞シート移植手術の臨床研究期間中における副作用の発現および臨床検査値の異常変動を考慮して、安全度を次の4段階で判定する。</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) 安全である（副作用なし、臨床検査値異常変動なし） (2) ほぼ安全である（使用継続できる程度の副作用あるいは臨床検査値異常変動） (3) 安全性に問題あり（使用中止すべき程度の副作用あるいは臨床検査値異常変動） (4) 安全でない（他医療行為による治療を要する程度の副作用あるいは臨床検査値異常変動） <p>ただし、副作用や臨床検査値異常変動が移植手術と併用薬剤のいずれによるかが不明な場合は移植手術によるものとみなして判定する。</p> |
| 臨床研究の実施が可能であると判断した理由 | | <p>我々は、歯根膜組織から分離した歯根膜細胞を培養増殖してシート化、硬組織誘導をかけた培養歯根膜細胞シートを用いることにより、より短期間で歯周組織を再建できることをラット移植モデルで確認した。（Flores <i>et al.</i> J Clin Periodontol. 2008; 35:1066-72）さらに、イヌを用いた自己培養歯根膜細胞シートによる歯周組織再生モデルについて検討を行い、良好な結果を得ることができた。（Iwata <i>et al.</i> Biomaterials. 2009; 30:2716-23）</p> <p>温度応答性培養皿にて作製された自己組織由来培養細胞シートの安全性は、大阪大学医学部眼科学教室における角膜上皮幹細胞疲弊症治療の臨床研究、大阪大学外科学講座における拡張性心筋</p> |

| | |
|-----------------------|--|
| | <p>症治療の臨床研究、及び、本学消化器外科における内視鏡的粘膜切除術(EMR)にともなう人工食道潰瘍の再生医療的治療の臨床研究より、既に確立されていると考える。</p> <p>我々は、自己培養歯根膜細胞シートをセルプロセッシングセンターにて、ウシ胎児血清を使用しない培養条件で作製し、一定の品質と安全性を確保できることを確認した。(Washio <i>et al.</i> Cell Tissue Res. 2010; 341:397-404) また、作製した自己培養歯根膜細胞シートを象牙質片とともに移植した免疫不全マウス埋植モデルにて4週後にセメント質様組織が再生することを確認し、従来の歯周組織再生法よりも短期間で創傷治癒と歯周組織の再生が期待でき、本臨床研究にて被験者のQOLが向上すると考察した。</p> |
| 臨床研究の実施計画 | <p>本臨床試験は単群無対照オープン試験として、下記内容の試験治療について実施する。</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) 被験者の登録（スクリーニング検査） (2) 被験者からの血液採取および自己血清の調製 (3) 被験者からの歯根膜組織採取（抜歯） (4) 歯根膜細胞の単離及び自己培養歯根膜細胞シート作製 (5) 自己培養歯根膜細胞シート移植 <p>試験期間は、厚生労働大臣からの意見発出から2年間。詳細は臨床研究実施計画書本文参照。</p> |
| 被験者等に関するインフォームド・コンセント | |
| 手続 | <p>(1) 遵守すべき諸規則</p> <p>本研究は、ヘルシンキ宣言（東京、ベニス、香港、サマーセット・ウエスト、エジンバラ改訂）の精神を遵守し、また「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」（平成18年7月3日 厚生労働省告示 第425号）を遵守して実施する。また、試験を安全に実施するために必要と判断される場合は、研究実施計画書の改訂を行う。</p> <p>(2) 同意取得に関する基本手順</p> <p>研究責任者または担当医師は、被験者に試験の目的、方法などを口頭および文書で説明し、文書にて研究参加への同意を得る。「同意書」と「説明文書」は、研究責任者が倫理委員会の承認を得る。（「同意書」と「説明文書」の内容は別紙資料参照）</p> <p>被験者の同意を得るにあたり、研究責任者または担当医師は、まず被験者に「説明文書」を手渡し、試験の目的・方法等についてわかりやすく説明する。次に、被験者から試験についての質疑を受け、試験内容について十分に理解したことを確認する。最後に、本研究への参加について、被験者の自由な判断に基づく同意の意思を確認し、これを被験者による「同意書」への日付・氏名の記載、および捺印または署名によって記録する。</p> <p>「同意書」には、説明を行った研究責任者または担当医師、および被験者が、各自日付を記入したうえ、記名捺印または署名を</p> |

| | |
|---|---|
| | <p>行い、原本を担当医師がカルテに添付する。同意取得後、担当医師は、被験者が研究に参加する前に、日付が記載され記名捺印または署名を得た同意説明文書の写しを被験者に交付し、交付日を記録する。</p> <p>研究責任者または担当医師は、被験者からの同意取得日を症例報告書に記入する。</p> <p>研究責任者および担当医師は、本研究への参加継続について被験者の意思決定に影響を与える可能性のある情報を得た場合、当該情報を直ちに被験者に伝え、被験者が参加を継続するか否かの意思を確認する。その際、研究責任者および担当医師は、被験者の意思を再確認した事実、伝えた内容、および被験者の自由な判断に基づく参加継続への同意の意思を、日付とともに記録する。</p> <p>研究責任者は、「同意書」および「説明文書」を改訂する必要があると認められる情報を得た場合、速やかに当該情報およびそれに基づく適切な「同意書」および「説明文書」の改訂案を、倫理委員会へ提出し承認を得る。「同意書」および「説明文書」に改訂が生じた場合、研究責任者および担当医師は、既に研究に参加している被験者に対しても、改訂後の「同意書」および「説明文書」を用い、再度研究への参加継続に対する同意を文書にて取得する。</p> |
| <p>説明事項 (被験者の受ける利益と不利益を含む。)</p> | <p>以下の内容を「説明文書」において説明し、「同意書」にて確認を実施する。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・研究の意義と目的、および方法について ・臨床研究を実施する機関名について ・研究への参加に伴う利益および不利益について（予期される効果及び危険） ・研究に参加する期間について ・研究への参加の自由と同意撤回の自由について（研究への参加は任意であり、参加しないことで不利益な対応を受けないこと。また、いつでも同意を撤回でき、撤回しても何ら不利益を受けないことについて） ・個人情報の取り扱いについて ・研究終了後の対応・研究成果の公表について ・研究のための費用について ・研究にかかわる必要な事項（術前における血液検査、血液採取、歯根膜組織採取のご協力、及び、予期される危険について） ・問い合わせ先・苦情等の連絡先 |
| <p>単独でインフォームド・コンセントを与えることが困難な者を被験者等とする臨床研究の場合</p> | |
| <p>研究が必要不可欠である理由</p> | <p>本研究では想定していない。</p> |

| | | |
|--------------------------|--|--|
| | 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 | <p>有害事象の発現に際しては、適切な救急処置を施し、被験者の安全確保に留意し、必要に応じ専門医師の診断を受けることにより原因究明に努める。また被験者の試験参加中およびその後を通じて、臨床上問題となる試験に関連した重篤な有害事象に対し、十分な医療措置を講じる。</p> <p>重篤な有害事象が認められた場合には、臨床研究との関連性の有無に関わらず、速やかに研究責任者より学長へ報告し、学長は倫理委員会へ報告する。学長は倫理委員会の意見を受けた後、厚生労働大臣へ報告し意見を求める。</p> <p>試験期間中に新たな有害事象が発生した場合には、症例報告書の有害事象記入欄にその内容、程度、発現日、処置（試験治療の中止・継続・終了・一時休止、および有害事象に対する治療内容）、転帰（回復、軽快、未回復、回復したが後遺症あり、死亡、不明）、転帰日を記入するとともに、試験薬との因果関係を規定に従って判定して記載する。</p> <p>規定については臨床研究実施計画書を参照のこと。</p> | |
| 臨床研究終了後の追跡調査の方法 | <p>定期的に外来で診察を行い、実施計画に記載してある基本検査と画像を保存する。被験者観察期間は最低6ヵ月間とする。法令に従い、記録は10年間保管する。</p> | |
| 臨床研究に伴う補償 | | |
| | 補償の有無 | 有 <input type="radio"/> 無 <input checked="" type="radio"/> |
| | 補償が有る場合、その内容 | |
| 個人情報保護の方法 | | |
| | 連結可能匿名化の方法 | <p>カルテ診療記録以外の個人情報は全て検体認識番号に置き換えて、検体認識番号と氏名の対応表は個人情報管理者（責任者および担当医師）が厳重に保管をする。その他の事項に関しては、東京女子医科大学病院において講じられている「個人情報の取扱い」に従い、被験者のプライバシー保護に留意する。</p> |
| | その他 | <p>被験者のプライバシー保護について、下記事項を遵守する。</p> <p>(1) 研究への参加後、研究に関連して取得する情報に関する被験者の特定は、登録時に交付する被験者識別番号を用いて行う。</p> <p>(2) 観察・検査・評価結果や症例報告書の作成・保管など取り扱いにおいては、被験者のプライバシー保護に最善の努力を行う。</p> <p>(3) その他の事項に関しては、東京女子医科大学病院において講じられている「個人情報の取扱い」に従い、被験者のプライバシー保護に留意する。</p> |

| | |
|----------------------------------|--|
| <p>その他必要な事項 (細部を確認して下さい)</p> | <p>① 当該研究に係わる研究資金の調達方法</p> |
| | <p>本研究の移植に関する項目（スクリーニング検査、血液採取および歯根膜組織採取、自己培養歯根膜細胞シートの作製、及び移植）ならびに術後観察に係る薬剤・検査費用は、東京女子医科大学本学先端生命医科学研究所の研究費を使用する。</p> |
| | <p>② 既に実施されているヒト幹細胞臨床研究と比較して新規性が認められる事項</p> <p>自己培養細胞シートを用いた本臨床研究は、新規治療法として期待されるのみならず、これまで実施されたヒト幹細胞臨床研究では、歯周分野初の試みである。</p> <p>温度応答性培養皿上で作製された自己培養歯根膜細胞シートは、培養の間に沈着した細胞外マトリックスを底面に保持したまま回収できるので、ディスパーゼ、トリプシンなどの酵素を用いた従来法で回収された細胞シートと比べ、移植創への短時間かつ良好な生着が確認されている。また、硬組織誘導培地にて細胞に分化誘導をかけることにより、今まで困難とされてきたセメント質様組織を誘導することが動物実験より証明されており、より強固な靭帯様組織を歯根周囲に再建することが期待される。</p> |



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（別紙1）
- インフォームド・コンセントにおける説明文書及び同意書様式（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・臨床研究の概略フロー（別紙3）
- 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況、参考文献（別紙4）
- その他（臨床研究用製品の品質確認報告書（別紙5））
- その他（細胞・組織利用医療機器等の製造施設及び設備（別紙6））
- その他（資料内容：CPCバリデーション基準書（別紙7））
- その他（資料内容：CPC環境菌（浮遊、付着菌）測定手順書（別紙8））
- その他（資料内容：CPC週清掃、サニテーション依頼手順書（別紙9））
- その他（資料内容：自己培養口腔粘膜上皮細胞シート製品標準書（別紙10））
- その他（資料内容：重要資材規格一覧表・購入試薬規格一覧表（別紙11））
- その他（資料内容：品質証明書（Certificate of Analysis）サンプルコピー（別紙12））
- その他（資料内容：逸脱管理手順書（別紙13））
- 東京女子医科大学倫理委員会規定・委員名簿・審査結果（別紙14））

〈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〉

本研究は、歯周病によって引き起こされた歯周組織（歯ぐき、歯そう骨、セメント質）の欠損に対して、安全かつこれまでの治療法よりも短期間で元に戻すことが可能な、新しい治療法の開発を目的とします。

歯は歯ぐきとぴったりつながっているかのように見えますが、実は歯と歯ぐきの間にはわずかな隙間があります。この歯と歯ぐきの境目の溝を歯周ポケットといいます。歯周ポケットは、2 mm以下の浅い溝ならよいのですが、深い溝になると口の中の汚れが溜まりやすくなり、放っておくと歯周病となってしまいます。歯周病が進行してしまうと、いずれは歯を支える骨（歯そう骨）がなくなって、歯は自然と抜け落ちてしまいます。あるいは、そうなる前に、歯周ポケットの深いところに炎症を起こして腫れあがってしまいます。

一般的な歯周病の治療は、この歯周ポケット内にある汚れ（歯垢や歯石）を取り除き、歯ぐきの炎症を抑えて引き締め、これ以上歯そう骨が溶けてなくなるのをくい止める治療であり、歯周病が完治しても歯周組織は元の形には戻らず、歯そう骨のなくなった歯ぐきはやせてしまい歯の表面が以前と比べ多く露出します。これに対して、GTR法とエムドゲイン法という再生療法があります。GTR法は、歯の周りに特殊な膜を張り、歯そう骨が吸収されてしまった部分に歯肉が入り込むのを阻止し、歯周組織の再生を待つ治療法です。エムドゲイン法は、歯そう骨が吸収されてしまった部分に直接、歯周組織の再生を促すような薬剤を充填する治療法です。これら2つの方法は、いずれも失った歯そう骨を再生し、歯周組織をもとに戻してくれますが、手術が難しい、手術後に感染が起きやすい、再手術が必要である（GTR法）、薬剤に動物（ブタ）由来の原材料を使用している（エムドゲイン法）、歯周組織（歯そう骨）の再生までに時間がかかる、などといった問題があります。

これらに対して、我々は、再生医療による新たな治療法として、患者様ご自身の歯に付着した組織から歯周組織を再生できる細胞を取り出し、培養してシート状にしたもの（培養細胞シート）を移植することで、安全かつより短期間に歯周組織を再建できる方法を開発しました。本研究では、温度応答性培養皿という特別な機能を持つ培養皿を使用して培養細胞シートを作ります。一般の培養皿を用いた従来の方法では、タンパク質を溶かす溶液で培養皿と細胞間の接着を切り離してシート状の細胞を回収していたため、細胞は表面が溶かされ、ダメージを受けていました。ところが、温度応答性培養皿を用いると、細胞表面のタンパク質を溶かすことなく温度の変化のみで培養皿からシート状の粘膜を回収することができるので、細胞はダメージが無い元気な状態で移植できます。さらにこの細胞には、培養皿と接着していた「のり」が付着したままであるため、培養細胞シートを傷の部分に貼り付けると、非常に短い時間で移植部と一体化し、速やかに歯と歯ぐきをつなぐ組織（セメント質等）を再生することが分かっています。したがって、これまでの方法よりも早く治ることが期待できます。

治療の具体的な手順は次のとおりです。まず、治療の対象となる患者様から約100 mLの血液を採血します。血液を遠心により血球と血清に分離したのち、得られた血清を、細胞を培養する時の栄養物質として用います。次に、患者様の健全な歯周組織を保持し、かつ咬合に参画しない別の歯を抜歯し、歯に付着する歯根膜組織から細胞を分離し、温度応答性培養皿を用いて培養細胞シートを作製いたします。約30日間の培養が必要ですが、培養はセルプロセッシングセンターという無菌性を保った特殊な施設で行われ、手術日に無菌性を保ったまま病院内に持ち込み、移植を行います。

この治療法では、治癒までの期間が短くなるため、患者様にとって大きな利益をもたらすものになると期待されます。また、患者様ご自身の細胞を使用しているため安全性も高いと考えております。

臨床研究の概略フロー

