

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成23年8月31日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	〒602-8566 京都府京都市上京区河原町広小路上ル梶井町 465 TEL: 075-251-5578 FAX: 075-251-5663
	名称	京都府立医科大学
	研究機関の長 役職名・氏名	学長 吉川 敏一 

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
難治性角結膜疾患に対する培養自家口腔 粘膜上皮シート移植に関する臨床試験	京都府立医科大学 眼科学教室 教授 木下 茂

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	難治性角結膜疾患に対する培養自家口腔粘膜上皮シート移植に関する臨床試験
申請年月日	平成23年8月31日
実施施設及び研究責任者	実施施設：京都府立医科大学 木下 茂
対象疾患	難治性角結膜疾患
ヒト幹細胞の種類	口腔粘膜上皮細胞
実施期間及び対象症例数	平成26年9月30日まで、30症例
治療研究の概要	患者の口腔粘膜を採取して、先端医療センターに移送後、CPCにてディスパーゼ・トリプシン処理の後に羊膜基質上で上皮細胞を培養する。フィーダー細胞 NIH3T3 を用いて培養口腔粘膜上皮細胞シートを作製し、京都府立医大に移送し、手術室にて移植する。半年後に視力改善あるいは上皮欠損の修復あるいは眼表面癒着解除の程度をみて有効性を評価する。先端医療センターとの共同研究。
その他（外国での状況等）	本治療法は京都府立医科大学において2002年から72症例以上の実績があり、有効性、安全性についてある程度確立している。大阪大学と東北大学は温度応答性培養皿を用いた培養にて2011年に自家口腔粘膜上皮シート移植の幹細胞指針の承認を受けている。株式会社セルシートは同様の温度応答性培養皿を用いて作成した上皮シートに関する治験をフランスで実施し、2011年6月に欧州医薬品庁に販売承認申請を提出した。
新規性について	培養自家口腔粘膜上皮シートの作成方法、搬送のスキームに新規性がある。更に高度医療を目指す。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	難治性角結膜疾患に対する 培養自家口腔粘膜上皮シート移植に関する臨床試験
研究機関	
名称	京都府立医科大学
所在地	〒 602-8566 京都市上京区河原町広小路上ル梶井町465
電話番号	075-251-5578
FAX番号	075-251-5663
研究機関の長	
役職	学長
氏名	吉川 敏一 印
研究責任者	
所属	京都府立医科大学眼科学教室
役職	教授
氏名	木下 茂 印
連絡先 Tel/Fax	Tel:075-251-5577 /Fax075-251-5663
E-mail	shigeruk@koto.kpu-m.ac.jp
最終学歴	1974年 大阪大学医学部 卒業
専攻科目	眼科学
その他の研究者	別紙1研究者の氏名、所属、略歴及び研究業績等」に記載のとおり
共同研究機関(該当する場合のみ記載してください)	
名称	財団法人先端医療振興財団 先端医療センター
所在地	〒 650-0047 神戸市中央区港島南町2丁目2番
電話番号	078-304-7316 (先端医療センター病院 臨床開発推進部)
FAX番号	078-304-7317
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	先端医療センター長
氏名	鍋島 陽一
臨床研究の目的・意義	従来型の角膜移植の適応外であり、他のいかなる方法でも治療困難である最重症の難治性角結膜疾患のうち、重症の角膜上皮幹細胞疲弊症の患者を対象に、培養自家口腔粘膜上皮シート移植の安全性を確認するとともに、眼表面の異常(角膜混濁・上皮欠損・眼表面癒着)を改善し、眼表面再建における有効性を検討することを目的とする。 本試験では重症の角膜上皮幹細胞疲弊症の中でも、原疾患がスチーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、重傷熱・化学腐食である患者を対象とする。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>また、患者の症状に応じて、治療目的を視力改善、上皮欠損の修復、眼表面癒着の解除群に分ける。今回用いる治療において、これまでに報告された培養上皮シート移植による治療効果よりも優れ、安全性において容認可能であれば、次期に本治療による保険適応を申請するための治験に移行する予定である。</p> <p>本臨床研究は、先端医療振興財団と京都府立医科大学の2機関での共同実施とする。先端医療センターCPCにおいて、治験GMPにほぼ準拠した上皮シートの製造・品質管理を実施することで、その後の治験に円滑に移行できるようにする。またオープン利用型TRセンターとしての先端医療センター病院においても移植手術を実施する本臨床研究のスキームは、複数の医療機関による連携と、単一の製造施設からの細胞製剤の出荷という、今後の再生医療の実用化と普及を促進するモデルケースとも考えられ、本研究を実施する意義は高いと考えられる。</p>
<p>臨床研究の対象疾患</p>	
<p>名称</p>	<p>難治性角結膜疾患 (原疾患が、スチーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、重症熱・化学腐食の患者)</p>
<p>選定理由</p>	<p>難治性角結膜疾患は、従来の角膜移植の適応外であり、他のいかなる治療法でも治療困難であるが、自己細胞を培養して上皮シートを作製し移植することで、十分な治療効果があると期待できるため。</p>
<p>被験者等の選定基準</p>	
<p>別紙8「試験実施計画書 6. 適格規準」に記載のとおり</p> <p>以下に本臨床試験の被験者適格基準の抜粋を示す。</p> <p><選択規準> 下記の選択規準をすべて満たす患者を対象とする</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 次の各疾患による難治性角結膜疾患と診断されていること (スチーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、重傷熱・化学腐食) 2) 自家組織移植として僚眼からの治療の選択肢のない両眼性疾患 3) 同意取得時の年齢が、年齢15歳以上85歳未満の患者 4) 移植目的が視力回復、上皮欠損の改善、眼表面癒着の改善である患者(各目的のスコア・値は別紙8「試験実施計画書」の「12.7.2眼科所見A、B、C」を参照) 5) 本人ないし代諾者(15歳以上20歳未満の場合はその両者)から文書同意を得た患者(本研究における代諾者の資格については、別紙8「試験実施計画書」の「6. 適格規準」を参照) <p><除外規準> 下記の除外規準に一つでも当てはまる患者は対象としない</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 活動性の角膜感染症(細菌・真菌・ウイルスなど)を有する患者 2) 眼圧のコントロールが不良な緑内障患者 3) HBV, HCV, HIV, HTLVまたは梅毒感染症のいずれかを合併する又はキャリアと診断された患者 4) 血糖コントロール不良な糖尿病患者 5) シクロスポリンおよびステロイド剤に対する過敏症を有する患者 6) 妊娠中または妊娠の可能性のある患者、または授乳中の患者 7) その他、合併症等のために本研究を実施するのに不相当と考えられる患者 8) 難治性角結膜疾患のうち、次の疾患のいずれかと診断されていること (瞼球癒着を伴う重症再発翼状片、無虹彩症、薬剤毒性によるステムセル疲弊、瘢痕性類天疱瘡、原因不明のステムセル疲弊症) 9) 全身性の自己免疫疾患を合併する患者(SLE、ベーチェット病等) 10) 他の原因による視力障害の関与が強く疑われる患者 11) 既に本プロトコル治療を実施した患者 12) 抗がん剤の使用者および使用を予定された者 13) 心疾患(心筋梗塞、心不全、コントロール不良の不整脈等)、脳血管障害(脳卒中)の既往を有する(及び/又は合併する)患者 14) 目的が角膜再建(視力回復目的あるいは上皮修復目的)の場合には、眼瞼機能障害による閉瞼不全を伴う患者 15) 本試験物を製造するために必要な口腔粘膜組織を採取することが困難と判断された患者 16) その他、研究責任医師または研究分担医師が本研究の参加に支障があると判断した患者 	

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	口腔粘膜上皮細胞
由来	①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	<p>1)羊膜の調製 原料として使用するヒト由来羊膜は、日本組織移植学会が認定する組織バンクより入手し、受け入れ検査にて適合したものを使用する。原料羊膜が未処理の場合は、羊膜に付着した血液や絨毛膜を除去し約3.5cm×3.5cmの大きさに裁断する。その後、羊膜上皮細胞を除去し保存する。また、一部の羊膜を採取して細菌・真菌についての試験を実施し、陰性であることを確認する。また、実体顕微鏡により外観試験を行い、上皮側に血管跡や微孔が無いこと、絨毛膜側に繊維状組織や血管跡、微孔が無いことを確認する。(詳細は別紙10「製品標準書」を参照)</p> <p>2)フィーダー細胞の調製 フィーダー細胞としては、NIH3T3細胞を使用する。NIH3T3細胞は異種動物(マウス)由来であることから、その特性と適格性が関係の指針に適合したものを使用する。調製工程としては、マスターセルバンク(MCB)を回復培養した後、拡大培養してワーキングセルバンク(WCB)を調製する。さらに、このWCBを拡大培養し、MMC処理で細胞増殖を止めることによりフィーダー細胞を調製する。MCBとWCBの樹立時には、それぞれ指針に規定された無菌試験、安全性試験等を実施する。(詳細は別紙10「製品標準書」を参照)</p> <p>3)自己口腔粘膜の採取 被験者から、口腔粘膜を採取する。局所麻酔の後、消毒した頬部口腔粘膜から径5～6mmの組織を2箇所採取する。採取部位は炭酸レーザーあるいは縫合による止血を行う。縫合した場合には、抜糸処置を行う。(詳細は別紙8「試験実施計画書」を参照)</p> <p>4)培養自家口腔粘膜上皮シートの作製 口腔粘膜より血液および結合組織を除去し、上皮細胞層を得る。分離した上皮細胞層を洗浄した後、酵素処理(トリプシン)を行う。浸漬後、セツンを用いて口腔粘膜上皮基底細胞を剥離・単離した後、遠心機にかけ、細胞懸濁液を調製する。細胞生存率は60%以上の必要がある。 細胞培養基材は、フィーダー細胞を培養したプレートに羊膜基質を貼付したカルチャーインサートを装着することにより作製する。細胞培養基材は使用時まで炭酸ガス培養器で保存する。培地は、カルチャーインサートおよびウェル内ともに1、2日毎に交換する。培養終了後、直径19mmの大きさにシートを打ち抜き、洗浄を行う。出荷まで、一次包装容器に充填・密栓し冷蔵保存する。(詳細は別紙10「製品標準書」を参照)</p> <p>5)培養自家口腔粘膜上皮シートの移植 移植手術は、原則として全身麻酔を行う。まずグレーフェエ刃を用いて角膜表面から濁った組織を取り除き、代わりにこの培養口腔粘膜上皮シートを10-0ナイロン糸にて12-16箇所の端々縫合(移植)する。その後、移植したシートが定着するまで、上皮細胞の脱落を抑えるために治療用のソフトコンタクトレンズを上装着する。(詳細は別紙8「試験実施計画書」を参照)</p>
調製(加工)工程	①有・無
非自己由来材料使用	①有・無 動物種(ヒト・ウシ・マウス)
複数機関での実施	①有・無
他の医療機関への授与・販売	有①無
安全性についての評価	先端医療センターCPCで製造する培養自家口腔粘膜上皮シートの安全性について、1)原材料、2)製造・品質管理工程、3)最終製品の安全性試験、4)臨床実績、のそれぞれに関して、以下に簡単にまとめる。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

1) 原材料

本品の主要な原料のひとつである口腔粘膜組織は被験者本人から採取する。またヒト羊膜は、日本組織移植学会が認定する組織バンクが採取・調製・検査し、適合したものを入手・使用する。検査内容は、感染症検査と無菌検査等である。また羊膜から調製した羊膜基質に関して、外部検査会社に委託することで遺伝毒性試験と細胞毒性試験を実施した。その結果、いずれも毒性は認められなかった。

製造関連物質として、フィーダー細胞のNIH3T3細胞を使用する。NIH3T3細胞は異種動物(マウス)由来であることから、その特性と適格性が関係の指針に適合したものを使用する。すなわち、ウイルス・微生物汚染に関する検査に適合した細胞を使用する。またフィーダー細胞の混入がないことは製造工程中に確認する。また培地には、ウシ胎児血清(FBS)を添加する。FBSは、BSEの非産生国のウシ由来の製品であり、動物由来原料基準に適合したものを使用する。最終製品の出荷時には、BSAの濃度を測定することでFBSの残留濃度を評価する。

他の原材料に含まれる動物由来因子等については、その安全性を製造・販売元に確認しており、特に安全性に関して大きな問題のある因子は使用していない。

(詳細は、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」及び別紙11「製造に係る原材料等の品質保証関係書類」参照)

2) 製造・品質管理工程

口腔粘膜上皮シートの製造・品質管理は、先端医療センターCPCにおいて治験GMPに準じて実施される。また各原材料の受入れ検査を実施し、工程内品質管理試験と出荷試験における安全性検査として、無菌試験・マイコプラズマ否定試験・エンドキシン試験を実施し、適合したものが出荷される。(詳細は別紙10「製品標準書」を参照)

3) 最終製品の安全性試験

本品の製造工程中に、口腔粘膜上皮細胞に何らかの有害な変異が生じ、細胞の癌化が起きる可能性を検討するために、最終製品から単離した口腔粘膜上皮細胞の造腫瘍性を検討する試験として、軟寒天コロニー形成試験を実施し、また併せて核型分析試験を実施した。上皮シートを構成する口腔粘膜上皮細胞についての核型分析では、5例中2例で核型異常が認められたが、同じ細胞についての軟寒天コロニー形成試験ではすべて陰性であり、細胞が癌化している可能性は無視できるほど小さいと考えられた。

また本品は眼表面の患部に適用されるものであるが、免疫系への影響あるいは分泌される生理活性物質が全身の正常細胞または組織に与える影響等も考えられる。そこで、口腔粘膜上皮シートのウサギ同等品の眼表面移植後および背部皮下への埋植後の全身毒性試験を実施した。病理組織学的検査および血液生化学的検査を実施した結果、背部皮下への投与部における拒絶反応と考えられる細胞浸潤以外には、ウサギ同等品の移植に起因すると考えられる毒性学的に意味のある検査結果は認められなかった。

(詳細は、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」を参照)

4) 臨床実績

本治療法は、本臨床試験の研究責任医師である木下茂・外園千恵らによって、京都府立医科大学附属病院にて既に多くの臨床研究の実績を積み重ねており(72症例以上)、有効性および安全性がある程度確立しているものである。レトロスペクティブ調査の解析結果によると、多くの重篤な有害事象の発現が記録されているが、これは、遠方の患者のために検査目的の再入院が必要になった場合がほとんどであり、その他は原疾患の悪性腫瘍の再発等である。研究担当医師が、本移植治療に起因すると考える重篤な有害事象は発生していない。本臨床研究においては、検査入院を予定する場合を重篤な有害事象としないこととし、また悪性腫瘍の治療中の患者については被験者としないこととした。その他、有害事象が発現する可能性のある疾患を有する患者についても被験者としない。

(詳細は、別紙5「培養自家口腔粘膜上皮シートの臨床実績」を参照)

以上より、先端医療センターCPCで製造する培養自家口腔粘膜上皮シートは、本臨床試験における移植手術に使用するうえで、十分な安全性が確保されているものと判断する。

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	<p>本治療法は、本臨床試験の研究責任医師である木下茂・外園千恵らによって、京都府立医科大学附属病院にて既に多くの臨床研究の実績を積み重ねており(72症例以上)、有効性および安全性がある程度確立しているものである。木下らは、世界に先駆けて自家の培養口腔粘膜上皮シート移植を施行し、術後に拒絶反応が生じないため、安定した術後の眼表面が得られることを報告している。さらに培養口腔粘膜上皮シート移植術は、培養角膜上皮移植では予後不良な角化や高度癒着を伴う角膜上皮幹細胞疲弊症にも効果を示すことが明らかとなっている。(詳細は、別紙5「培養自家口腔粘膜上皮シートの臨床実績」を参照)</p> <p>本臨床研究を実施する研究者は、上述の木下・外園をはじめとして角膜再生治療および研究の豊富な経験がある。また、京都府立医科大学附属病院と先端医療センター病院は、本臨床研究を実施するための医療機関としての設備・体制が整っている。(詳細は、別紙2「研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況」を参照)</p> <p>今回の臨床試験においては、上皮シートの製造及び品質管理工程を先端医療センターCPCで実施し、製造施設から移植施設への搬送を行うスキームを採用しているが、先端医療センターCPCは調製機関としての設備・体制が整っている。(詳細は、別紙2「研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況」を参照)</p> <p>具体的には、先端医療センターCPCにおいて、本品の製造・品質管理工程を治験GMPに準じたレベルで実施するための体制を整備した。また、10名以上の健常者ボランティアから採取した口腔粘膜組織を使用して、本品の製造及び品質管理工程検討のための臨床研究を既に実施した。試料の梱包、及び先端医療センター病院と京都府立医科大学附属病院間の搬送に関する連絡方法等の手順についても整備を行った。口腔粘膜組織については、冷蔵状態でおよそ60時間まで安定であることを確認済みである。最終製品の細胞生存率・細胞増殖能・シートの形態に関しては、冷蔵状態でおよそ72時間まで安定であることを確認済みである。先端医療センターと京都府立医科大学附属病院間の搬送時間は数時間程度であり、現在予定している輸送方法で、冷蔵状態(1-10℃)を24時間以上維持できることは確認済みである。以上のことから、輸送における安全性は確保されているものと判断する。(詳細は、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」を参照)</p> <p>以上より、先端医療センターCPCにおいて培養自家口腔粘膜上皮シートの製造・品質管理を実施し、京都府立医科大学附属病院と先端医療センター病院の両医療機関において移植手術を実施する本臨床研究の計画は実施可能であると判断する。</p>
臨床研究の実実施計画	別紙8「試験実施計画書」に記載のとおり
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	<p>研究担当医師は、患者本人に説明・同意文書を用いて口頭で本臨床試験の詳細について十分な説明を行い、同意を得る。同意文書には、説明を行った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。参加に同意できない場合には無理に本臨床試験に参加する必要のないこと、また参加を拒否しても何ら不利益を被ることはないことを理解していただく。また同意の意思はいつでも撤回できることも明確に伝える。ただし患者本人が理解、判断困難の場合は家族に、また15歳以上20歳未満の場合は代諾者にも同様の説明を行い、同意を得ることとする。また、同意を得る前に患者または代諾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。その際、研究者又は補足説明者としての研究協力者は、全ての質問に対して被験者が理解し満足するように回答する。</p> <p>被験者の同意に関係する新たな情報が得られた場合、また説明・同意文書等の変更がある場合には、速やかに当該情報に基づき関係書類を改定し、各医療機関の倫理委員会等の承認を得て変更するとともに、研究への継続参加について改めて患者の同意を文書により得る。被験者が同意の撤回を申し出た場合は、同意撤回書に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。</p> <p>また、採取・移植の際はその都度説明を行い、同意を得る。</p>
説明事項	別紙7「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」に記載のとおり
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	・15歳以上20歳未満の患者:スチーブンス・ジョンソン症候群の発症年齢にあたり、早期治療することが有益であると考えられるため。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>・高齢のため医師の説明を十分に理解することが困難な患者：本治療の対象となる眼類天疱瘡は60歳以降の高齢者に発症するが、高齢での中途失明はリハビリテーションが極めて困難であり高度の介護を要するほか、認知症の進行、うつ病の発症を助長するため。</p>
代諾者の選定方針	別紙7「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」の「3. 1 <この試験の対象となる方>」に記載のとおり
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>1) 総括責任者および研究責任者の責務 研究責任者は重大な事態と判断した事象又は情報について、総括責任者および研究機関の長に対して速やかに報告しなければならない。また、研究責任者は総括責任者または研究機関の長の指示を受ける前に、必要に応じ、本臨床試験の中止またはその他の暫定的な措置を講ずることができる。 総括責任者は、重大な事態が発生した場合には、研究機関の長およびすべての研究責任者に対し、速やかに、その旨を報告する。また、総括責任者は、研究機関長の指示を受ける前に、必要に応じ当該臨床研究の中止または暫定的な措置を講ずることができる。</p> <p>2) 研究機関の長の責務 a) 研究責任者から重大な事態が報告された場合には、原因の分析を含む対処方針につき、速やかに倫理審査委員会等の意見を聴き、研究責任者に対し、中止その他の必要な措置を講じるよう指示しなければならない。なお、必要に応じ、倫理審査委員会等の意見を聴く前に、研究機関の長は、研究責任者に対し、中止その他の暫定的な措置を講じるよう、指示することができる。 b) 倫理審査委員会等の意見を受け、その原因を分析し、研究責任者に中止その他の必要な措置の指示を与えた上で、倫理審査委員会の意見、原因の分析結果および研究責任者に指示した措置の内容を厚生労働大臣に速やかに報告する。 c) 倫理審査委員会等若しくは厚生労働大臣の意見を受け（又は必要に応じ）、研究責任者に対して改善、中止、調査の実施その他の必要な措置を講じるよう、指示するものとする。なお、倫理審査委員会等から当該臨床試験を中止するべきである旨の意見を述べられたときは、その中止を指示しなければならない。研究責任者が総括責任者と異なる場合、研究責任者は速やかに総括責任者に指示の内容を伝達する。 d) 報告を受けた研究機関の長は、研究責任者に対し、必要な措置を講ずるよう指示した上で、当該臨床研究を実施する他の全ての研究機関の長に対して、重大な事態および講じられた措置等について周知する。なお、当該臨床研究を実施するすべての研究機関の長は、共同で報告等の責務を行う。 e) 研究機関の長は、中止その他の必要な措置が講じられた後、その結果を厚生労働大臣に報告する。</p> <p>（詳細は、別紙8「試験実施計画書」の「11. 有害事象・重大な事態の評価・報告」および付録28. 4「重大な事態の報告・対応マニュアル」を参照）</p>
臨床研究終了後の追跡調査の方法	研究終了後も定期的外来診療により、安全性および有効性について確認をおこない、カルテに記載する。被験者に病原体感染等の有害事象が生じた場合は、適切な医療措置を行うとともに、最終調製物に関する確認を行い、原因究明に努める。なお、臨床試験終了後の定期的外来で得られた追跡調査のデータは、解析には含めない。
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	<p>本臨床試験に起因して有害事象が発生し、被験者に何らかの健康被害が発生した場合には、実施医療機関は適切な治療その他必要な措置を講ずる。提供される治療等に要した医療費は、実施両機関の研究費で負担する。ただし金銭的な補償は行わない。</p> <p>また、1)本臨床試験との関連性を否定された場合、2)被験者の故意もしくは過失により生じた場合、3)効能不発揮の場合については、上記の健康被害とは見做さない。なお、臨床試験に対応する保険については、賠償責任部分に加入する予定である。 (詳細は別紙16「臨床試験保険三井住友海上火災保険簡見積書」を参照)</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

個人情報保護の方法	
連結可能匿名化の方法	被験者識別コードを使用する。 被験者識別コードは、個人情報を含まず一意となる任意のコードを付ける。例えば、被験者の生年月日、イニシャル、カルテ番号、電話番号などは使用しない。
	(詳細は別紙8「試験実施計画書」の28. 3付録「匿名化番号対照表」を参照)
その他	本臨床試験にかかわるものは、被験者の個人情報の保護に最大限の努力を払う。
その他必要な事項	
①当該研究に係る研究資金の調達方法	
この臨床試験で行われる移植治療に関わる費用(細胞採取、手術費用等)は、各実施機関の研究費より負担する。 ただし、高度医療評価制度に採択・承認された場合には、プロトコル治療に関わる費用は、承認された内容に従って保険療養と評価療養の併用により実施されるものとする。	
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	
<p>角膜再生を目的とした上皮シート移植治療法にはいくつか報告されているが、それぞれ特徴があり、一長一短がある。また、口腔粘膜を用いた上皮シート移植治療法についても同様であり、確立した治療法はまだない。(詳細は別紙4「同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況」を参照)</p> <p>本治療法は、羊膜基質を上皮シートの製造に用いることに特徴がある。羊膜は、移植後に拒絶反応が起こりにくいという特徴を持ち、上皮細胞増殖の足場として適していることが知られている。また、眼表面を安定化する効果が認められることから、眼表面疾患に対する治療効果が注目されている。</p> <p>本治療法は、本臨床試験の研究責任医師である木下茂・外園千恵らによって、京都府立医科大学附属病院にて既に多くの臨床研究の実績を積み重ねており(72症例以上)、有効性および安全性がある程度確立しているものである。今回の臨床試験においては、上皮シートの製造及び品質管理工程を治験GMPIにほぼ準拠したレベルで実施し、製造施設から移植施設への搬送を行うことにより、将来的な普及を目指した研究スキームを計画した。</p> <p>以上より、羊膜の使用、治験GMPレベルでの製造・品質管理工程の実施、搬送のスキームという特徴において本研究の新規性が認められる。</p>	
③総括責任者(複数機関における臨床試験実施のため)	
<p>木下 茂 京都府立医科大学 眼科学教室 教授 (京都府立医科大学 研究責任者)</p>	

備考1 各用紙の大きさは、日本工業規格A4とすること。

備考2 本様式中に書ききれない場合は、適宜別紙を使用し、本様式に「別紙〇参照」と記載すること。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

添付書類(添付した書類にチェックを入れること)

- 別紙1 : 研究者の氏名、所属、略歴及び研究業績等
 - 別紙2 : 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況
 - 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 : 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5 : 培養自家口腔粘膜上皮シートの臨床実績
 - 別紙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
 - 別紙7 : 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
 - 別紙8 : 試験実施計画書(重大な事態対応マニュアルを含む)
 - 別紙9 : 研究の流れを示した図やイラストなど
 - 別紙10 : 製品標準書・基準書・指図書・手順書
 - 別紙11 : 製造に係る原材料等の品質保証関係書類
 - 別紙12 : CPC設備バリデーション文書一覧
 - 別紙13 : 倫理委員会関係書類(規定・名簿)
 - 別紙14 : 倫理委員会関係書類(決定通知書・議事録・専門医略歴)
 - 別紙15 : 様式13 共同研究機関の指針への適合について
 - 別紙16 : 臨床試験保険 三井住友海上火災保険(株)見積書
- (多機関臨床試験として、京都府立医科大学分もまとめて先端医療振興財団が契約)

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. 本臨床試験の目的

本臨床試験では、試験参加基準を満たす被験者に対して、自身の口腔粘膜組織から分離して取り出した上皮細胞を、羊膜上で培養することにより、培養自家口腔粘膜上皮シートを作製する。作製した上皮シートを角膜表面が傷ついた眼に移植することにより、視力の改善、上皮欠損の修復、眼表面の癒着の解除ができるかどうかについて、及び移植治療の安全性について調べる。

2. 角膜疾患について

眼の表面にある角膜には、角膜上皮という細胞層が存在し、良好な視力を得るためには、角膜表面が透明な角膜上皮で覆われていることが必要である。しかし、外傷や疾患によって角膜上皮輪部(周辺部)にある幹細胞が損傷を受けると、角膜表面が濁ったり覆われたりして視力が著しく障害されることがあり、このような疾患を“角膜上皮幹細胞疲弊症”と呼ぶ。

本臨床試験では、角膜上皮幹細胞疲弊症のうち、原疾患がスチーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、重症の熱・化学腐食のいずれかであるものを対象とする。スチーブンス・ジョンソン症候群は、突然の高熱で発症して全身の皮膚と粘膜に発疹やびらんを生じる病気であり、ほとんどが薬剤の投与を契機に発症することから重症薬疹のひとつとされる。多くの場合に眼の合併症を伴い、高度の角膜混濁による両眼性の視力障害が生涯続く後遺症となる。眼類天疱瘡は、自己免疫疾患のひとつで、60歳以上の高齢者に発症する。ドライアイ、逆まつ毛といった症状で発症し、次第に眼表面の癒着が進行して、最終的には高度の角膜混濁を生じて失明に至る。熱・化学腐食は、熱あるいは酸・アルカリなどの薬品に曝されることで眼表面が傷害を受けて生ずる疾患である。仕事上の事故で起きることが多く、眼表面が広範囲にただれることにより強い充血を伴って眼が見えなくなる。ひどい場合は角膜の強い混濁が残り、眼表面の癒着を伴って失明に至る。

3. これまでの治療法

一般的な全層(あるいは表層)角膜移植は角膜の中心部を移植する方法であり、角膜と結膜の境界(輪部)にある角膜上皮幹細胞を移植しないため、角膜上皮幹細胞疲弊症には効果がない。角膜上皮幹細胞疲弊症を治療するには上皮移植を行う必要があるが、上皮移植は全層移植に比べて新鮮なドナーを要することからドナー眼が圧倒的に不足し、また全層移植よりも拒絶反応の発生率が高いという問題がある。しかもスチーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、重症の熱・化学腐食等の難治性角結膜疾患は、角膜上皮移植の予後が極めて不良であり、視力改善のために有効な治療法がなかった。また、研究段階の治療法もいくつか報告されているが、いずれも確立された治療法ではない。

4. 難治性角結膜疾患に対する培養自家口腔粘膜上皮シート移植に関する臨床試験

口腔粘膜にある上皮細胞は、培養してシート状にすることで角膜上皮細胞に近い透明性と機能をもつ細胞になると考えられている。これまでに、木下らは世界に先駆けて培養口腔粘膜上皮シート移植を施行し、京都府立医科大学ではすでに 72 症例以上の治療実績があり、安全性および有効性についてある程度の実績が確認されている。こうした臨床研究の結果をもとにして、この培養自家口腔粘膜上皮シート移植の保険医療化を目標に据えて、移植を含めた医療技術体系の確立と、その有効性と安全性を検討することを目的として本臨床研究を行う。

(1) 本治療の概要

本臨床研究では、角膜上皮幹細胞疲弊症の中でも有効な治療方法のない、原疾患がスチーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、重症熱・化学腐食である患者を対象とする。実施方法は、(1)口の中の細胞（口腔粘膜細胞）の採取、(2)培養自家口腔粘膜上皮シートの製造、(3)製造したシートの眼への移植、の大きく3つに分けることができる。

この臨床試験では、これら(1)及び(3)の行為、それらにかかわる検査、診療等を先端医療センター病院および京都府立医科大学附属病院で実施し、(2)については先端医療センターの細胞培養施設（CPC：Cell Processing Center）で実施する。京都府立医大で開発された上皮シート移植を、オープン利用型の臨床研究センターとしての先端医療センター病院においても実施することで、本治療の実用化と普及を促進するとともに、先端医療センターCPCにおいて、治験 GMP にほぼ準拠した上皮シートの製造・品質管理を実施することで、次の高度医療・治験に繋げ、将来的な保険医療化を目指す。

(2) 被験者の適格基準

本臨床試験における被験者の主な適格基準は以下である。詳細については、「試験実施計画書」を参照のこと。

1) 選択規準

下記の選択規準をすべて満たす患者を対象とする

- ① 次の各疾患による難治性角結膜疾患と診断されていること
(スチーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、重症熱・化学腐食)
- ② 自分の眼から組織を採取して移植する治療法が選択できない患者
- ③ 移植目的が視力回復、上皮欠損の改善、眼表面癒着の改善である患者
- ④ 同意取得時の年齢が、年齢 15 歳以上 85 歳未満の患者であり、文書により同意を得た患者（未成年者の場合は、本人と代諾者から同意を得る）

2) 除外規準

下記の除外規準に一つでも当てはまる患者は対象としない

- ① 角膜感染症（細菌・真菌・ウイルスなど）の症状がみられる患者
- ② 眼圧のコントロールが不良な緑内障患者
- ③ 難治性角結膜疾患のうち、次の疾患のいずれかと診断されていること
（瞼球癒着を伴う重症再発翼状片、無虹彩症、薬剤毒性によるステムセル疲弊、瘢痕性類天疱瘡、原因不明のステムセル疲弊症）
- ④ 他の原因による視力障害の関与が強く疑われる患者
- ⑤ B 型肝炎ウイルス、C 型肝炎ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、梅毒感染症、成人 T 細胞白血病のいずれかに感染していると診断された患者
- ⑥ 妊娠中または妊娠の可能性のある患者、または授乳中の患者
- ⑦ 研究責任医師または研究分担医師が本研究の参加に支障があると判断した患者

(3) 口の中の細胞（口腔粘膜細胞）の採取

- 1) 口腔粘膜の採取は、局所麻酔をした後、トレパン（打ち抜き器）を用いて少量（径 5～6 mm、深さ 3～4 mm を 2 箇所）の口腔粘膜組織を 2 か所採取する。傷口は炭酸ガスレーザーにより、また必要に応じて縫うことにより止血する。
- 2) 術後は、被験者の希望および医師の判断により抗生剤の内服投与や消炎鎮痛剤の投与を行う。採取箇所の炎症、ひきつり・痛み等神経症状等の確認、二次感染等の異常所見の確認を行う。縫合した場合は抜糸処置および経過観察を行う。

(4) 培養自家口腔粘膜上皮シートの製造

採取した口腔粘膜組織を先端医療センターCPC に搬送し、口腔粘膜細胞を分離して取り出した後、ヒト羊膜から調製した基質上で、フィーダー細胞（3T3NIH 細胞：マウス由来）やウシ胎児血清などを含む培地を与えて細胞を培養する。羊膜の上で培養すると、細胞はその上で増殖し、およそ 2 週間後に「口腔粘膜上皮シート」ができる。製造した口腔粘膜上皮シートの品質保証をするために、下記の項目を出荷試験として確認する。

- 1) 総細胞数：0.7 x 10⁶ cells/細胞シート以上
- 2) 細胞生存率：75%以上
- 3) 無菌試験、マイコプラズマ否定試験、エンドトキシン試験に適合すること
- 4) 組織の状態
 - ① 外観試験：実体顕微鏡観察（倍率 10 倍）を行い、細胞欠損、異物の混入および変色が認められないかどうかを確認する。
 - ② 確認試験：組織染色を行い、羊膜があり、核のある上皮細胞層が重層化して、最表層に扁平細胞が観察されることを確認する。
 - ③ 免疫抗体染色を行い、上皮細胞にケラチン 3 と 4 が、上皮細胞間に Occludin が存在することを確認する（それぞれ上皮細胞及び上皮細胞が接着していることを示すマーカー）。

(5) 製造したシートの眼への移植

移植手術は、原則として全身麻酔下で行う。まずグレーフェエ刃を用いて角膜表面から濁った組織を取り除き、代わりに口腔粘膜上皮シートを 10-0 ナイロン糸にて 12-16 箇所の端々を縫合（移植）する。その後、移植したシートがきちんとくっつくまで、上皮細胞の脱落を抑えるために治療用のソフトコンタクトレンズを上装着する。この治療用コンタクトレンズは 2-4 週間毎に交換し、最低 3 カ月間は装着が必要である。

5. 臨床試験のスケジュール

はじめに、本臨床試験に参加する前に、医師により患者さんに対して説明・同意文書を用いて口頭で十分に詳しく説明し、本臨床試験の参加について自由意思による同意を文書により取得する。

そして、本臨床試験の対象者としての適格性を判断する検査を行い、適格と判断された場合には本臨床試験に登録し、プロトコル治療を開始する。

移植から約 17 日前に口腔粘膜採取を実施し、移植後は、2, 7, 14 日, 4, 8, 12, 16, 24 週に診察を実施する。

検査実施時期 検査項目	移植前		移植後									
	登録前	口腔粘膜採取	移植当日	2 日	1 週	2 週	4 週	8 週	12 週	16 週	20 週	24 週
診察・問診	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
臨床検査	○						○					
視力検査	○				○	○	○	○	○	○	○	○
眼圧検査	○				○		○		○			○
感染症検査	○											

6. 薬剤投与レジメン

培養口腔粘膜上皮移植は自分の細胞を使った移植（自家移植）であることから、拒絶反応を制御する目的での免疫抑制剤の使用は必要ないが、重症の難治性角結膜疾患、特にスチーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡においては移植手術により著しい炎症がひきおこされ、高度の炎症は上皮障害、眼表面の癒着、結膜侵入などを誘導することがある。そのため、手術直後より眼表面の炎症を十分に抑制することが極めて重要である。

ステロイド単独では眼表面炎症を制御することが困難なことが多いため、免疫抑制剤（シクロスポリン）の全身投与を併用する。特に眼類天疱瘡は慢性、進行性、かつ難治性の

自己免疫疾患であるが、抗がん剤（シクロフォスファミド）によって症状の進行を抑制することができる。また、ほぼ全例が涙液の減少と蒸発によるドライアイを合併しているので、人工涙液の頻回点眼を行う。

以上をふまえて、局所点眼薬および点滴・内服による全身投与を行う。以下に治療における推奨レジメンを示す。

<全身投与>

- 1) 移植当日および術後 2 日にメチルプレドニゾロン（ソル・メドロール®）125 mg の静脈内投与（注射）を行う。
- 2) 翌日から 2 日まで、ベタメタゾン（リンデロン®）2 mg/日点滴を行い、その後に内服 1 mg/日を、2 週間を目安に投与する。その後は、プレドニゾロン 10 mg/日（プレドニン内服®）内服を 4 週まで継続する。炎症所見が強い場合にはプレドニゾロン内服を継続する。

感染予防のために抗菌薬の全身投与を、手術日を含めて 3 日間行う（予防投与であるため、薬疹による疾患であるスチーブンス・ジョンソン症候群においては、必須ではない）。

注）シクロスポリン（ネオーラル®）、シクロフォスファミド（エンドキサン®）の投与は必要に応じて重症例のみに実施する。

<局所投与>

- 1) 移植終了時に、抗菌眼軟膏を点入する。
0.1%ベタメタゾン点眼（リンデロン®など；リンデロン A ではないことに注意）4 回/日を移植後 4 週間行う。ただし眼圧上昇時には適宜変更してよい。その後は炎症の状態、涙液ターンオーバー（新陳代謝）の程度によって適宜減量し、0.1%フルオロメトロン点眼 2-4 回/日に移行する。
- 2) 感染予防のために、移植翌日より 24 週までガチフロキサシン（ガチフロ®）の点眼を行う。
- 3) 涙液分泌減少症の患者では、涙液補充のために防腐剤を含まない人工涙液またはヒアルロン製剤を頻回点眼する。
- 4) 状況によっては抗菌眼軟膏を使用する。
*2 剤以上を点眼使用する際には、点眼間隔を 5 分以上あける。

7. 併用禁止薬・併用禁止療法

以下の薬剤や治療は本臨床試験の評価に影響を及ぼす可能性があるため、試験期間中は使用や実施を禁止する。

- 1) スチーブンス・ジョンソン症候群において、発症の誘因となったと考えられる薬
- 2) 非ステロイド系抗炎症点眼薬
- 3) 悪性腫瘍治療目的の抗がん剤

- 4) 抗緑内障薬のうち上皮毒性の強い以下の点眼薬：マレイン酸チモロール（0.25 ないし 0.5%チモプトール®点眼液）、塩酸ベタキソロール（0.5%ベトプティック®）、イソプロピルウノストロン（レスキュラ®）
- 5) 防腐剤を含む人工涙液
- 6) 硝子体内投与等、移植眼に侵襲的に投与される薬剤全般
ただし、プロトコル治療期間に、新規の発がんが確認された場合には、この時点でプロトコル治療を中止し、後治療に移行する。

8. 併用制限薬

- 1) 上記以外の抗緑内障薬
- 2) バンコマイシン眼軟膏

9. 有効性及び安全性評価

(1) 有効性評価

1) 主要評価項目

- ① 移植前から移植後 24 週の遠見（5 m）視力の変化
- ② 移植前から移植後 24 週の上皮異常総合スコア（上皮欠損、結膜侵入、血管侵入のスコア値の和）の変化
- ③ 移植前から移植後 24 週の結膜囊癒着スコア(上下の和)の変化

移植は視力改善、上皮欠損の修復、眼表面癒着の解除のいずれかを目的としており、それぞれの目的に対応して視力の変化、上皮異常総合スコアの変化、結膜囊癒着のスコアを主な評価項目とする。

2) 副次評価項目

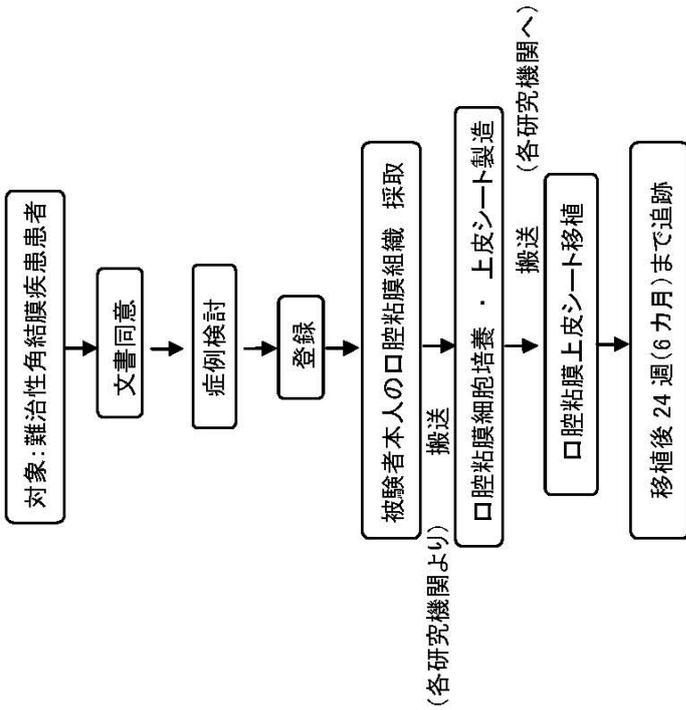
他覚所見：結膜所見、角膜所見、涙液所見により評価する。

（癒着や細胞の欠損、結膜侵入、血管侵入、角膜混濁、涙液検査など）

(2) 安全性評価

臨床試験期間内に発現した有害事象の発現頻度と重症度を評価する。

研究の流れを示した図やイラストなど
＜シエーマ＞



対象疾患 角膜上皮幹細胞疲弊症
(スチーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、重症熱・化学腐食)

症例数 30 例
 視力回復目標群 18 例(各疾患群 6 例)
 上皮修復目標群 6 例(疾患を問わず 6 例)
 癒着解除目標群 6 例(疾患を問わず 6 例)

治療及び観察期間 移植終了後 24 週(6ヶ月)

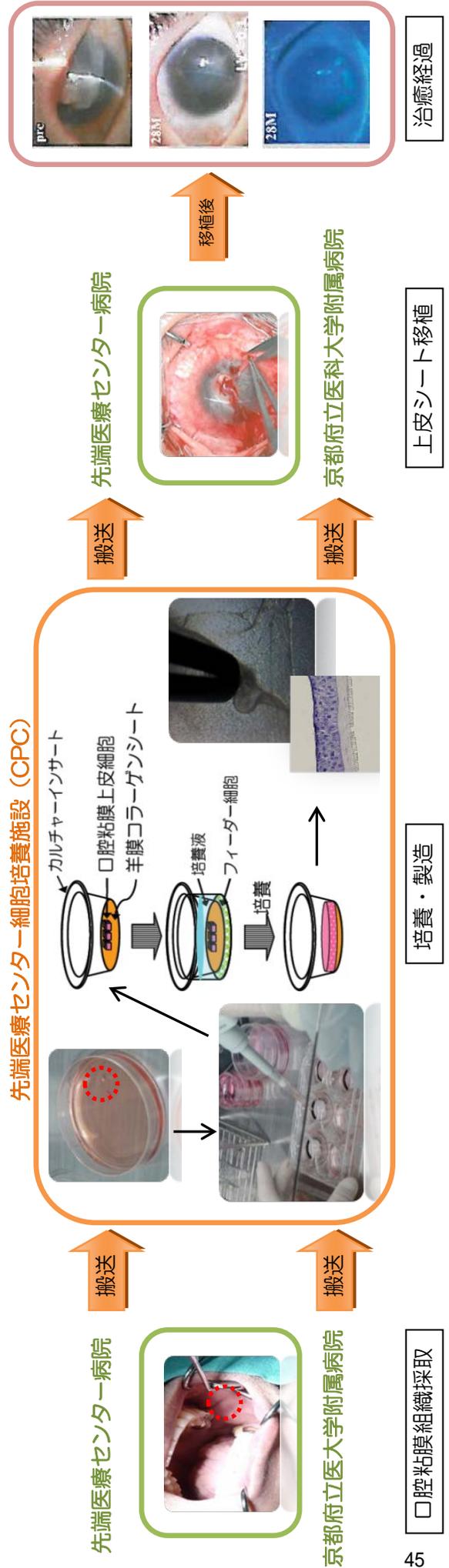
主要エンドポイント

①有効性

- 1) 移植前から移植後 24 週の遠見(5m)視力の変化
- 2) 移植前から移植後 24 週の上皮異常総合スコア(眼科所見 A におけるスコアのうち、上皮欠損、結膜侵入、血管侵入のスコアの和)の変化
- 3) 移植前から移植後 24 週の眼科所見 A における結膜囊癒着スコア(上下の和)の変化

②安全性

移植後から移植後 24 週までのあらゆる有害事象の発現頻度と重症度



口腔粘膜組織採取

培養・製造

上皮シート移植

治療経過