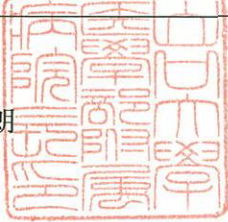


ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成 24 年 1 月 26 日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	〒755-8505 山口県宇部市南小串一丁目1番1号
	名称	国立大学法人 山口大学医学部附属病院
	研究機関の長 役職名・氏名	病院長 岡 正朗 

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
低酸素プレコンディショニングによる 単核球の機能増強と血管再生療法への 応用に関する臨床研究 (第 I 相試験)	山口大学大学院医学系研究科 器官病態外科学 (第一外科) 教授 濱野公一

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	低酸素プレコンディショニングによる単核球の機能増強と血管再生療法への応用に関する臨床研究 (第 I 相試験)
申請年月日	平成 24 年 1 月 26 日
実施施設及び 研究責任者	実施施設：山口大学医学部附属病院 岡 正朗
対象疾患	末梢動脈閉塞性疾患
ヒト幹細胞の種類	機能増強された自己末梢血単核球
実施期間及び 対象症例数	登録期間：許可を得てから平成 26 年 3 月 31 日 観察期間：平成 27 年 3 月 31 日まで、 7 症例
治療研究の概要	6 ヶ月間の観察期間で治療の安全性を評価することが目的。血液成分分離装置を用いて被験者の末梢血単核球を採取する。採取した末梢血単核球に低酸素プレコンディショニング (2% O ₂ 、24 時間) を行い、取り出した細胞を血流の悪い下肢へ筋肉内注射にて移植します。
その他 (外国での状況等)	幹細胞移植による虚血下肢血管再生療法の有用性は、無作為ランダム化臨床比較試験 (2002 年、Lancet) 等において既にある程度、認められている。低酸素プレコンディショニング後の幹細胞は様々な細胞機能が増強されていることが示されており、マウスやラットでは下肢虚血改善効果を挙げているが、まだ臨床応用を行った報告はない。
新規性について	用いる細胞に新規性あり。

研究の概略図

治療法の概要

① 対象患者

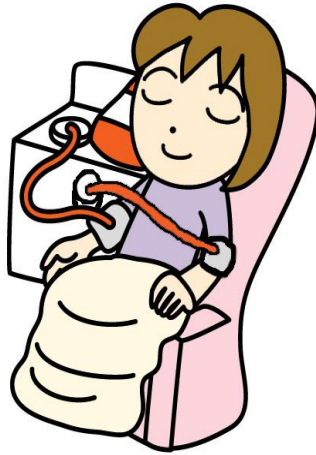
慢性重症虚血下肢疾患を有する患者



虚血により壊死に陥った下肢。

② 単核球採取

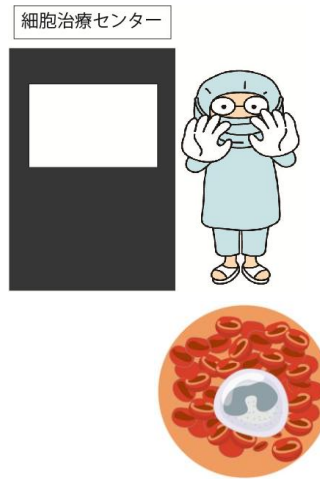
患者の末梢血から単核球を採取する。



成分採血装置で患者の末梢血中の単核球を採取（3～4時間）。

③ 単核球の機能増強

細胞治療センターで幹細胞の機能を増強する。



低酸素培養を 24 時間行う（低酸素プレコンディショニング）。

④ 単核球移植

低酸素プレコンディショニングした単核球を患者の虚血下肢に注入する。

治療前



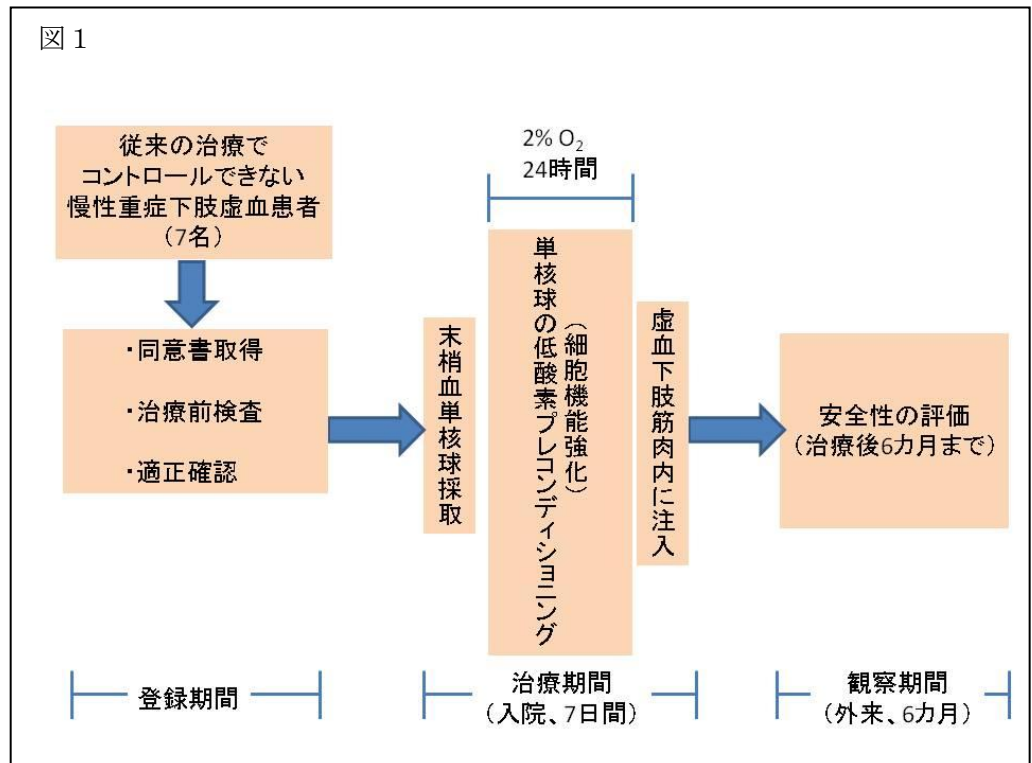
治療後

毛細血管の発達により、血流の改善が期待される。

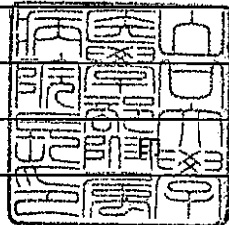

研究計画の概要

【目的】

上記治療の安全性を評価する（図1）。



ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	低酸素プレコンディショニングによる 単核球の機能増強と血管再生療法への応用に関する臨床研究 (第 I 相試験)		
研究機関			
名称	山口大学医学部附属病院		
所在地	〒755-8505 山口県宇部市南小串一丁目1番1号		
電話番号	0836-22-2111		
FAX番号	0836-22-2113		
研究機関の長			
役職	病院長		
氏名	岡 正朗		
			
研究責任者			
所属	山口大学大学院医学系研究科 器官病態外科学(第一外科)		
役職	教授		
氏名	濱野 公一 		
連絡先	Tel/Fax	Tel: 0836-22-2261 /Fax: 0836-22-2423	
	E-mail	kimikazu @ yamaguchi-u.ac.jp	
最終学歴	山口大学大学院医学研究科博士課程修了		
専攻科目	心臓血管外科、再生医療		
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	該当せず		
所在地	該当せず		
電話番号	該当せず		
FAX番号	該当せず		
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	該当せず		
氏名	該当せず		

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の目的・意義

末梢動脈閉塞性疾患(閉塞性動脈硬化症、Buerger病)とは、四肢を灌流する末梢動脈に、何らかの原因で内腔狭窄および閉塞が生じ、患肢に虚血症状が出現する疾患である。

これらの疾患は、軽症のうちは無症状で経過することが多いが、病状が進行するにつれて、患肢の安静時疼痛、潰瘍、壊疽などが出現し、最重症例においては四肢切断などの治療が必要となり、患者のquality of life (QOL)は著しく低下する。治療法には、薬物療法、経皮的血管形成術、バイパス術などがあるが、これら既存の治療法では治療効果が不十分であり、四肢切断を余儀なくされる症例が散見され、新たな治療が待ち望まれている。近年、末梢動脈閉塞性疾患に対する新たな治療法として、幹細胞移植による血管再生療法が注目され、大きな期待が寄せられている。

我々は自己骨髄由来幹細胞を用いた心血管再生治療に関する基礎ならびに臨床研究に長年に渡り携わっており、1999年から難治性虚血性心疾患および虚血肢疾患患者を対象に世界初の血管再生療法の臨床応用を行ってきた。

現在、骨髄幹細胞を含め、様々な自己組織(末梢血、脂肪、心筋など)由来の幹細胞を用いた心血管再生治療は世界中の多くの施設で臨床応用がなされ、本治療による虚血組織の血流増加や臨床症状の改善など本治療の有効性が多く報告されている。これら自己組織由来幹細胞を用いた心血管再生治療法には免疫拒絶や倫理的問題が存在しないため、次世代の難治性重症虚血性疾患患者に対する有用な治療法として大きな期待が寄せられている。

しかし、これまでの臨床研究の結果、骨髄を含めた自己組織由来幹細胞移植による心血管再生治療の治療効果は必ずしも十分とは言えない。その原因の一つとして、加齢、糖尿病、腎不全の併発などによる患者の幹細胞自体の機能低下や虚血組織への移植後の幹細胞の生着率が非常に低い(移植後24時間の生着率<10%)ことが考えられる。心血管再生療法の治療効果を向上させるためにはこれらの問題を解決することが不可欠であり、その方策を探すために我々は基礎研究を重ねてきた。

動物実験において、移植前の幹細胞を低酸素に短時間暴露すること(低酸素プレコンディショニング)により、血管成長因子産生の亢進、酸化ストレス抵抗性の獲得、および細胞接着分子発現の増加などにより細胞機能の向上と生着率の改善が認められ、心血管再生治療の効果が有意に向上することが、明らかとなった。以上の結果に基づき、幹細胞移植による心血管再生治療の効果を向上させる方策として、我々は低酸素プレコンディショニングを行うこととした。

過去の我々の基礎研究の成果から、末梢血より分離した単核球に対する低酸素プレコンディショニング処理を行った後に、虚血下肢筋肉内に単核球を直接注入する細胞療法は、従来の細胞治療と比べ、その治療効果が向上する可能性がある。

本研究の目的は「低酸素プレコンディショニングを行った末梢血単核球を用いた、虚血下肢に

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>対する細胞治療は安全であるか」を検討することである。</p> <p>本研究により、「低酸素プレコンディショニングを行った末梢血単核球を用いた、虚血下肢に対する細胞治療」の安全性が確認されヒトへの臨床応用が進めば、虚血下肢に対する血管再生療法の治療効果の向上の寄与する可能性がある。</p>
臨床研究の対象疾患	
名称	末梢動脈閉塞性疾患(閉塞性動脈硬化症、Buerger病)
選定理由	<p>末梢動脈閉塞性疾患重症例においては、下肢切断が必要となり患者のQOL(生活の質)が著しく阻害される。</p> <p>また、これまでの基礎研究の結果より「低酸素プレコンディショニングを行った末梢血単核球を用いた、虚血下肢に対する細胞治療」十分に臨床応用が可能で、また安全性ならびに有効性も期待できると判断した。</p>
被験者等の選定基準	<p>山口大学医学部附属病院 第一外科で診療を受ける末梢動脈閉塞性疾患(閉塞性動脈硬化症または Buerger病)で、下記条件を満たす患者。性別、基礎疾患は問わない。</p> <p>① 同意取得時において年齢が20歳以上85歳以下の患者。</p> <p>② Fontaine分類Ⅲ～Ⅳ度の症状を有する患者。</p> <p>③ 本疾患に対する推奨療法(禁煙、運動、薬物)に対して抵抗性がある患者。</p> <p>④ 血管内治療およびバイパス術など従来の治療が困難と判断された患者。</p> <p>(詳細は別添の研究計画書を参照のこと)。</p>
臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	末梢血単核球
由来	<input checked="" type="radio"/> 自己 <input type="radio"/> 非自己・株化細胞 <input checked="" type="radio"/> 生体由来 <input type="radio"/> 死体由来
採取、調製、移植又は投与の方法	患者本人の末梢血単核球を成分採血装置で採取する。採取した末梢血単核球を低酸素(2% O ₂)で24時間培養し、細胞機能を増強した低酸素培養後の単核球を精製後に虚血下肢に直接注入する(詳細は別添の研究計画書を参照のこと)。
調製(加工)工程	<input checked="" type="radio"/> 有 <input type="radio"/> 無
非自己由来材料使用	有 <input checked="" type="radio"/> 無 <input type="radio"/> 動物種()
複数機関での実施	有 <input checked="" type="radio"/> 無 <input type="radio"/>
他の医療機関への授与・販売	有 <input checked="" type="radio"/> 無 <input type="radio"/>
安全性についての評価	本研究の中で用いられる手法はすべて、これまでの臨床現場において既に実績を有するものの組み合わせである。すなわち、末梢血単核球採取は末梢血幹細胞移植の際に用いられる

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>ものと同様であり、筋肉内注入による細胞移植は、虚血下肢疾患に対する細胞移植療法の際に用いられるものと同様である。移植に用いる末梢血単核球は、山口大学医学部附属病院細胞処理センター(CPC)において厳密な管理のもとで低酸素プレコンディショニングを行う。</p> <p>細胞処理の工程は、「医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準」を満たすものであり、移植細胞への細菌の混入や汚染などの危険性は極めて低いと考えられる。</p> <p>また、これまでの動物実験において、低酸素プレコンディショニングした細胞からの腫瘍形成は報告されていない。</p>
臨床研究の実施が可能であると判断した理由	<p>同様の細胞を用いたこれまでの動物実験において、本細胞の投与による重篤な合併症や腫瘍形成が認められた報告はなく、臨床においても安全に投与でき、有用性も期待できると考えられる。</p>
臨床研究の実施計画	<p>研究デザイン:単施設、安全性確認試験</p> <p>選択基準を満たし除外基準のいずれにも該当しない患者に対し、研究参加に関する同意書を示して研究について紹介する。その上で患者側からの希望があれば、改めて担当医より詳細な説明を口頭および文書により行う。本研究への参加に同意が得られた患者を対象に本研究への登録を行う。被験者は入院のうえ治療前評価と末梢血幹細胞採取を行う。採取した末梢血単核球をCPCで低酸素プレコンディショニングした後、虚血下肢に注射針とシリンジを用いて直接注入する。以後、定期的に経過を追跡し、本治療の安全性を評価する。</p> <p>(研究計画の詳細は別添の研究計画書を参照のこと。)</p>
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	<p>登録に先立って、担当医は説明同意文書を患者に渡すとともに、研究内容を口頭で詳しく説明する。患者が研究内容をよく理解したことを確認した上で研究への参加意思を確認し、患者本人が同意した場合に同意書に署名を得る。</p>
説明事項	<p>研究の目的、予想される結果、予想される副作用、本研究以外の治療法の有無とその内容、本研究に同意しない場合にも不利益を受けないこと、同意後であってもいつでも同意を撤回できること、個人情報の保護と研究者による病歴閲覧の可能性、質問の自由等について説明する。</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	
研究が必要不可欠である理由	<p>該当せず</p>
代諾者の選定方針	<p>該当せず</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

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>一般診療として必要な対応を可及的速やかに行うとともに、回復するまでの間、定期的な経過観察を行う。重篤な有害事象あるいは予期しない有害事象が生じた場合には、担当医は研究責任者に速やかに連絡する。研究責任者は必要に応じて症例登録の一時停止や研究者への緊急連絡の対応を行うとともに、研究機関の長および倫理委員会に報告する。研究機関の長および倫理委員会は報告内容を審査し、試験中止やプロトコル変更の必要性を検討する。</p>
臨床研究終了後の追跡調査の方法	<p>研究責任者の責任の下、本臨床研究終了から少なくとも1年間は定期的に診察を行い、本治療の安全性及び有効性に係る情報を収集し、カルテに記載するとともに追跡調査のデータとして保管する。</p> <p>臨床研究終了後も有効性・安全性の観点から、治療による効果及び副作用について適当な期間(通常は治療後6カ月間、副作用発生時は、発生前の状態に回復するまで)の追跡調査その他必要な措置を行うように努める。</p>
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	<p>担当医は被験者から研究参加への同意取得後、匿名化番号対応表に必要事項を記入する。研究者が研究データを取り扱う際は、匿名化番号対応表に記載された登録番号に基づいてデータを取り扱い、被験者を特定できる情報(氏名・住所・電話番号など)は取り扱わない。</p>
その他	<p>研究責任者および研究者は個人情報の保護および取り扱いに十分配慮する。</p>
その他必要な事項 (細則を確認してください)	<p>①当該研究に係る研究資金の調達方法</p> <p>文部科学省科学研究費または山口大学大学院医学系研究科 器官病態外科学(第一外科)の委任経理金を用いて実施する。</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>移植前の単核球に対して、前処置(低酸素プレコンディショニング)を行う事により、幹細胞機能の増強を促し、治療効果を向上させるという点。</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)

1)プロトコール関連書類

- 研究計画書
- 臨床研究の概要図
- 研究者一覧
- 研究者の略歴及び研究業績
- 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

2)細胞品質関連資料

- 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
- 製品標準書

3)被験者説明文書等・倫理委員会関連資料

- 説明および同意文書様式
- 倫理委員会議事録

4)CPC関連書類

- 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況
- CPC平面図
- ヒト幹細胞に関する調整保存管理基準書
- ヒト幹細胞に関する衛星管理基準書

5)その他

- その他(資料内容: 幹細胞治療に関する教育訓練の記録)

研究の概要

【臨床研究名】

低酸素プレコンディショニングによる単核球の機能増強と血管再生療法への応用に関する臨床研究
(第 I 相試験)

【研究の背景】

末梢動脈閉塞性疾患とは、四肢を灌流する末梢動脈に何らかの原因で、内腔狭窄および閉塞が生じ、患肢に虚血症状が出現する疾患である。これらの疾患は、軽症のうちは無症状で経過することが多いが、病状が進行するにつれて、患肢の安静時疼痛、潰瘍、壊疽などが出現し、最重症例においては四肢切断などの治療が必要となり、患者の QOL（生活の質）は著しく低下する。末梢動脈閉塞性疾患に対する治療法には、薬物療法、経皮的血管形成術、バイパス術などがあるが、これら既存の治療法では治療効果が不十分であり、四肢切断を余儀なくされる症例が散見され、新たな治療が待ち望まれている。近年、末梢動脈閉塞性疾患に対する新たな治療法として、幹細胞移植による血管再生療法へ大きな期待が寄せられている。しかしながら大きな期待とは裏腹に、幹細胞を用いた血管再生療法の治療効果は非常に限定的であるため、治療効果を向上させるための研究が様々な施設で行われている。

我々は、幹細胞移植による心血管再生治療による効果を向上させる方策として、移植前の幹細胞を低酸素に短時間暴露すること（低酸素プレコンディショニング）を考案した。これまでの研究成果から、低酸素プレコンディショニング後の幹細胞は様々な細胞機能が増強されており、心血管再生治療の効果が有意に向上することが明らかとなった。この低酸素プレコンディショニングが臨床応用されれば、今後の再生医療が大きく発展する可能性がある。しかしながら、ヒトにおいて低酸素プレコンディショニングした細胞を用いて血管再生療法を行った報告は存在せず、臨床応用に向けて、その安全性を評価する必要がある。

【研究の目的】

低酸素プレコンディショニングした自己末梢血単核球を用いた、血管再生療法の安全性を検討すること。

【対象患者】 現行の内科的・外科的治療によっても回復の認められない、難治性の末梢動脈閉塞性疾患患者。

【研究方法】

成分献血装置を用いて被験者の末梢血単核球を採取する。採取した末梢血単核球に低酸素プレコンディショニング（2% O₂、24 時間）を行い、その後虚血下肢に末梢血単核球を直接注入する。治療後 6 カ月の追跡調査を行い、本治療の安全性を確認する。