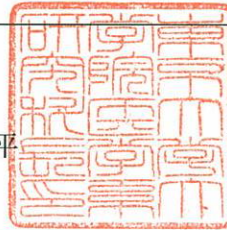


ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成 24 年 2 月 7 日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	東京都文京区本郷 7-3-1
	名称	国立大学法人 東京大学 大学院医学系研究科
	研究機関の長 役職名・氏名	大学院医学系研究科長 宮園 浩平



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
角膜上皮幹細胞疲弊症に対する自己培養口腔粘膜上皮細胞シート移植の臨床研究	東京大学大学院医学系研究科 外科学専攻感覚運動機能医学講座眼科学科 教授 天野史郎

1. ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	角膜上皮幹細胞疲弊症に対する 自己培養口腔粘膜上皮細胞シート移植の臨床試験
申請年月日	平成24年2月7日
実施施設及び 研究責任者	実施施設：東京大学大学院医学系研究科 宮園 浩平
対象疾患	角膜上皮幹細胞疲弊症
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	登録期間：平成23年10月から4年間 観察期間：術後1年間、10症例
治療研究の概要	培養口腔粘膜上皮細胞シート移植の有効性と安全性を検討する。患者の口腔粘膜を採取して、大阪大学未来医療センターへ空輸し、ディスパーゼ・トリプシン処理の後にCPCにて上皮細胞を培養する。フィーダー細胞3T3-J2を用いて培養口腔粘膜上皮細胞シートを作製後、東京大学へ空輸し移植する。一年後に角膜上皮欠損のない面積を測定し有効性を評価する。
その他（外国での状況等）	大阪大学・東北大学は、自施設で温度応答性培養皿を用い口腔粘膜上皮細胞シートを培養し、移植するプロトコルで平成23年1月に大臣意見を受けている。株式会社セルシードは同様に作成した上皮シートに関する治験をフランスで実施し、平成23年6月に欧州医薬品庁に販売承認申請を提出した。他にも羊膜を使用して作成した口腔粘膜上皮細胞シートを用いる臨床研究は、京都府立医科大学・先端医療センターが平成24年2月に大臣意見を発出されている。
新規性について	培養口腔粘膜上皮細胞シートを空輸して移植する。

研究の流れを示した図・イラスト

対象疾患: 角膜上皮幹細胞疲弊症

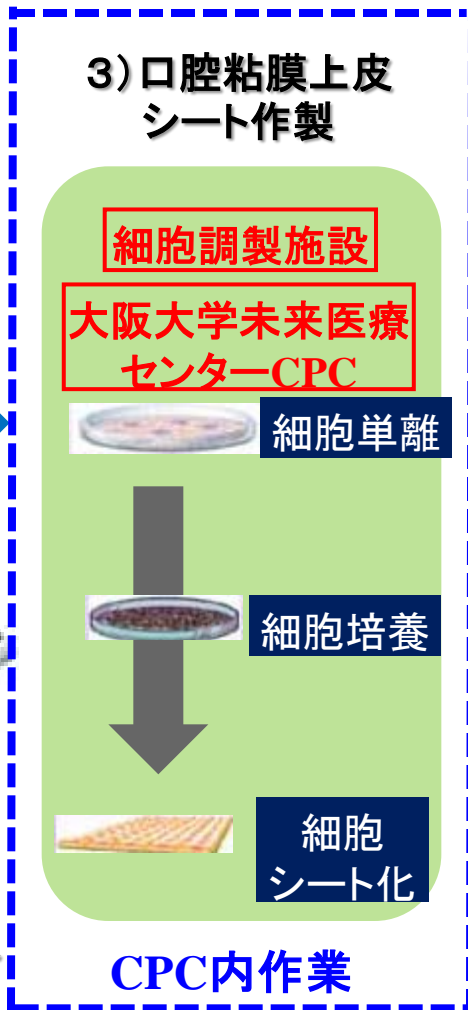
1) 口腔粘膜組織採取と移植準備



2) 口腔粘膜組織の輸送

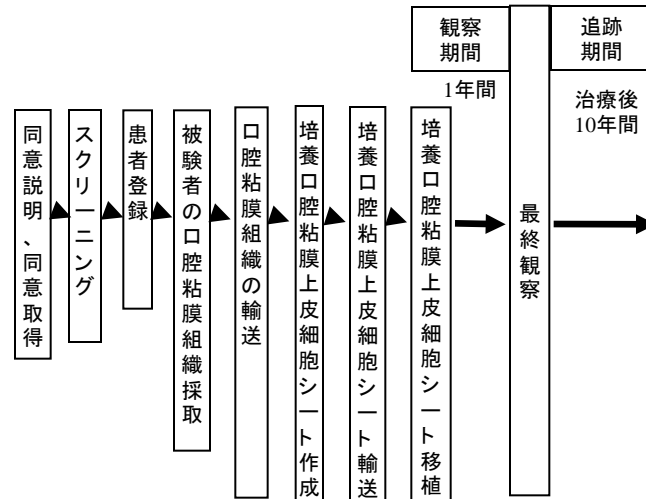


4) 口腔粘膜上皮シート輸送



3) 口腔粘膜上皮シート作製

フローチャート



有効性・安全性の評価:

- (1) スケジュール: 移植手術前、移植手術後2週、1、3、6、12カ月後に観察・検査を実施
- (2) 主要評価項目: 1年後の結膜化がなく、かつ上皮欠損のない面積をグレーディングをもちいて評価する
- (3) 有効性副次的評価項目: 視力(矯正視力: 小数視力により評価)、角膜血管新生、角膜混濁
- (4) 安全性副次的評価項目: 予測される眼合併症の評価、臨床検査値変動を含むすべての有害事象

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	角膜上皮幹細胞疲弊症に対する自己培養口腔粘膜上皮細胞シート移植の臨床研究		
研究機関			
名称	東京大学大学院医学系研究科・医学部		
所在地	〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1		
電話番号	03-3815-5411		
FAX番号	03-3817-0798		
研究機関の長			
役職	大学院医学系研究科長		
氏名	宮園浩平		
			
研究責任者			
所属	東京大学大学院医学系研究科眼科学		
役職	教授		
氏名	天野 史郎 		
連絡先	Tel/Fax	Tel: 03-5800-6415 /Fax: 03-3817-0798	
	E-mail	amanos-tky@umin.ac.jp	
最終学歴	東京大学大学院医学系研究科		
専攻科目	眼科		
その他の研究者	研究者一覧参照		
共同研究機関(該当する場合のみ記載してください)			
名称	大阪大学医学部附属病院		
所在地	〒565-0871 吹田市山田丘2-15		
電話番号	06-6879-5111		
FAX番号	06-6879-5207		
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	病院長		
氏名	福澤 正洋		

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の目的・意義	従来の角膜移植によっては難治であった角膜上皮幹細胞疲弊症に対して、温度応答性培養皿を用いて作製した自己培養口腔粘膜上皮細胞シートをもちいた自己培養細胞シート移植を行い、その有効性及び安全性について検討を行うことを目的とする。本臨床研究によって本治療法の有効性及び安全性がさらに示されれば、高度医療とすることを旨とし、さらに普及させることを旨とする。また本研究においては異なる調製機関において調製した細胞を投与機関において用いる臨床研究としており、本治療法の標準化のために極めて意義が高いと考えられる。
臨床研究の対象疾患	
名称	角膜上皮幹細胞疲弊症
選定理由	角膜上皮幹細胞疲弊症に対しては他家角膜移植以外に治療法がなく、角膜移植を行っても高率に拒絶反応を起こすことから、長期予後が極めて不良であることが知られている。そこで、自家細胞を培養して培養上皮細胞シートを作製し、移植することで、この問題を解決できると考えられる。
被験者等の選定基準	<p>適格基準は</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 全周の角膜上皮幹細胞が消失している患者。 ・ 角膜表面全体が結膜組織で被覆されている患者。 ・ 同意取得時年齢が20歳以上の男女。 ・ 被験者本人の書面による同意書が得られている患者。 <p>除外規準は</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 妊娠あるいは妊娠している可能性のある患者、及び授乳中の患者。 ・ 感染症(HBV、HCV、HIV、HTLV-1)に罹患している患者。 ・ 治療に抵抗するシルマー試験1mm以下の涙液減少症の患者。 ・ 採取部位の口腔粘膜に明らかな癒痕化がある、或いは炎症所見があり採取が不可能な患者 ・ その他、合併症等のため、担当医師が不相当と判断した患者。
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	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	自己口腔粘膜からの口腔粘膜上皮細胞の採取及び培養 フィーダー細胞の培養 培養口腔粘膜上皮細胞シートの作製
調製(加工)行程	有・無
非自己由来材料使用	有・無 動物種(マウス・ウシ)
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	有害事象の有無、種類、重症度、安全度、発現頻度及び発現期間を評価する。重篤な有害事象としては、死亡、死亡につながる恐れのあるもの、有害事象の治療のために入院または入院期間の延長が必要とされるもの、障害、障害につながるおそれのあるもの、上記に準じて重大なもの、後世代における先天性の疾病または異常がある。予期される有害事象としては、角膜角化、結膜充血、瞼球癒着、点状表層角膜症、角膜上皮欠損、結膜化、自覚症状(眼痛、異物感、流涙、羞明)、角膜感染症、眼内炎、腫瘍性増殖がある。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

説明事項	<p>下記の内容について説明し、同意を得る。書面は別紙7を参照。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.はじめに 2.臨床研究とは 3.この臨床研究の目的 4.この臨床研究の方法 5.この臨床研究への予定参加人数と実施機関 6.予想される効果と危険性 7.難治性角結膜疾患に対する他の治療法 8.同意しない場合でも不利益を受けないこと 9.同意した後、いつでも同意を撤回できること 10.あなたに守っていただきたいこと 11.プライバシーの保護について 12.この臨床研究の費用 13.この臨床研究参加の意思に影響を与える情報の伝達 14.研究治療の中止について 15.この臨床研究に関する資料の閲覧 16.研究終了後の試料の再利用に関する事 17.研究結果の取り扱い 18.この臨床研究の資金源、起こりうる利害の衝突などと研究者の関連組織との関わり 19.問い合わせ先 20.研究組織
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	該当しない
代諾者の選定方針	該当しない
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>新規エントリーに係わる中止基準に該当する中止の場合は、医学系研究科長に対し臨床研究の中断の申し出を行い、病院長にも申し出書の写しを提出する。また、効果・安全性評価委員会が報告をもとに審議を行い、本臨床研究の継続が可能かどうかの回答を得るまで新規エントリーを一旦中断する。継続可能との判定を受けた後、臨床研究を再開することができる。継続不可能な場合は、病院長に中止届けを提出し、本臨床研究を中止する。</p> <p>被験者のみの中止基準に該当する中止の場合は、中止時の検査を行いプロトコール治療終了・中止時記録用紙を提出する。また、中止となった被験者に対し、現状の標準的な治療の中で最善な方法で治療を行う。</p>
臨床研究終了後の追跡調査の方法	<p>研究終了後も定期的外来診療により合併症の有無及び有効性について評価を行い、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。臨床研究終了後の追跡調査期間は研究終了後10年間以上とし、定期的な外来受診を促す。</p> <p>なお、臨床研究終了後の定期的外来診療で得られた追跡調査のデータは、解析には含めない。</p>
臨床研究に伴う補償	
補償の有無	<input checked="" type="radio"/> 有 <input type="radio"/> 無
補償が有る場合、その内容	<p>本臨床研究の実施に起因して被験者に何らかの健康被害が発生した場合の補償制度として、保険会社による臨床研究保険へ加入する。本治療と因果関係のある健康被害のうち、医薬品副作用被害救済制度における後遺障害2級以上のものについての治療費用は保険によって支払われる。保険会社による臨床研究保険へ加入し、補償・賠償内容については加入保険の規定に準じる。</p>

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	本治療法は、すでに臨床試験を実施して、良好な成績を取めている。また、培養上皮細胞シートの品質評価法の確立、造腫瘍性が陰性であることの確認をしている。また、本研究で使用する3T3J2細胞は培養表皮細胞ジェイス(J-TEC社)のフィーダー細胞として用いられているものであり、安全性が高いと考えられる。さらに「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」に基づく3T3J2株及び3T3NIH株をフィーダー細胞として利用する上皮系の再生医療への指針に定められた、細菌・真菌・マイコプラズマ・ウイルス否定試験に合格したものであり、感染症伝播の危険性は極めて低いと考えられる。また、使用する血清については3T3J2細胞との相性からウシ血清を使用することとしたが、眼科領域において3T3J2細胞及びウシ血清を用いて培養した角膜上皮細胞の多数(112例)の報告があり、その有効性及び安全性が立証されている。本臨床研究のデザインは、単群、非対照、非ランダム化、非盲検化、有効性・安全性確認のための臨床研究とする。従来の治療法である他家角膜移植の予後が極めて不良である対象疾患に対して、本治療における根治療法が示されれば、ドナー不足および拒絶反応の両方を同時に解決する極めて有力な治療法となるため、この臨床研究の意義は高い。ただし、先行する2つの臨床研究における培養細胞シート作製とは異なり、フィーダー細胞を3T3J2細胞を用い、血清はウシ血清を用いることから、被験者の治療法に対する十分な理解が必要であるため、対象年齢を20歳以上とした。また、口腔粘膜組織及び口腔粘膜上皮細胞シートの安全な輸送技術の開発に成功したため、本研究が可能であると考えた。
臨床研究の実実施計画	移植細胞ソースとなる口腔粘膜移植片は、東京大学医学部附属病院口腔外科外来で局所麻酔下にて、被験者自身の頬粘膜から採取する。 口腔粘膜組織の発送は東京大学の研究者が担当する。組織の輸送には、日立製作所・基礎研究所と共同で開発した航空機による細胞シート輸送が可能な輸送容器を用いて4~10℃の温度で輸送する。滅菌した包装容器によって密閉して細菌などによる生物学的汚染の可能性を排除する。さらに空輸時の気圧の低下に対応するために、この包装容器を気密容器に収納する。培養口腔粘膜上皮細胞シートの作製は大学未来医療センターCPCで大阪大学の研究者が以下の手順で行う。①3T3 / J2細胞を放射線処理し増殖活性を消失させる、②放射線処理した細胞を培養皿に播種する、③デイスパーゼを作用させて、採取した口腔粘膜組織の上皮層を基底膜から剥離する、④トリプシン・EDTA液で上皮細胞層を単一の細胞にし、これらを温度応答性培養皿に播種する、⑤ 培養口腔粘膜上皮細胞シートが作製でき次第(通常2週間程度)、培養上皮細胞シートの輸送を行う。 細胞シートの発送は大阪大学の研究者が担当する。上皮細胞シートはCPCで作成した後、上述した細胞シート専用の輸送容器に入れてパッケージングを行い、32~37℃の温度で輸送する。これを東京大学へ輸送した後、移植手術に使用するまで開けないこととする。細胞シートの東京大学での受け入れ時には細胞輸送容器に破損がないことを確認し、手術室において保管して、移植直前に輸送容器から細胞シートを取り出す。位相差顕微鏡検査による細胞形態の観察および、手術用顕微鏡を用いた目視による観察を行うこととする。また内部のセンサーから温度・圧データを取り、輸送容器の破損を示すような急激な変化がないことを確認する。輸送の責任者は臨床研究責任者とし、搬送の制限時間は12時間以内とする。 細胞シートの移植手術は東京大学医学部附属病院中央手術室にて下記の手順で行う。①局所麻酔あるいは全身麻酔下で行う、②角結膜の癒着性組織を可能な限り除去した後、培養口腔粘膜上皮細胞シートを移植する、③温度応答性培養皿からの培養口腔粘膜上皮細胞シートの剥離は、インキュベーターで低温処理を施した後に行う。 術後は1年目まで、口腔内観察、細隙灯顕微鏡検査、視力検査、血液検査を定められた時点で行う。主要評価項目は、1年後の結膜化がなく、かつ上皮欠損のない面積であり、6段階のグレーディング評価を用いる。副次評価項目は①矯正視力 ②角膜混濁 ③角膜血管新生 ④予測される眼合併症(安全性)情報 ⑤臨床検査値異常変動を含むすべての有害事象(安全性)である。
被験者等に関するインフォームド・コンセント	被検者各人に書面(説明文書)にて説明し、同意書を保管する。
手続	被検者各人に書面(説明文書)にて説明し、同意書を保管する。

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	患者の漢字氏名、カナ氏名を1文字ごとにDESを用いて暗号化を行い、Base64にエンコードする事で、連結可能な匿名化を行う。暗号化された情報を暗号化されたままデータベースに登録し、かつネットワーク上でも暗号化されたまま送受信することで外部への情報遺漏を防止する。
その他	本研究に係わるものは被験者の個人情報の保護に最大限努めるものとする。さらに、本研究に関与した者は原資料の直接閲覧などにより被験者の個人情報に関わる事項を知り得た場合にも、その内容をいかなる第三者に漏洩してはならない。
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>本臨床研究にかかる費用は、研究費あるいは病院からの資金より支出する。</p> <hr/> <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>本治療法はすでに西田幸二らによって臨床研究が行われており、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。この治療法を細胞シートを細胞調製機関と実施機関の間を輸送することで行う点に新規性が認められる。</p>

備考1 各用紙の大きさは、日本工業規格A4とすること。

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

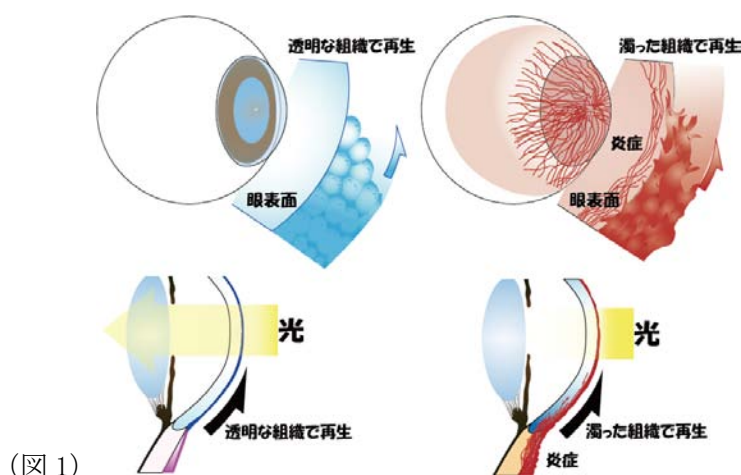
添付書類(添付した書類にチェックを入れること)

- 研究者の略歴及び研究業績 (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9 - 別紙14)
- 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に記載)
- 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況 (実施計画書および別紙4に記載)
- 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)
- 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7)
- その他(資料内容: 別紙2 研究の流れを示した図/イラスト)
- その他(資料内容: 別紙4 試験物概要書)
- その他(資料内容: 別紙5 製品標準書)
- その他(資料内容: 別紙6 原材料(試薬等)の品質保証書類)
- その他(資料内容: 別紙8 倫理審査委員会関連書類)
- その他(資料内容: 別紙15 臨床プロトコール)
- その他(資料内容: 別紙16 SOP)
- その他(資料内容: 別紙17 CRF)

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

<本研究の概要>

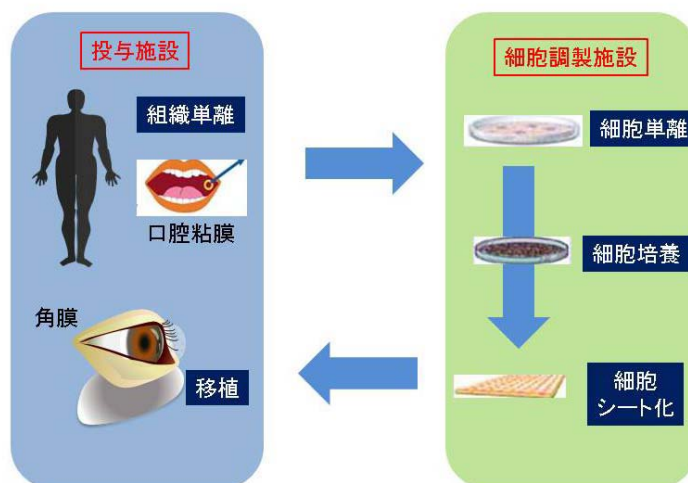
角膜上皮幹細胞疲弊症とは、角膜(黒目)の表面が濁った結膜組織(白目の表面)で覆われてしまい、視力が極端に低下する病気である。眼の外傷や持続する強い炎症などがきっかけとなって、透明な角膜の表面細胞の元となる細胞(幹細胞)が広範囲に傷んでしまい、再生されなくなってしまふ。その結果、周囲の結膜から異常組織が角膜上へ侵入することによって、角膜の透明性が失われ著名な視力低下を来す(図1)。



(図1)

角膜上皮幹細胞疲弊症に対して、患者さん自身の口腔粘膜(口の粘膜)細胞を培養して作った培養細胞シートを用いて治療を行い、良好な成績を収めている。

この治療法をさらに広めるためには、セルプロセッシングセンターと呼ばれる、ヒトの治療のための細胞培養施設で調製した細胞シートを他の施設へ輸送して、治療ができるようにする必要がある。(図2)すなわち投与施設において採取した口腔粘膜組織を細胞調整施設へ送り、細胞を単離して培養し、培養細胞シートを作成する。これを投与機関へ輸送して、患者さんへ投与する治療が考えられる。

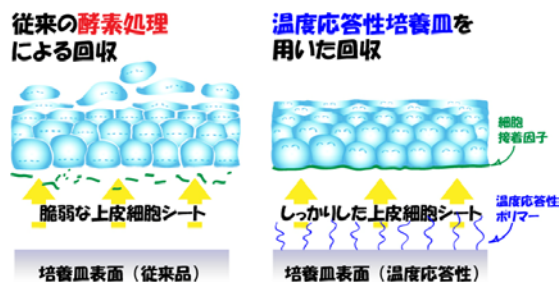


(図2)

＜本研究の背景＞

現在、角膜疾患のための視覚障害者は国内に3万5千人以上いると言われているが、角膜移植自体は本邦で年間約4000~5000件行われている。そして、そのうちの5~10分の1にあたる500~1000件が本邦で年間に本疾患に対して行われている角膜移植術の数である。

上述のように、この角膜上皮幹細胞疲弊症に対しては、従来、亡くなった方から提供を受けた角膜を用いる他家角膜移植以外には治療方法がなかった。当然、他家移植である（本人の組織ではない）ことから、拒絶反応は必発となる。長期予後も良くなく、経過観察中も副腎皮質ステロイド薬や免疫抑制剤などを全身及び局所に投与することも重要である。本疾患に対して、近年、国内外で自己培養細胞移植（自分自身の細胞を利用して組織を作りそれを移植する方法）が注目され、臨床研究が進んでいる。特に眼科領域では、角膜上皮細胞の培養移植だけでなく、両眼性の患者さんに対しては口の粘膜の表面細胞（口腔粘膜上皮細胞）を利用する方法も我々は開発した。しかしながら、培養細胞は培養され育っていく段階でその培養されるお皿の上に強く接着している。その作製した培養組織を手術の際に培養皿から取り出さなければならないが、接着力が強いためにそのまま取り出して移植することは不可能である。その為、予め、下敷きのように運ぶ台（キャリア）を敷いておき、その上に細胞を育て、出来上がったものをキャリアごと目の表面に移植するという方法が主体である。ただ、この方法では、本来存在しないはずのキャリアも一緒に移植されてしまうことと更にはキャリア自体が接着する力を持っていない為に、目の表面に縫い付けたりする必要がある。そこで我々は、細胞をシート状に回収することを可能にした温度応答性培養皿という特殊な培養皿を使用し、口腔粘膜上皮細胞を角膜上皮様に培養し、それをシート状に回収する技術を開発した。図3のように、本来、細胞を接着面から剥がす為には酵素によって接着因子を除去する必要があるが、この方法を用いることによって、培養皿の温度を下げるだけで、自然に細胞を剥がすことが可能で、さらに細胞が接着する為に必要な接着因子を温存することができる為、無縫合で細胞シート移植を行うことが可能になった。



(図3) 接着因子が破壊されてしまう。 接着因子は温存される。

また、前述のように現在までこの治療はセルプロセッシングセンターと呼ばれる、ヒトの細胞専用の細胞培養施設を持っている施設のみで治療を行ってきた。この治療を多くの患者さんに行うためには、セルプロセッシングセンターにて作成した培養細胞シートを輸送して、治療を行えるようにする必要がある。

<本研究の目的・意義>

本研究では、著明な視力低下を来たすような重症度の高い角膜上皮幹細胞疲弊症に対して、温度応答性培養皿で作製した自己口腔粘膜上皮細胞シートを移植することで視力改善に必要な角膜上皮再生を主目的とする。さらに組織および細胞シートの施設間輸送を行うことで、より多くの患者に適応可能な治療法を確立することを目的とする。すなわち本治療法が確立されると、これらの角膜上皮幹細胞疲弊症の視力回復が長期的に得られる可能性があり、失明予防に貢献できるものとする。加えて、米国や日本では既に皮膚領域において培養表皮細胞移植が産業化されている。これらを考え合わせると、将来的には本研究による成果も同様に産業化可能と考えられる。また、多くの難治性角結膜疾患患者の治療が可能になることが期待されることから、本治療法が確立され、標準的な治療法となり得れば、本研究の意義は極めて高いと言える。

<対象疾患・目標症例数>

角膜上皮幹細胞疲弊症：10例

<主要評価項目>

1年後の角膜上皮再生率（結膜化がなく、かつ上皮欠損のない面積）を6段階の Grading 評価を用いて、有効性を評価する。

<副次評価項目>

矯正視力（有効性）、角膜混濁（有効性）、角膜新生血管（有効性）、予測される眼合併症（安全性）、臨床検査値異常変動を含むすべての有害事象（安全性）

<観察検査項目及びスケジュールの概要>

口腔内観察（スクリーニング時、術前（7日以内））：感染や著名な炎症の無いことを確認。細隙灯顕微鏡検査・視力検査（裸眼視力、矯正視力）・血液検査等：観察時期：スクリーニング時、術前（7日以内）、手術2週後（±3日）、1ヶ月後（±1週間）、3ヶ月後（±2週間）、6ヶ月後（±2週間）、1年後（±2週間）、中止・中断する場合は中止・中断時、追加処置する場合は追加処置時にそれぞれ評価を行うものとする。