

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成 24 年 9 月 11 日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	〒160-8582 東京都新宿区信濃町35	
	名称	慶應義塾大学医学部	
	研究機関の長 役職名・氏名	慶應義塾大学医学部長	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。

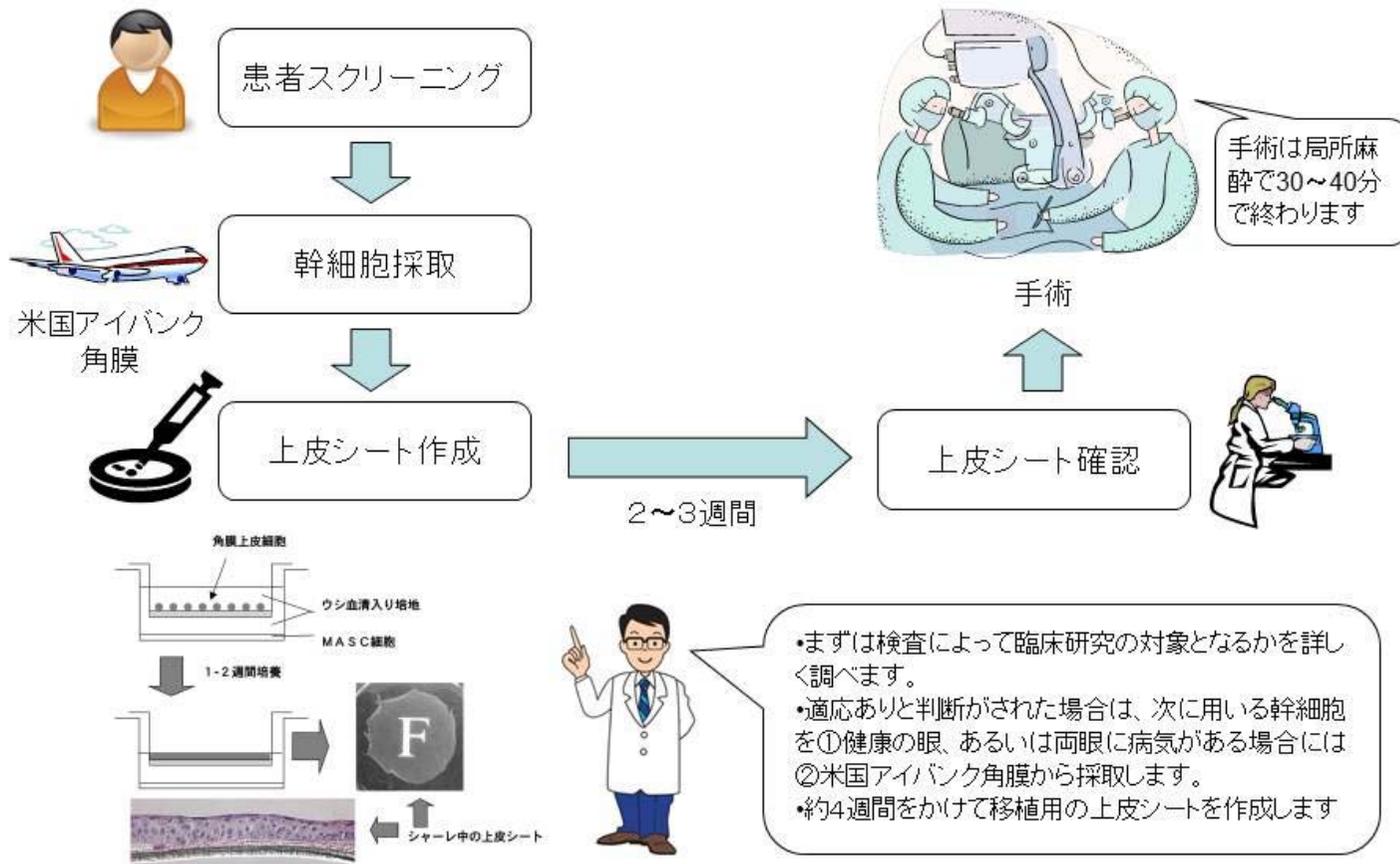
記

ヒト幹細胞臨床研究の課題名	研究責任者の所属・職・氏名
角膜上皮幹細胞不全症に対する培養上皮細胞シート移植	眼科学教室・教授・坪田一男

## ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	角膜上皮幹細胞不全症に対する培養上皮細胞シート移植
申請年月日	平成24年9月 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：坪田 一男
対象疾患	スティーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、角膜化学傷/熱傷、膠様滴状角膜変性症、先天性無虹彩症
ヒト幹細胞の種類	角膜上皮幹細胞
実施期間及び対象症例数	意見発出日から2年間、5症例
治療研究の概要	同種角膜輪部上皮細胞（海外ドナー由来）を採取。同種骨髄間葉系幹細胞をフィーダー細胞として、フィブリンコートウェル上で培養し、シート化したものを移植する。今回はさらに改良培地を用いる。
その他（外国での状況等）	ヒト幹細胞臨床研究として、大阪大学・東北大学にて「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」及び京都府立医科大学・先端医療センターにて「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」が施行されている。
新規性について	本研究は角膜上皮シート移植としては、フィーダーとして異種細胞であるマウス 3T3 細胞を用いない等で新規性が認められていた。

## 角膜上皮幹細胞不全症に対する培養上皮細胞シート移植 -臨床研究の流れ-



## ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	角膜上皮幹細胞不全症に対する培養上皮細胞シート移植		
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3-5		
電話番号	03-3353-1211 (内) 62402		
FAX 番号	03-3358-5962		
研究機関の長			
役職	慶應義塾大学医学部長		
氏名	末松誠		
			
研究責任者			
所属	眼科学教室		
役職	教授		
氏名	坪田一男		
連絡先	Tel/Fax	Tel : 03-3353-1211 (内) 62402 /Fax : 03-3358-5962	
	E-mail	tsubota@z3.keio.jp	
最終学歴	慶應義塾大学医学部		
専攻科目	眼科		
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	該当なし		
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	該当なし		
氏名			

臨床研究の目的・意義	角膜上皮幹細胞不全を伴う重症眼表面疾患において、新規に開発した手法による培養角膜上皮シート移植の治療効果及び安全性を検討する。本研究の意義は、幹細胞不全による失明者の社会復帰を実現するために、従来の培養上皮シートで必要とされていた異種細胞や羊膜を用いない、より安全な再生技術を確立することである。
臨床研究の対象疾患	
名称	スティーブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、角膜化学傷/熱傷、膠様滴状角膜変性症、先天性無虹彩症
選定理由	角膜上皮幹細胞不全に伴う角膜の異常上皮化を認めるため、幹細胞を含まない通常の角膜移植では治療できない。また、角膜実質の障害が少ない症例では、上皮シート移植によって視力の向上が期待できる。
被験者等の選定基準	<p>1. 選択基準</p> <p>次の選択条件をすべて満たす患者を研究被験者として選択する。</p> <p>(1) 次の各疾患による角膜上皮幹細胞不全症と診断されていること。</p> <p>    a) スティーブンス・ジョンソン症候群</p> <p>    b) 眼類天疱瘡</p> <p>    c) 角膜化学傷/熱傷</p> <p>    d) 膠様滴状角膜ジストロフィ (GDLD)</p> <p>    e) Salzmann 角膜変性 (SCD)</p> <p>    f) 先天性無虹彩症</p> <p>(2) 年齢 20 歳以上。</p> <p>(3) 涙液機能がシルマー試験にて 5 ミリ以上残存、かつ眼瞼構造が正常。</p> <p>(4) 患者本人による署名および日付の記載入りの同意文書を得ていること。</p> <p>2. 除外基準</p> <p>次のいずれかの条件に該当する者は除外する。</p> <p>(1) 原因不明の角結膜疾患。</p> <p>(2) 活動性の角膜感染症 (細菌・真菌・ウイルスなど) を有する症例。手術前 4 週間以内に、眼表面から細菌あるいは真菌が検出された症例。</p> <p>(3) 眼圧が亢進している症例。(ただし緑内障治療薬で眼圧がコントロールされている症例は除外基準とはしない。)</p> <p>(4) 血糖コントロール不良な糖尿病症例。</p> <p>(5) 既往に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症例。</p> <p>(6) 研究期間中に内眼手術を受ける予定の症例。</p> <p>(7) 妊婦および妊娠の可能性のある婦人。</p> <p>(8) その他、合併症等のため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	角膜上皮幹細胞

由来	自己・ <input type="checkbox"/> 非自己 <input checked="" type="checkbox"/> ・株化細胞 生体由来・ <input type="checkbox"/> 死体由来 <input checked="" type="checkbox"/>
採取、調製、移植又は投与の方法	海外アイバンクのドナー角膜より角膜輪部上皮細胞を分散後、CPC 内で上皮シートになるまで培養し、瘢痕組織等を除去した眼表面に移植する。 詳細は本計画書の臨床研究の実施計画、製品標準書（別紙 10）、及び標準手順書（別紙 11～23、別紙 26～31）を参照
調製（加工）工程	<input checked="" type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無
非自己由来材料使用	<input checked="" type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無 動物種（ウシ、ヒト、大腸菌）
複数機関での実施	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/>
他の医療機関への授与・販売	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/>
安全性についての評価	培養角膜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。 (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） 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。
臨床研究の実施が可能であると判断した理由	H14 年より東京歯科大学で施行してきた培養上皮シート移植の臨床経験を元に、対象症例を選択することで良好な結果が得られると判断をした。また、異種細胞をフィーダーとして用いなくても、ヒト骨髄幹細胞由来フィーダー細胞を用いても同等以上の質をもつ培養シート作成法も基礎研究にて確認済みである（別紙 5、Omoto, M. et al., Invest Ophthalmol Vis Sci. 2009 May;50(5):2109-15）。くわえて、我々は EGF に替えて ROCK 阻害剤と KGF を添加した培地を用いることで、より良好な角膜上皮シートを得られることを確認している（別紙 6：投稿準備中）

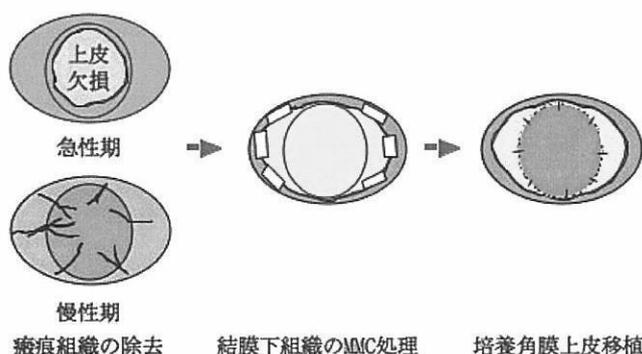
臨床研究の実  
施計画

本臨床研究計画は、2004年から2006年にかけて行われた多施設研究で京都府立医科大学眼科学教室が作成した研究プロトコールに基づくものである。

1 研究実施計画の経緯（背景）

角膜上皮移植術の対象となる疾患は、その目的により二つに大別される。一つは、健全な角膜上皮の供給による視力改善およびocular surfaceの安定を目的として行うもので、これに該当する疾患群はStevens-Johnson症候群（SJS）、眼類天疱瘡（OCP）、化学・熱による角膜腐食（角膜腐食）などの癒痕性角結膜疾患、および膠様滴状角膜ジストロフィ（GDL）、Salzmann角膜炎（SCD）などの上皮変性疾患である。もう一つは、原疾患の治療を目的として行うものであり、蚕食性角膜潰瘍を代表とする周辺部角膜潰瘍（周辺部潰瘍）、角結膜上皮腫瘍（腫瘍）、再発翼状片などである。

角膜上皮移植術には角膜上皮形成術（keratopithelioplasty）、輪部移植（limbal transplantation）、および本研究において実施する培養上皮移植術の3術式があり、それぞれ適する対象疾患が異なる。角膜上皮形成術は、transient amplifying cell（TA cell）および分化細胞を角膜表層実質とともに移植する術式であり、また輪部移植は、角膜上皮幹細胞を含む輪部組織を移植する術式である。一方、培養上皮移植術は、角膜上皮幹細胞を含む角膜上皮細胞を角膜輪部組織より採取し、生体外で培養して上皮シートを作成させた後、これを眼表面に移植する術式である。



（図1） 培養角膜上皮移植術の概要

一般に、急性期の重症眼表面疾患、例えばStevens-Johnson症候群や重症角膜化学外傷などにおいては、全角膜上皮欠損とともに著しい炎症が生じ、しばしば遷延性上皮欠損の状態となる。強い炎症を伴う遷延性上皮欠損は、角膜融解から角膜穿孔、あるいは角膜感染症といった重篤な状態に至りやすく、臨床的に非常に危険であるため、本来は早期の角膜上皮移植による治療が望ましい。しかし従来の角膜上皮移植術である角膜上皮形成術や輪部移植では、角膜全体の上皮化を得るまでに術後1-2週間を要し、また急性期の遷延性上皮欠損に対して施行しても、上皮化が得られない、移植片が生着しにくい、拒絶反応が生じやすいといった問題がある。このためこれらの疾患の急性期は上皮移植術の適応外とされているが、保存的治療のみでは結膜上皮が結合組織を伴って侵入

し、瞼球癒着も進行するため、視力予後は著しく不良となる。

これに対して培養上皮移植術は、従来外科的治療の対象となり得なかった急性期のこれら重症眼表面疾患に対し、新しい外科的アプローチを提供する。具体的に、実際の培養上皮移植術は以下の手順で行われる。(1) まず角膜上を覆う瘢痕、肉芽組織とともに結膜上の異常粘膜組織を除去し、(2) 次に結膜下組織の増殖を抑える目的で MMC 処理を行ない、(3) 最後に培養した角膜上皮シートを移植する。すなわち培養上皮移植術は、遷延性上皮欠損眼に対して幹細胞を含む上皮シートを一期的に患部全体へ供給する術式であり、移植後ごく早期の上皮化と上皮幹細胞の再供給を得ることができる。またこの特徴から、上皮幹細胞が疲弊し上皮細胞の供給が減少している慢性期においても、培養上皮移植術は有効であると考えられる。培養上皮シートの調製方法としては福田恵一(慶応義塾大学医学部教授)らが開発したキャリアーを用いないフィブリンシートを用いる。

福田らは、心筋細胞をフィブリンシート上に培養し、層状にこれを重ねることで心筋組織の作成に成功した。この研究成果を基に、坪田一男(慶応義塾大学医学部眼科教授)、榛村重人(慶応義塾大学医学部眼科准教授)らは、ウサギ輪部角膜上皮を、フィブリンシート上でマウス 3T3 細胞によるフィーダー層と共培養し、さらに air-lift することによって、上皮シートの作成に成功した。この手法による上皮シートは、生体の角膜上皮と同様に重層化しており、輪部上皮をドナーとした場合、免疫組織化学的検討において角膜上皮特異的ケラチン(K3/K12)陽性であった。加えてこれらの上皮シートは、コロニー形成能を有する未分化細胞を含んでいた。さらに、これらの上皮シートを外科的処理あるいは薬剤処理(n-heptanol)による角膜上皮障害モデルウサギに移植したところ、縫合を行うことなく眼表面に生着し、長期にわたって角膜上皮を再構築することができた。これらの結果は、フィブリン上で作成した上皮シートが輪部幹細胞不全の治療に有効であることを強く示唆している。

実地医療にこの術式を応用するにあたり、坪田、榛村らはさらに安全性を考慮し、フィーダー細胞としてマウス 3T3 細胞の代わりにヒト骨髄間葉系幹細胞(MASC 細胞)を用いて上皮細胞シートを作成する技術を確立した。マウス由来の 3T3 細胞をフィーダー層として用いた培養上皮移植はすでにヒト角膜に対して行われているが、3T3 細胞由来と考えられる異種感染症発生の報告は全くないため、培養時の異種細胞併用に起因する感染症のリスクは一般に低いものと考えられる。しかし、ヒト由来 MASC 細胞を用いることで、研究被験者がマウス細胞由来の未知の感染症にさらされるリスクは完全に排除することができる。今回、米国において安全性が保証されているヒト MASC 細胞の使用が可能となったため(GMP 対応細胞:別紙 25 参照)、本研究では MASC 細胞をフィーダーとして用いる。さらに、上皮細胞シート作成時に用いるウシ胎児血清については、狂牛病の発症していない地域(オーストラリア、ニュージーランド)産の血清を用いることでプリオン感染リスクを極力抑える。

また申請者が前回申請したヒト幹細胞臨床研究と、今回の申請との相違点は、培地に EGF に替えて KGF と ROCK 阻害剤 Y-27632 を添加する点である(別紙 5 および別紙

7 参照)。

## 2 本研究において実施する試験治療の内容

- (1) 同種（ドナー）角膜輪部からの上皮幹細胞採取
- (2) 培養角膜上皮シート作成
- (3) 角膜上皮シート移植術

## 3 研究方法

### 3.1 研究デザイン

単群無対照オープン試験

### 3.2 登録の手順

#### 3.2.1 研究被験者の適格性確認

登録に先立って、試験実施担当医師は研究被験者候補について選択基準・除外基準の各項目を確認し、適格性を文書に記録する。

#### 3.2.2 研究被験者の登録

同意を得た適格者の組み入れは、個人管理責任者の指導のもとにコーディネーターが行う。

### 3.3 試験治療の実施

#### 3.3.1 上皮細胞の採取

同種（ドナー）輪部上皮細胞を採取し、培養用試料とする。なお、手術時期と幹細胞の鮮度を考慮して、一人のドナーから患者一人分の上皮シートを作成する。

#### 3.3.2 培養上皮細胞シートの作成

作業手順書（別紙 10～23, 26～32）に従って無菌的に組織を酵素処理し、上皮細胞を分散、ヒト由来フィーダー細胞と共培養を行う。共培養時に上皮細胞はフィーダー細胞とは接触せず、液性因子のみで相互作用する。なお、作業は GMP 準拠の細胞培養施設 (Cell Processing Center) である慶應義塾大学医学部 Keio Vector Processing Center (慶應義塾大学信濃町キャンパス総合医科学研究棟 9 階) において実施。移植に用いる上皮シートの品質保証試験項目は下記の項目を確認する。なお、項目 3、4、5 については同一ロットの上皮シートを用いて破壊的に検査する。

1. 上皮の integrity (欠損がないか)
2. 上皮細胞密度 (基準値以上の細胞密度があるか)
3. 上皮の重層の有無
4. ケラチン 12、ケラチン 15 の発現の有無
5. 生細胞率

#### 3.3.3 角膜上皮移植術

培養上皮シート移植術は慶應義塾大学病院中央手術部内手術室において実施する。本研究において、培養角膜シート移植術と中央表層角膜移植術との同時手術は認める。これは表層移植が術中の状態により全層移植に変更される場合を含むものとする。なお表層・全層角膜移植術を実施した場合、その理由と実施内容を症例報告書に記載する。

角膜上に侵入している瘢痕組織を角膜輪部より 2～3 ミリ外側にて切開し、患者角膜上を覆う病的角結膜をグレーフェ刃（ビーバーNo.52）等を用いて輪部部分も含めて完全除去して、健全な角膜と強膜を露出する。さらに全周の周辺結膜下を剥離したのち、テノン嚢を除去する。次に、周辺部の結膜下組織の増殖抑制を目的としてマイトマイシンC（MMC）処理を行う。具体的には 0.04%MMC を滲み込ませたマイクロスポンジを全周の結膜下に 5 分間留置し、ついで生理食塩水 300cc にて術野の洗浄を行う。この後、角膜表面に培養角膜上皮シートを密着させる。上皮シート周辺部は結膜にて被覆し、結膜を 8-0 シルク縫合糸にて固定する。術後には、上皮細胞の脱落を抑制するために治療用コンタクトレンズを装用する。

培養角膜上皮シート移植術の方法（手術時間、麻酔方法、術式、移植部位、縫合の方法、粘弾性物質の種類と使用量）、培養角膜シートの状態（ドナーの年齢、性別、全身既往および死因、死亡から眼球摘出までの時間、移植角膜片の保存方法）、術中合併症の有無を症例報告書に記載する。

### 3.4 併用治療

#### 3.4.1 併用療法

移植後の標準補助療法として、下記に定める拒絶反応予防、感染症予防および治療用コンタクトレンズ装用を行う。術後 12 週後までは原則として下記の内容を全て実施するものとし、変更を要する特別な事情が生じた場合のみ、その理由を症例報告書に記載した上で変更を認める。術後 13 週以降は、各症例の状況に応じて補助療法の変更は自由とするが、変更理由を明確に症例報告書に記載する。施行した補助療法の内容は全て症例報告書に記載する。

##### 3.4.1.1 拒絶反応予防

拒絶反応の予防を目的として副腎皮質ステロイド剤と免疫抑制剤を局所および全身に投与する。

具体的には、術後 1 日よりベタメサゾン（リンデロン®）2mg 点滴を 3 日間、続いて内服 1mg を 4 週間を目安に投与する。また術当日および術後 2 日にメチルプレドニゾン（ソルメドロール®）125mg の静脈内投与を行う。眼局所には 0.1%ベタメサゾン点眼あるいは 0.1%デキサメサゾン点眼を術後 12 週間行い、その後は適宜、低濃度ステロイド点眼（フルオロメトロン®など）に変更してもよい。

上記に加え、各疾患別の標準拒絶反応予防措置を以下に記す。

##### 1) Stevens-Johnson 症候群、熱・化学腐食、急性炎症を伴う遷延性上皮欠損症例

術後 1 週にメチルプレドニゾン（ソルメドロール®）125mg の静脈内投与を行う。さらに術後 1 日よりシクロスポリン（ネオーラル®）内服を体重 1kg あたり 2～3mg/日

日で行い、血中濃度モニタリングを臨床検査によりトラフレベル（内服前血中濃度）を70～100ng/mlに維持する。

## 2) 眼類天疱瘡

術後1日よりシクロスポリン（ネオーラル®）内服を体重1kgあたり2～3mg/日で行い、トラフレベル（内服前血中濃度）を70～100ng/mlに維持する。さらに術後1日よりシクロホスファミド（エンドキサン®）（50mg）1錠/日内服を行う。

### 3.4.1.2 感染症予防

術後の免疫抑制療法により易感染状態となるため、感染症の発症に注意する。特にStevens-Johnson症候群および眼類天疱瘡は、原疾患が易感染性を生じる上、さらに術後強力な免疫抑制を行うため、感染症を生じやすく、耐性菌の検出に至る症例が少なからずあると予想される。

このため、補助療法として手術翌日より抗菌薬（クラビット点眼®4回/日、ベストロン点眼®4回/日）の点眼を行う。静注または内服による抗菌薬の全身使用については特に規定しない。感染を疑う眼所見を認めた場合は、定められたスケジュール外でも結膜囊培養および治療用コンタクトレンズの培養を随時実施し、起因菌に対し薬剤感受性を考慮した適切な抗菌剤へ変更する。この場合、変更の理由と処方量、使用期間を症例報告書に記載する。

### 3.4.1.3 治療用コンタクトレンズ装用

移植シートからの上皮再生を促しシート上の角膜上皮の脱落を防ぐため、また涙液中の炎症細胞が眼表面に浸潤するのを遮断し拒絶反応を防止するため、治療用ソフトコンタクトレンズ（治療用CL）を手術終了時より装着させる。約2～4週間毎に交換し、最低3ヵ月、可能であれば6ヵ月以上装着させる。ただし移植された上皮の状態を確認するため、術後2日にCLをはずしフルオレセイン染色にて観察する。治療用ソフトコンタクトレンズの種類および装用した期間を症例報告書に記載する。

## 併用療法まとめ

			op	1-2D	3D	1-4W	5-12W	13-24W
Systemic	メチルプレドニゾロン	静注	125mg					
	ベタメタゾン	点滴		2mg				
	ベタメタゾン	内服				1mg		
	プレドニゾロン	内服					10-20mg	
	ミコフェノール酸モフェチ （シクロスポリン）	内服		1000mg				
	（シクロホスファミド）	内服		2-3mg/kg				
Topical	0.1%ベタメタゾン	点眼						
	0.05%シクロスポリン	点眼						
	抗菌薬	点眼						

### 3.4.2 併用禁止薬

- 1) 非ステロイド系抗炎症点眼薬
- 2) 抗がん剤

3) 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®）

4) 防腐剤を含む人工涙液

### 3.4.3 併用可能薬

1) 眼圧上昇時につぎの順に投薬追加を可能とする

- ① 2%ミケラン点眼液を追加する。
- ② それでも眼圧が高値の場合には、炭酸脱水素酵素阻害剤を内服する。
- ③ キサラタン®点眼液を追加する。
- ④ 2%ピロカルピン®点眼液を追加する。

2) 疼痛時、感冒に対する内服薬は主治医の判断で使用可能

## 4 観察・検査・評価項目およびスケジュール

### 4.1 観察・検査・評価項目

#### 4.1.1 研究被験者背景

性別、生年月日、診断名、現病歴、合併症、既往歴、薬物アレルギーの有無、併用薬、妊娠の有無

#### 4.1.2 自覚症状

	症 状	スコア
対 象 眼	異物感・痛み	0. なし 1. 軽度 2. 中程度 3. 重度
	乾燥感	0. なし 1. 軽度 2. 中程度 3. 重度
	眩しさ	0. なし 1. 軽度 2. 中程度 3. 重度
	目の疲れ	0. なし 1. 軽度 2. 中程度 3. 重度

#### 手術による日常生活の改善

生活状態術前との比較	
室外行動(単独外出)	0. 著しく改善 1. 改善 2. 不変 3. 悪化 4. 著しく悪化
家事・入浴・着替え	0. 著しく改善 1. 改善 2. 不変 3. 悪化 4. 著しく悪化
視力を要する娯楽(読書など)	0. 著しく改善 1. 改善 2. 不変 3. 悪化 4. 著しく悪化
人の姿や顔の判別	0. 著しく改善 1. 改善 2. 不変 3. 悪化 4. 著しく悪化

#### 4.1.3 他覚的所見

1) 基本検査 A、B

① 基本検査 A

術前1週以内、術後1週、2週、4週、8週、12週、16週、20週、24週に視力検査を実施する。

視力検査： 5メートル視力（裸眼、矯正、ピンホール）を測定する。

② 基本検査 B

術前 1 週以内、術後 1 週、4 週、12 週、24 週に視力検査、眼圧検査、眼表面の細菌培養検査を実施する。

視力検査： 近見視力（裸眼、矯正、ピンホール）を測定する。

眼圧測定：非接触型眼圧計を用いて測定し、治療用 CL 装用下の測定でも代用可とする（その場合は、治療用 CL 装用下測定であることを調査票に記録する）。

細菌培養検査：術前には下眼瞼結膜を綿棒で擦過し好気性培養を行う。術後は治療用 CL を培養検査に供する。

2) 眼科所見 A, B, C

眼科所見 A

① 結膜所見

項目	スコア
結膜充血	0. なし 1. 軽度 2. 中等度 3. 重度 9. 検査不能
毛様充血	0. なし 1. 軽度 2. 中等度 3. 重度 9. 検査不能
角化	0. なし 1. あり 9. 検査不能
瞼球癒着	0. なし 1. 結膜囊短縮または Strand 形成 2. 角膜への癒着 1/2 未満 3. 角膜 1/2 以上 9. 検査不能

② 角膜所見

項目	スコア
上皮欠損	0. なし 1. 1/4 未満 2. 1/4 以上 1/2 未満 3. 1/2 以上 9. 検査不能
臨床的結膜進入	0. なし 1. 角膜 1/4 未満 2. 角膜 1/4 以上 1/2 未満 3. 角膜 1/2 以上 9. 検査不能
角膜内血管侵入	0. なし 1. 軽度(周辺のみ) 2. 瞳孔縁にかかる 3. 瞳孔を覆う 9. 検査不能
角膜混濁	0. なし 1. 軽度(瞳孔・水晶体が見える) 2. 中程度(瞳孔見えるが水晶体の詳細不明) 9. 検査不能
角化	0. なしまたは結膜囊のみ 1. 角膜 1/4 未満 2. 角膜 1/4 以上 1/2 未満 3. 角膜 1/2 以上 9. 検査不能
フルオレセイン染色	A( ) D( )

眼科所見 B (異常があればコメントに記入)

項目	スコア
眼瞼所見:睫毛乱性	0. なし 1. 軽度 2. 中等度 3. 重度 9. 検査不能
涙液所見:涙液検査 (シルマーテスト)	mm
涙液所見:涙点閉鎖	0. なし 1. あり(上下の片方) 2. あり(上下の両方) 3. プラグまたは縫合後 9. 検査不能

眼科所見 C

項目	スコア
前房所見	0. 炎症なし 1. 軽度炎症あり 2. 中程度から高度炎症あり 3. 角膜混濁のため観察不可
虹彩所見	0. 異常なし 1. 虹彩前癒着あるいは後癒着あり(半周以下) 2. 虹彩前癒着あるいは後癒着あり(半周をこえる) 3. 角膜混濁のため視野検査不可
白内障	0. なしまたは軽度 1. 中程度軽度 2. 重度 3. 角膜混濁のため観察不可 4. 検査不能
緑内障	0. なしまたは視野狭窄なし 1. 中心視野残存で視野狭窄あり 2. 中心視野欠損 3. 角膜混濁のため視野検査不可
網膜疾患	0. なしまたは視力へ影響乏しい 1. 網膜疾患が視力への影響 50%未満 2. 網膜疾患が視力への影響 50%以上 3. 角膜混濁のため眼底の詳細不明

4.1.4 臨床検査

1) 血液学的検査

赤血球数\*、白血球数\*、ヘモグロビン量\*、ヘマトクリット値\*、血小板数\*、白血球分画\*

2) 血液生化学的検査

血糖\*、総コレステロール\*、中性脂肪、総蛋白、アルブミン、A/G、尿素窒素\*、尿酸\*、クレアチニン\*、総ビリルビン\*、GOT\*、GPT\*、GTP、LDH\*、ALP\*、LAP、CPK、アミラーゼ\*、Na\*、K\*、Cl\*、Mg\*

3) 尿検査

比重、pH、定性(糖\*、蛋白\*、潜血、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン\*)

4.1.5 その他の評価項目

- 1) 抜糸の日時と所見
- 2) 拒絶反応発症時には、所見、日時、どのような処置を行ったかについて記載する。
- 3) 眼圧上昇を生じた場合には、視野検査を行い所見とどのような処置を行ったか、その後の経緯について記載する。
- 4) 細菌あるいは真菌検出時には、どの部位から検出したか、検出時期、どのような処置を行ったかについて記載する。

#### 4.2 実施スケジュール

	移植前	術 2 日	1W	2W	4W	8W	12W	16W	20W	24W
基本検査 A	●		●	●	●	●	●	●	●	●
基本検査 B	●		●		●		●			●
眼科所見 A	●	●	(●)	●	●	●	●	●	●	●
眼科所見 B	●				●					●
眼科所見 C	●		(●)		(●)		(●)			●
自覚症状	●		●		●		●			●
生活の改善	●				●		●			●
臨床検査	●				●	(●)	●	(●)	(●)	●
薬剤使用状況	●	●	(●)	●	●	●	●	●	●	●
CL 使用状況		●	(●)	●	●	●	●	●	●	●
前眼部写真	●	●	(●)	●	●	●	●	●	●	●
培養	●				●		●			●

### 5 評価内容および方法

#### 5.1 主要評価項目および評価指標

主要評価項目： 視力の回復の判定を有効性の主要評価項目とし、視力の術前、臨床研究終了時の差を記録。有効性については、以上の主要な解析の他に、眼科的検査 A および B の各項目、および自覚症状の集計・解析を行う。安全性については、副作用、合併症、臨床検査値の異常変動などによって評価する。

主たる評価指標： 視力

副次的評価指標： 眼科的検査 A および B の各項目、および自覚症状

#### 5.2 副次評価項目

前眼部写真による角膜の透明性、角膜上皮表現系の維持。

#### 5.3 安全性の評価

培養角膜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。

- (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）

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。

## 6 試験の安全性確保

### 6.1 試験治療の安全性を確保するための事項

#### 6.1.1 上皮幹細胞

ドナー由来上皮細胞はアメリカアイバンク協会(EBAA)の安全基準に準拠した、感染症検査陰性（HBV, HCV, HIV）細胞のみを用いる（別紙 16）。

#### 6.1.2 上皮細胞シート作成に用いる培養用血清

BSE 非発症国産ウシ血清を用いる。また、出荷時はウシ血清非添加培地で洗浄、包装される（別紙 18）。なお、出荷時の残存ウシ血清量は ELISA 法によって測定、記録される。

#### 6.1.3 上皮細胞シート作成に用いるフィーダー細胞

GMP 対応した米国製の同種骨髄間葉系幹細胞（MASC 細胞、SanBio 社製）、別紙 8、9 参照）を用いる。

#### 6.1.4 上皮細胞シート作成中の安全性試験

培養開始時のドナー保存液、培養 1 週目の培養上清、出荷時の培養上清に対して、好気性菌、嫌気性菌、真菌の培養検査、エンドトキシン検査、PCR 法によるマイコプラズマ、HCV, HBV, HIV, 及びヒトパルボウイルス B19 検査、および WB 法による HTLV 検査を行う（別紙 19）。陽性（エンドトキシンの場合は 25EU/mL 以上）の場合は移植を中止する。

#### 6.1.5 作業時の無菌区画内における浮遊菌、付着菌モニター

作業の無菌性を確認するため、無菌区画内での浮遊菌、付着菌数が測定される（別紙 2 1）。無菌区画である安全キャビネットでの作業中に安全キャビネット内の浮遊菌が測定され、安全キャビネットでの作業終了後に作業者手指への付着菌が測定される。

### 6.2 研究被験者の安全性を確保するための事項

実施担当医師等は、研究被験者の試験参加中、必要かつ適切な観察・検査を行い、研究被験者の安全性確保に留意する。有害事象の発現に際しては、必要に応じて適切な処置を施し、研究被験者の安全性確保に留意しつつ、その原因究明に努める。試験実施計画書を遵守できない場合は本試験治療を終了するが、原則として可能な限り原因の追跡調査を実施する。

### 6.3 研究実施計画書からの逸脱

#### 6.3.1 緊急の事情による逸脱

試験責任医師および分担医師は、研究被験者の緊急の危険を回避するため、またはその他の医療上やむを得ない理由により研究実施計画書に従わなかった場合には、全てその事実を記録し、その旨およびその理由を記載した文書を直ちに倫理審査委員会および実施医療機関の長に提出する。

#### 6.3.2 その他の事情による逸脱

試験責任医師および分担医師は、試験責任医師が事前に倫理審査委員会の審査に基づく文書による承認を得ることなく、研究実施計画書からの逸脱又は変更を行わない。但し、試験の事務的事項のみに関する変更である場合は、この限りではない。

### 7 試験治療の中止基準とその手順

#### 7.1 試験治療中止の基準

以下の場合には試験治療を中止し、可能な範囲で必要な観察・検査・評価を実施した上、症例報告書に中止の事実とその理由、経過説明を記載して終了とする。

- (1) 上皮細胞シート作成用の十分な上皮細胞が入手できない場合。
- (2) 何らかの理由により、移植に適切と考えられる上皮細胞シートが作成できない場合。
- (3) 副作用、合併症が発現し、研究継続が困難と判断した場合
- (4) 重度の拒絶反応が発現し、研究継続が困難と判断した場合
- (5) 研究被験者が協力の中止を希望した場合。

#### 7.2 試験治療中止の手順

##### 7.2.1 個々の研究被験者に対する試験治療の中止

###### 7.2.1.1 試験治療の中止手順

臨床研究を中止した場合には、中止した時点で原則として終了時に予定されている検査を行い、この時点で可能な限りの評価を行う。また、中止時期、中止理由を症例報告書に記入する。なお、重篤な副作用が発現した場合、臨床研究担当医師は当該施設の病院長、倫理審査委員会、臨床研究の総括医師に報告する。

###### 7.2.1.2 試験治療中止に至った研究被験者へのフォローアップ

研究協力の中止を希望した研究被験者、有害事象の発生が疑われた研究被験者、その他何らかの理由により試験治療を中止した研究被験者に対しては、研究実施計画に定めた治療・検査・評価を行わず、医学的状況に応じて通常の適切な診療を行う。

###### 7.2.2 研究計画全体における試験治療中止の手順

海外を含め、本研究実施計画に関連して内容の妥当性が否定された場合、妥当性に強い疑問が生じた場合、予期せぬ有害事象が認められた場合など、試験の実施が医学的または倫理的に不可能と判断された場合、研究実施責任者は速やかに適切な医学専門家と協議し、試験中止の事実およびその理由を実施医療機関の長、試験責任医師および分担医師に文書で報告する。

また試験責任医師、試験分担医師または実施医療機関が本研究実施計画書に定めた事

	<p>項に違反することにより、適正な研究実施が担保され得ない状況を生じた場合、倫理審査委員会は本研究の中止を決定し、研究被験者へ通知するとともにその健康被害を最小限とするための措置を速やかに講じるものとする。</p> <p>8 統計解析関連事項 本研究では統計学的解析を実施しない。</p> <p>9 試験実施期間 厚生労働大臣からの意見発出から2年間</p>
--	--

被験者等に関するインフォームド・コンセント

<p>手続き</p>	<p>実施責任医師または実施分担医師は、研究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、文書に研究参加への同意を得る。（「説明文書」と「同意文書」の内容は添付資料参照）</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 「同意文書」および「説明文書」の作成 「同意文書」と「説明文書」は、研究実施責任者が作成し、医学部倫理委員会の承認を得る。</li> <li>2. 同意取得の時期と方法 研究被験者の同意を得るにあたり、実施責任医師または実施分担医師は、まず研究被験者に「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、研究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、研究被験者の自由な判断に基づく同意の意思を確認し、これを研究被験者による「同意文書」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。</li> <li>3. 「同意文書」の取得と保管 「同意文書」には、説明を行った実施責任医師または実施分担医師、および研究被験者が、各自日付を記入した上、記名捺印または署名を行い、原本を研究分担医師が、またその写しを個人情報管理者が保管する。同意取得後、研究分担医師は研究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研究被験者に交付し、交付日を記録する。</li> <li>4. 同意取得日の記録 実施責任医師または実施分担医師は、研究被験者からの同意取得日を症例報告書に記入する。</li> <li>5. 同意の再取得 実施責任医師および実施分担医師は、本研究への参加継続について研究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、当該情報を直ちに研究被験者に伝え、</li> </ol>
------------	---

	<p>研究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、実施責任医師および実施分担医師は、研究被験者の意思を再確認した事実、伝えた内容、および研究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>6. 「同意文書」および「説明文書」の改訂          実施責任医師は、「説明文書」および「同意文書」を改訂する必要があると認める情報を得た場合、速やかに当該情報およびそれに基づく適切な「説明文書」および「同意文書」の改訂案を、医学部倫理委員会へ提出し承認を得る。</p> <p>7. 「同意文書」および「説明文書」の改訂に伴う同意の再取得          「説明文書」および「同意文書」に改訂が生じた場合、実施責任医師および実施分担医師は、既に研究に参加している研究被験者に対しても、改訂後の「説明文書」および「同意文書」を用い、再度文書による研究への参加継続に対する同意を取得する。</p>
説明事項	<p>平文で記された説明文書にて下記を説明</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 培養上皮シート移植について              対象となる疾患              合併症とリスク              補償の有無</li> <li>2) 研究協力の任意性と撤回の自由</li> <li>3) 当該研究の目的</li> <li>4) 当該研究の方法</li> <li>5) 研究計画書の開示について</li> <li>6) 個人情報の保護</li> <li>7) 研究結果の公表について</li> <li>8) 研究結果の開示</li> <li>9) 研究から生じる知的財産権の帰属</li> <li>10) 費用負担に関する事項</li> </ol>
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	該当なし
代諾者の選 定理由	該当なし
被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 有害事象             <ol style="list-style-type: none"> <li>1.1 重篤な有害事象の定義</li> </ol>             以下に該当するものを重篤な有害事象と定義する。             <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) 薬物副作用</li> <li>(2) 網膜剥離など、治療を要する眼合併症</li> </ol> </li> </ol>

(3) その他の重大な医学的事象

1.2 一般有害事象の定義

1.1の項目に該当しない有害事象を一般有害事象と定義する。

1.3 有害事象の調査

入院時および外来受診時の診察および問診により有害事象を調査する。

1.4 有害事象の評価および基準

1.4.1 発現日

有害事象が認められた日とする。ただし無症候性の合併症ないし偶発症については、診断が確定した日（診断のための諸検査を実施した日）とする。

1.4.2 重篤度（3分類）

重篤度については次のように分類する。

軽微：

症状が軽く容易に治癒するもの

軽微でない（中等度）：

重篤でなく、軽微でないもの

重篤：

1.1に定義された「重篤な有害事象」に該当する場合

1.4.3 転帰

有害事象の経過については次のように分類する。

回復

症状・所見の消失あるいは回復、検査値の正常化、または投与前値への回復

軽快

症状・所見の程度が1段階以上軽減したもの、あるいは軽度の症状・所見がほぼ消失、ないし検査値が投与前値付近へ回復したもの。

未回復

症状、所見や検査値に変化がない

観察できた期間の最後の日の追跡データが発現時の程度より悪化した場合

不可逆性の先天異常

死亡例で、当該有害事象が直接の死亡原因でない場合で、当該有害事象が未回復のまま死亡した場合

回復したが後遺症あり

症状、所見の一部が回復したが、症状、所見の一部が後遺症として認められた。

死亡

死亡と当該有害事象との間に直接の関連性が認められる場合。

なお、「直接の関連性が認められる」とは、当該有害事象が死亡の原因になった、又は

当該有害事象が明らかに死亡に寄与したことを指す。同一症例でみられた、直接の死亡原因でないと判定（判断、推定）される有害事象の転帰については、「死亡」とはしない。

#### 不明

転院、転居等により、試験薬投与中又は投与終了直後の試験実施計画書に記載されている追跡が不可能となったもの。

#### 1.4.4 転帰日

試験治療実施中または終了後に、回復、軽快、未回復、回復したが後遺症あり、あるいは死亡した日を記載する。また、転帰日が正確に記載できない場合には、転帰の内容を確認・判定した日を記載する。

#### 1.4.5 試験治療との因果関係

試験治療との関連性を下記の4分類で判定する。

##### 明らかに関連あり

時間的に明白な相関関係（投与中止後の経過を含む）があり、かつ下記のいずれかに該当する場合

- ・ 偶然の再実施により、同様の所見を認める場合
- ・ 関連性について確定的な根拠を認める場合。

##### 多分関連あり

時間的に明白な相関関係（中止後の経過も含む）があり、かつ原疾患、合併症、併用薬、併用処置など当該試験治療以外の要因がほぼ除外される場合

##### 関連あるかもしれない

時間的に明白な相関関係（投与中止後の経過も含む）があり、原疾患、合併症、併用薬、併用処置等他の要因も推定されるが、当該試験治療による可能性\*も除外できない場合  
\*：例えば、類似試験を含めて過去に同様の報告があるもの。治療の作用から推定されるもの

##### 関連なし

時間的に相関関係がないと考えられる場合。原疾患、合併症、併用薬及び併用処置など他の要因によると考えられる場合

試験治療との因果関係が（1）、（2）または（3）と判定された有害事象、および評価材料不足の場合、これらを副作用とする。

#### 1.5 有害事象発現時の処置

有害事象の発現に際しては、適切な救急処置を施し、研究被験者の安全確保に留意し、必要に応じ専門医師による診断を受けることにより原因究明に努める。また研究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>1.6 有害事象の報告</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、医学部長、倫理審査委員会へ報告する。また、医学部倫理委員会より厚生労働大臣への報告を行う。</p> <p>1.7 症例報告書への記載</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前項の規定に従って判定して記載する。</p>
臨床研究終了後の追跡調査の方法	定期的に来来で診察を行い、⑩4.1.3 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1年間、本人の同意が得られれば5年間とする。最終調整物に問題が生じた場合は、試験期間中の有害事象として扱う。フィブリン接着剤を用いるため、法令に従い記録は30年間保管する。
臨床研究に伴う補償	
補償の有無	有・ <input checked="" type="checkbox"/> 無
補償が有る場合、その内容	本研究への参加に伴う有害事象発現に対する金銭的な補償は行わないが、明らかな過失についてはこの限りではない。上皮細胞採取や上皮細胞移植術、および術後管理における健康被害については通常診療の一環として対処し、発生した医療費は通常の医療費負担率に準じて研究被験者が負担する。なお実施責任医師および実施分担医師は、本研究への参加によって発生し得る有害事象に対し、実施医療機関における通常診療活動の範囲内において、その回復に最善の協力を行うものとする。
個人情報保護の方法	
連結可能匿名化の方法	登録時に交付する研究被験者識別コードを用いて行う。
その他	<p>研究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研究被験者の特定は、登録時に交付する研究被験者識別コードを用いて行う。</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、研究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「慶應義塾の個人情報保護基本方針」および「慶應義塾大学病院における個人情報について」の規定に従い、研究被験者のプライバシー保護に留意する。</p>
その他必要な事項	<p>① 当該研究に係る研究資金の調達方法</p> <p>本研究の費用・経費は、慶應義塾大学医学部眼科学教室研究費、および厚生労働科学研究</p>

(細則を確認してください)	究費補助金 再生医療実用化研究事業 ヒト幹細胞を用いた臨床研究のエビデンス創出から高度医療制度による実用化を目指した研究 (H22-再生-一般-002) を使用する。
	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
	本研究は角膜上皮シート移植としては、フィーダーとして異種細胞である3T3細胞を用いない点、羊膜を用いない点、ROCK阻害剤およびKGF添加によって上皮シートの質を高めた点で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。

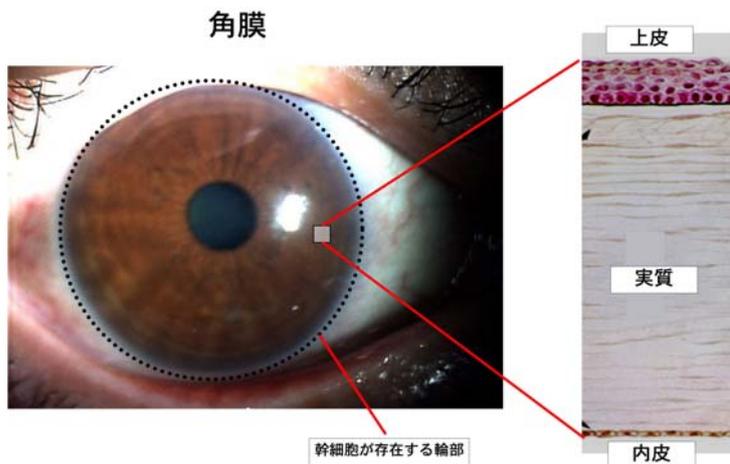
備考2 本様式中に書ききれない場合は、適宜別紙を使用し、本様式に「別紙〇参照」と記載すること。

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 (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32、別紙36)
- 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6~7)
- 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)
- 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8)
- 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2~4)
- その他 (資料内容: 倫理委員会審査結果、内規、および委員名簿 別紙33~35)
- その他 (資料内容: 品質マニュアル 別紙9)
- その他 (資料内容: 角膜上皮シート 製品標準書 別紙10)
- その他 (資料内容: 角膜上皮シート作成 標準手順書 別紙11~23、別紙26~31)
- その他 (資料内容: MASC細胞特性解析データおよびGMP certificate 別紙24~25)

## 平易用語要旨

本臨床研究では、ヒト幹細胞を用いて眼球の最表面を再生することを目的としている。眼球表面は角膜と呼ばれる、厚さが0.5ミリメートルほどの無色透明な組織で構築されており、正面から見たときに「黒目」に相当する。角膜の表面は5、6層の角膜上皮細胞という、透明性を維持する上で欠かせない細胞によって覆われている。角膜上皮細胞は常に眼表面から脱落しており、新しい細胞を供給し続けないと視力低下を来してしまう。新しい角膜上皮細胞を供給するのは、角膜周辺部に存在する角膜上皮幹細胞であり、疾患などによって障害されない限りは一生涯に渡って機能し続ける。しかし、熱傷や疾病などによって幹細胞が全て障害されてしまうと、角膜の表面は混濁した表皮細胞によって覆われてしまう。



角膜上皮の幹細胞が存在する部位は角膜輪部と呼ばれ、角膜全周に渡って幹細胞が存在するとされている。海外ドナー角膜からこの輪部組織を移植することで、幹細胞を移植する技術はすでに10年ほど前より行われている。しかし、角膜全面に上皮が増えるには時間を要し、感染や炎症などのリスクがある。今回の臨床研究では、輪部に存在する角膜上皮幹細胞を予め培養して面積を大きくし、角膜全面を覆うことができる上皮シート移植技術を開発する。従来の輪部移植と比べて、最初から角膜全面が上皮で覆われるため、創傷治癒による炎症や感染が未然に防ぐことが可能となり、より安全であると考えられる。また前回との相違点は、培養法の改良による上皮シート内の幹細胞数の増加とシートの丈夫さの向上である。