

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>patients' mesenchymal stem cells.” (Artif Organs. 2006 Feb;30(2):115-8.)でヒトの良性骨腫瘍切除後の欠損部に培養骨髄間葉系細胞付加工骨を移植し CT 画像上早期の骨癒合が示されていることからこの方法は侵襲が大きく採取量が制限される自家骨移植に代わる有効な骨移植法になりうると考える。</p> <p>一方で本臨床研究を遂行する上で必要な環境は GMP 準拠した当院先端細胞治療センター (CPC) を既に開設しており、手技的な部分は CPC 開設前に当院で行ってきた軟骨再生の臨床研究で培養を委託していた産業技術総合研究所 セルエンジニアリング研究部門 (既に同様の骨再生の臨床応用を行っている施設) の協力を得て研究遂行の準備はできている。</p> <p>以上のことから本臨床研究は実施可能と考える。</p> <p>(文献)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>7. 西川昌孝、名井陽、大串始、池内正子、玉井宣行、吉川秀樹：連通多孔体ハイドロキシアパタイトと骨髄間葉系細胞を用いた骨再生 別冊整形外科 47:7-11, 2005.</li> <li>8. Ito Y, Tanaka N, Fujimoto Y, Yasunaga Y, Ishida O, Agung M, Ochi M : Bone formation using novel interconnected porous calcium hydroxyapatite ceramic hybridized with cultured marrow stromal stem cells derived from Green rat. J Biomed Mater Res A 69(3):454-61, 2004.</li> <li>9. Akahane M, Ohgushi H, Kuriyama S, Akahane T, Takakura Y: Hydroxyapatite ceramics as a carrier of gene-transduced bone marrow cells. J Orthop Sci 7(6):677-82, 2002.</li> <li>10. Yoshikawa T, Ohgushi H, Akahane M, Tamai S, Ichijima K : Analysis of gene expression in osteogenic cultured marrow/hydroxyapatite construct implanted at ectopic sites: a comparison with the osteogenic ability of cancellous bone. J Biomed Mater Res 41(4):568-73, 1998.</li> <li>11. Morishita T, Honoki K, Ohgushi H, Kotobuki N, Matsushima A, Takakura Y: Tissue engineering approach to the treatment of bone tumors: three cases of cultured bone grafts derived from patients' mesenchymal stem cells. Artif Organs 30(2):115-8, 2006.</li> </ol>
臨床研究の実施計画	<p>当施設においては今回対象としている良性骨腫瘍病変に対して病巣搔爬、人工骨充填手術を年間約 10 例 (2006 年度は 11 例) 行っているため対象症例数はこの 1/3 の症例で同意が得られると仮定して年間 3-4 例、3 年間で 10 例を目標にして評価をおこなう。</p>

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

## <実施計画>

- (1) 骨髄血採取
- (2) 幹細胞の培養・調整
- (3) 再生人工骨の移植（手術）
- (4) 術後評価

の各段階に分けて記載する。

- (1) 骨髄血採取  
添付書類（自己骨髄細胞採取マニュアル）参照
- (2) 幹細胞の培養・調整  
添付書類（培養骨製品標準書）参照
- (3) 再生人工骨の移植（手術）  
添付書類（再生骨移植マニュアル）参照

### (4) 術後評価

単純レントゲン、CT 検査、移植部骨密度検査、MRI 検査で骨癒合（骨形成）の状況の評価する。

（評価方法）

- ①CT：横断面で移植部の CT 値／断面積を求め各スライスごとの CT 値総和を体積で割った値を求めて骨形成を評価する。
- ②骨密度（DEXA）：移植部に ROI を設定して骨密度の変化を評価する。
- ③MRI（造影）：骨移植部の血流再開の程度（造影領域）を見ることで骨形成を評価する。

単純レントゲン検査：術後 1・3・6 週、2・3・6・9 ヶ月、1 年で撮影。1 年から 5 年は 6 ヶ月毎、5 年から 10 年は 1 年毎に撮影する。

CT 検査：術後 1・3・6 週、3・6 ヶ月、1 年、以後 1 年毎に 10 年まで撮影する。

骨密度検査（移植部）：術後 3・6 週、3・6 ヶ月、1 年、以後 1 年毎に 10 年まで撮影する。

MRI 検査：術後 3・6 週、3・6 ヶ月、1 年、以後 1 年毎に 10 年まで撮影する。

## <エンドポイント>

- (1) 術後 1 週、3 週、6 週、3 ヶ月、1 年における移植部の骨量
  - ①CT 横断面で移植部の CT 値／断面積を求め各スライスごとの CT 値総和を体積で割った値を求めて骨形成を評価する。

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>②移植部に ROI を設定して局所の骨密度 (DEXA) を評価する。</p> <p>(2) 術後 1 週、3 週、6 週、3 ヶ月、1 年における移植部の血流再開領域</p> <p>①造影 MRI で骨移植部の血流再開の程度 (造影領域) を評価する。</p> <p>&lt;解析方法&gt;</p> <p>(1) 術後 3 週、6 週、3 ヶ月、1 年における移植部の骨量 (CT、DEXA それぞれ) を術後 1 週の値で割り、術後 1 週の骨量に対する変化率を求める。</p> <p>(2) 造影 MRI 画像における血流再開領域の評価は同一スライスで経時的に造影領域を定性的に評価する。</p> <p>&lt;有害事象について&gt;</p> <p>有害事象とは、本臨床研究との因果関係の有無に関わらず期間中に被験者に生じたあらゆる好ましくない、あるいは意図しない徴候、症状、または病氣と定義する。</p> <p>また臨床研究期間中に観察された有害事象のうち、以下のいずれかに相当するものは重篤な有害事象と定義する。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. 死亡にいたるもの</li><li>2. 生命を脅かすもの</li><li>3. 治療のため入院または入院期間の延長が必要なもの</li><li>4. 永続的または顕著な障害／機能不全に陥るもの</li><li>5. 次世代に影響が及ぶと思われるもの</li></ol> <p>逸脱症例について下記の状況が生じた場合と定義する</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. 被験者または代諾者の不参加表明</li><li>2. 有害事象が生じたとき</li><li>3. 培養中の感染等培養過程での事故</li></ol> <p>逸脱症例について、上記 2 の場合には起きた有害事象に対して速やかに適切な治療をおこなう。1、3 (2 の治療後) の場合はインフォームド・コンセントを得て一般的な治療法 (自家骨移植あるいは人工骨移植) で治療を進めるかどうかを確認する。</p>
被験者等に関するインフォームド・コンセント	

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<p>手続</p>	<p>整形外科内での症例検討会にて本研究の適応と診断された場合に別紙の説明文書に基づき術者が患者・家族に対して説明を行い、別紙の同意書を対象患者本人から得た後に手術を施行する。なお、本臨床研究の実施に際してはインフォームド・コンセントを（１）臨床研究への登録時、（２）骨髓血採取時、（３）移植手術前の計３回おこなう。</p>
<p>説明事項 (被験者の受ける利益と不利益を含む。)</p>	<p>別添“ヒト幹細胞臨床研究に関する説明文書”に沿って説明する。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>① 当該臨床研究の目的、意義</li> <li>② 研究の方法</li> <li>③ 当該研究を実施する機関名</li> <li>④ 予期される研究の効果</li> <li>⑤ この研究への参加に伴い予期される危険または不快な状態</li> <li>⑥ 他の治療法の有無、内容、当該治療法により予期される効果及び危険性並びにそれらの治療法との比較</li> <li>⑦ 研究の参加への任意性と同意後に随時同意を撤回できること</li> <li>⑧ 健康被害に対する補償の有無</li> <li>⑨ 個人情報の取り扱い</li> <li>⑩ 研究のための費用</li> <li>⑪ 研究成果の公表</li> <li>⑫ 知的財産権の帰属</li> <li>⑬ 研究者名</li> <li>⑭ 問い合わせ・苦情の連絡先</li> <li>⑮ 13歳～19歳の未成年者のエントリーに際しては、代諾者のインフォームド・コンセントを得る。さらに未成年者本人に理解できる説明書を作成し、未成年者本人のインフォームド・アセントを得る。</li> </ol> <p>(添付書類：インフォームド・アセント（骨）参照)</p>
<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>本研究の対照疾患のうち、内軟骨腫、非骨化性線維腫、単発性骨嚢腫、線維性骨異形性症などの良性骨腫瘍（および腫瘍様病変）においては好発年齢が10歳台である。また骨巨細胞腫は15歳～40歳に発症する。したがって本研究の対象疾患を罹患している患者のほとんどは未成年である。未成年者が本疾患に罹患した場合、病巣の搔爬後に自家骨あるいは人工骨の移植を必要とする。しかし、これらの良性腫瘍の多くは、大腿骨あるいは下腿骨に発生するため、搔爬移植部の強度が健常骨と同程度まで得られるまでは、骨折の危険性があるために健全な学校生活と家庭生活を送ることが出来ない。本研究により、移植骨採取をなくすことは骨盤の発育障害や、採取部の疼痛や感覚障害発生の問題を解決する。また短期間の骨癒合が期待されることから、人格形成あるいは学業習熟に貴重な10歳台の治療期間を安全に短縮することは極めて意義のあることである。</p> <p>本研究は法的に無能力な未成年者を対象とせざるを得ないが、小学生以下の児童においては本臨床研究参画の理解を得ることには無理</p>

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>が有ると判断しエントリー年齢を13歳以上とした。</p>
<p>代諾者の選定方針</p>	<p>20歳未満の被験者には両親あるいは親権者を代諾者とする。その中で13歳以上の被験者に対してはインフォームド・アセントを得る。          (13歳以上の未成年の被験者においては、被験者自身が理解できる言葉や用語で本研究について可能な限り十分な説明をして同意を得て、両親あるいは法的代理人とは別に作成されたアセント文書に被験者本人が署名、年月日を記入する。すべての場合において被験者本人に対しては、試験の参加を拒否する又は試験からいつでも辞退できる権利について、被験者にわかるように説明する。)</p> <p>添付書類：インフォームド・アセント（骨）参照</p>
<p>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>	<p>健康被害等の有害事象が生じた場合、早急かつ適切な治療を行う。状況に対応、対処した後厚生労働大臣に速やかに報告する。</p> <p>また重篤な有害事象が発生した場合の措置としては</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 重篤な有害事象が発現した場合、担当医師はすみやかに研究代表者および医療機関の長に緊急報告する。</li> <li>2. 更に担当医師は〔重篤な有害事象〕に関する詳細報告書を作成し、研究代表者および医療機関の長に提出する（7日以内）。</li> <li>3. この場合、担当医師は臨床研究継続等について倫理委員会の意見に基づき、当該医療機関の長の指示を受ける。また、発現した有害事象については、可能な限り追跡調査を行う。</li> </ol>
<p>臨床研究終了後の追跡調査の方法</p>	<p>被験者に対しては治療効果の評価だけでなく治療による有害事象の有無のチェックを定期的におこなっていく。</p> <p>移植手術後の定期診察についてはレントゲン評価を行う時期に合わせて基本的に術後1・3・6週、2・3・6・9ヶ月・1年。1年から5年は6ヶ月毎、5年から10年は1年毎とする。</p> <p>細胞調整過程の無菌性について、それを保証できない結果が細胞出荷前に得られた場合は、細胞出荷を取りやめて原因究明のために保存する。また移植手術後、最終調整物に問題が生じた場合（引渡し後、無菌試験の結果が陽性と判明した場合）は被験者にその旨を説明し同意に基づいた処理（至適抗生物質投与等による感染症発生の予防あるいは移植部の搔爬等の外科処置）を行う（SOP「B1-08 不適合品管理に関する手順書」中に記載）。</p>
<p>臨床研究に伴う補償</p>	
<p>補償の有無</p>	<p>有 無</p>
<p>補償が有る場合、その内容</p>	<p>この研究に参加したことによって本治療法との関連性が否定できない</p>

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

		い健康被害などの有害事象が発生した場合は医療費等について信州大学医学部附属病院校費による補償を提供する。しかし、この試験に伴う有害事象による休業補償や後遺障害に対する補償、差額ベッド料金の補填、医療手当て、その他の補償はおこなわない。
個人情報保護の方法		
連結可能匿名化の方法		診療に関しては匿名化しない。 培養細胞および保存される細胞については個人情報を削除して新しく符号をつける（SOP「B1-04 ID及びロット構成に関する手順書」参照）。個人情報保護および検体取り違い防止のために、個人とこの符号を結びつける対応表は個人情報管理者のもとで厳重に管理する。 個人情報管理者は山内一由（信州大学医学部附属病院臨床検査部技師長）とし、対応表の管理方法については他のコンピュータと切り離されたコンピュータを使用し、外部記憶媒体に記録させ、その記憶媒体は、鍵をかけて厳重に保管することとする。
その他		試験に関わる関係者は個人情報の取り扱いに十分配慮し、外部に漏れないよう厳重に管理をおこなう（SOP「D1-03 個人情報の保護に関する手順書」参照）。この研究で得られた成果を発表する場合には、研究に参加していただいた方のプライバシーに慎重に配慮し、個人を特定できる情報が公表されることがないようにする。
その他必要な事項		<p><u>&lt;ヒト幹細胞臨床研究にかかる研究資金の調達方法&gt;</u></p> <p>本臨床研究にかかる費用については文部科学省科学研究費補助金・奨学寄附金および病院校費（大学運営資金）から支出される。</p> <p><u>&lt;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&gt;</u></p> <p>培養骨髄間葉系細胞と人工骨を組み合わせで作製した再生培養骨の臨床応用は産業技術総合研究所および奈良県立医科大学において世界に先駆けてその技術が確立され、臨床応用が始まっている。またその流れを汲んで大阪大学で骨腫瘍への臨床応用も行われているので本臨床研究の発想や手技に関して新規性はない。しかし現在までのところでは骨腫瘍治療に関する臨床応用の報告例は少数にすぎず、適応症例自体が少ないという骨腫瘍症例の性格上、多施設での症例の積み重ねが必要である。</p> <p>（他施設の現状）</p> <p>&lt;産業技術総合研究所&gt;</p> <p>骨髄間葉系細胞の培養移植に関する臨床応用を世界に先駆けて開始した施設で、再生培養骨搭載人工関節（主に足）、骨腫瘍掻爬後の欠損部に対する再生培養骨搭載人工骨移植、培養骨髄間葉系細胞移植による軟骨欠損修復（当院との共同研究）、培養骨髄間葉系細胞移植による心筋・血管再生を行って</p>

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>いる（全体で約 60 症例）。</p> <p>&lt;奈良県立医科大学附属病院&gt; 主に再生培養骨搭載人工足関節の臨床応用（産総研で培養した症例も合わせて約 35 例）をおこなっていて、その他骨腫瘍搔爬後の欠損部に対する再生培養骨搭載人工骨移植や大腿骨頭壊死の骨温存手術への臨床応用も少数おこなっている。</p> <p>&lt;大阪大学附属病院等&gt; 主に骨腫瘍搔爬後の骨欠損に対して再生培養骨搭載人工骨移植の臨床研究をおこなっている（現在報告されているものは数例）。</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
- 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況
- 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
- 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
- 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
- その他（資料内容：自己骨髄細胞採取マニュアル）
- その他（資料内容：再生人工骨移植マニュアル）
- その他（資料内容：SOP）
- その他（資料内容：インフォームド・アセント文書「臨床研究の参加にあたって」）

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成19年11月14日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	東京都新宿区信濃町35番 (郵便番号 160-8582)
	名称	慶應義塾大学医学部 03-3353-1211 (電話番号) 03-3353-3034 (FAX 番号)
	研究機関の長 役職名・氏名	慶應義塾大学医学部 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
重症心不全患者への外科的治療に付随して行う、自己骨髄由来間葉系細胞を用いた細胞移植に関する臨床研究	慶應義塾大学医学部外科 (心臓血管)・教授 四津 良平



## ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	重症心不全患者への外科的治療に付随して行う、自己骨髄由来間葉系細胞を用いた細胞移植に関する臨床研究
申請年月日	平成 19 年 11 月 14 日
実施施設及び 総括責任者	実施施設：慶應義塾大学医学部 総括責任者：四津 良平
対象疾患	冠動脈バイパス術及び左室形成心臓外科手術施行予定の重症心不全患者
ヒト幹細胞の種類	(自己) 骨髄間葉系幹細胞
実施期間及び 対象症例数	2 年間 20 歳から 79 歳までの 5 症例
治療研究の概要	冠動脈バイパス術や左室形成術などの心臓外科手術が必要な重症心不全患者に対して、自己骨髄より採取し培養した間葉系幹細胞の浮遊液を、心臓手術時に直視下に心筋内に注入し、安全性とともに手術によって得られると予想される心機能改善効果に付加的な改善効果が認められるかを、historical control との比較により確認する。
その他（外国での状況等）	心臓への骨髄間葉系幹細胞 (MSC) 移植は、中国で経冠動脈投与による 70 例弱の臨床例があるが、動脈塞栓の危険性により現在は心筋への直接注入が主流。特殊なカテーテルを用いて心臓内から心筋へ細胞を注入する大規模臨床試験が米国で進行中であり、本邦でも国立循環器病センターが同様の手法による臨床研究を行っている。開胸手術時に直視下に針を用いて心筋内へ細胞を注入する方法での臨床例は、2001 年に Lancet での報告がある。
新規性について	開胸術時に MSC を心筋に直接注入する方法は、前述の Lancet による報告の他、大阪大学でも骨髄由来 CD133 陽性細胞移植の臨床研究開始が予定されている。今研究は培養した MSC 移植を左室形成術にも適用する点で新規性を認め、また慶應義塾大学医学部での初めての幹細胞臨床研究であることから審議の必要性を認める。

(別紙)

## ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究 の名称	重症心不全患者への外科的治療に付随して行う、自己骨髄由来間葉系細胞を用いた細胞移植に関する臨床研究	
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35番	
電話番号	03-3353-1211	
FAX 番号	03-5379-3034	
研究機関の長		
役職	慶應義塾大学医学部長	
氏名	末松 誠	印
研究責任者		
所属	慶應義塾大学医学部外科 (心臓血管)	
役職	教授	
氏名	四津 良平	印
連絡先	Tel:03-3353-3804 Fax: 03-5379-3034 E-mail: yozu@sc.itc.keio.ac.jp	
最終学歴	慶應義塾大学医学部卒業	
専攻科目	外科 (心臓血管)	
臨床経験歴	臨床経験歴 34年 心臓血管外科専門医・日本外科学会指導医・日本胸部外科学会指導医	
その他の研究者	※別紙1参照	
臨床研究の 目的・意義	※別紙2参照	
臨床研究の対象疾患		
名称	冠動脈バイパス術及び左室形成心臓外科手術施行予定の重症心不全患者	
選定理由	※別紙3参照	

被験者等の 選定基準	冠動脈バイパス術及び左室形成術の心臓外科手術が予定されている患者のなかで、左室駆出率40%以下の重症心不全患者(NYHA3度以上20才以上79才以下) 除外基準として以下の基準に1つでも該当する症例は除外する。(1, 悪性腫瘍を有する患者 2, 活動性の感染症を有する患者 3, 妊婦または妊娠している可能性のある患者 4, 培養中に使用する抗生物質にアレルギーを有する患者 5, その他、担当医師が不適当と判断した患者)
---------------	---

臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	自己骨髄間葉系幹細胞
由来	自己 生体由来
採取、調製、移植又は 投与の方法	腸骨より15ccの骨髄液を採取、自己血清を用いて、培養増殖。4週間以内の培養で細胞数を30,000,000～100,000,000程度まで増殖させた後回収、生理食塩水細胞浮遊液を、心臓外科手術時に直視下に心筋内に直接注入する。 詳細は ※別紙4参照
調整(加工)行程	有り
非自己由来材料使用	無し
複数機関での実施	無し
他の医療機関への授 与・販売	無し
安全性についての 評価	※別紙5参照
臨床研究の実施が可能 であると判断した理由	※別紙6参照
臨床研究の実施計画	※別紙7参照
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	責任医師は、慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認を得た、臨床試験説明文章を作製する。被験者およびその家族に対して、同説明文を用いて説明を行い、十分な時間的猶予を与えた上で、被験者の自由意志による文書同意を取得する
説明事項 (被験者の受ける利益 と不利益を含む。)	※別紙8参照
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	
被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法	※別紙9参照

臨床研究終了後の追跡調査の方法	慶應義塾大学医学部付属病院外来にて定期的に経過観察する。
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	採取された検体は、符号化され、患者情報の照合は、本試験とは直接関係の無い個人情報管理者が行う事とする。
その他	
その他必要な事項（細則を確認してください）	※別紙10参照

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○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
- 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況
- 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
- 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

■ 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

その他（資料内容： )

その他（資料内容： )

その他（資料内容 )

## 目次

別紙1【その他の研究者】	7
<b>別紙2【臨床研究の目的・意義】</b>	13
<b>別紙3【臨床研究の対象疾患・選定理由】</b>	14
<b>別紙4【臨床研究に用いるヒト幹細胞、採取、調整、移植又は投与の方法】</b>	15
別紙5【安全性についての評価】	16
<b>別紙6【臨床研究の実施が可能であると判断した理由】</b>	17
<b>別紙7【臨床研究の実施計画】</b>	24
別紙8【被験者に関するインフォームドコンセント】	29
別紙9【被験者に対して重大な事態が生じた場合の対処方法】	32
<b>別紙10【その他必要な事項】</b>	35
添付書類1【研究者の略歴及び研究業績】	36
添付書類2【研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況】	36
添付書類3【臨床研究に用いるヒト幹細胞の品質に関する研究成果】	36
添付書類4【同様のヒト幹細胞研究に関する内外の研究状況】	36
添付書類5【臨床研究の概要を出来るだけ平易な用語を用いて記載した要旨】	39
添付書類6【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】	40
添付書類7【倫理審査委員会資料】	46
添付書類7【慶應義塾学内倫理委員会審査資料】	51

## 別紙2【臨床研究の目的・意義】

現在、欧米諸国と同様、我が国においても虚血性心不全をはじめとした重症心不全患者の数は増加の一途をたどっている。通常の内科的あるいは外科的治療で生命を維持することができなくなった場合の選択枝として、心臓移植および人工心臓治療がある。しかし、心臓移植が必要な重症心不全患者のほとんどは、移植ドナーが見つかる前に死亡しているのが現状であり、ドナー不足は万国共通の社会問題となっている。

その点を改善する目的で近年、細胞移植が注目されている。細胞移植とは、従来の臓器そのものを移植する臓器移植とは異なり、生体外で培養・分化誘導された細胞を目的の組織に直接注入するという細胞レベルでの臓器機能の補填を目指している。この方法は生体心移植と比較しても、自己細胞を用いるため免疫抑制剤を使用する必要が無く、長期にわたる免疫抑制剤の使用による合併症も生じない。

臨床研究で心筋に対する骨髄単核球細胞治療の安全性と有効性は確認されている（臨床研究の実施が可能であると判断した理由に記載）。また骨髄由来間葉系細胞を用いた細胞治療は少数例で有効性と安全性の報告があるが、いまだ確立された治療法ではない（臨床研究の実施が可能であると判断した理由に記載）。また、本邦での実績は数少ない。冠動脈の動脈硬化によって生じた冠動脈疾患で心筋が広範囲に壊死したか虚血に陥り、心機能の重篤な低下を来した患者を虚血性心疾患に伴う重症心不全患者と呼ぶ。当該疾患への既存の治療法は、冠動脈バイパス術あるいは左室形成術である。しかし同手術は、十分な残存心筋及びバイパス血管を接続可能な冠動脈（十分な口径が保たれ、かつ瀰漫性の病変ではない）が存在している事が適応条件である。この条件を満たさなくては、手術によって予想される自覚症状及び生存率改善の利得が、手術侵襲による不利益を上回る事が無いと判断される。すなわち適応外の患者は、心不全に起因する呼吸困難による重篤な苦痛を味わいながら、ただ死を待つしか無い。

この治療法の効果と安全性を本邦において確認し（パイロット研究に相当）、確立された手技とする必要がある。すなわち本研究のエンドポイントは当該治療法の安全性を検討するとともに、従来の外科的手術に付加的に治療を行う事によって、手術によって得られると予想される心機能改善効果に付加的な改善効果が認められるかどうかを、少数例で確認する事にある（当施設内ヒストリカルコントロールとの比較）。少数例で安全に治療が施行でき、十分付加的効果が予想出来れば、多数例でのプラセボを用いた盲検試験で有効性を検証する臨床試験を計画する。それにより、移植が行われなければ余命の無いと予想される、数多くの重症心不全患者の症状を緩和し寿命を延長することが出来る可能性がある。

### **別紙 3 【臨床研究の対象疾患・選定理由】**

冠動脈バイパス術及び左室形成術の適応患者は、冠動脈疾患に伴う重症心不全患者である。今回行われる自己骨髄間葉系幹細胞治療は、移植した幹細胞が心筋に分化し、心筋細胞を補填する事を期待して行われる。しかし同時に後述するごとく（臨床研究が実施可能であると判断した理由）、移植した細胞によって局所の血管新生を生じる事により虚血が改善する事と、移植した細胞から分泌される液性因子によって、局所のホスト心筋細胞の細胞死を防ぐ効果が証明されている。そのため冠動脈疾患に伴う重症心不全患者に対して、より高い治療効果が期待できる。

幹細胞を心筋に移植する際、心臓カテーテル操作によって、外科的手術には随伴せず、心臓内腔あるいは冠動脈内投与を行う方法があり、開胸して目視下に細胞を注入する方法と比較して、一見侵襲が少ない事が想定される。しかし、後述するごとく（臨床研究が実施可能であると判断した理由）、目視下に細胞を注入する方法が、細胞移植手技だけを考えた場合（心臓局所までのアプローチを除き）、最も確実に安全な手技であると考えられる。そのため本研究では、冠動脈バイパス手術及び左室形成術の心臓外科手術が予定されている患者に、手術中に目視にて細胞を直接心筋内へ注入する方法を対象とした。



## 別紙4【臨床研究に用いるヒト幹細胞、採取、調整、移植又は投与の方法】

腸骨より 15cc の骨髓液を採取、自己血清を用いて、培養増殖。4 週間以内の培養で細胞数を 30,000,000～100,000,000 程度まで増殖させた後回収、生理食塩水細胞浮遊液を、心臓外科手術時に直視下に心筋内に直接注入する。

### 自己骨髓液採取

1. 骨髓採取場所は、無菌操作が可能な手術室かそれに準ずる場所（採血室）で施行する。患者の全身状態により病床からの移動が困難と主治医が判断した場合、集中治療室にて無菌的に施行する。
2. 患者を腹臥位とし、腸骨部分を露出する。  
人工補助循環装置、スワングアンツカテーテルが大腿部に装着されている場合は、チューブ類が閉塞しない様配慮する。
3. イソジン消毒を行う。
4. Cardinal health 社 Illinois Bone Marrow Needle (DIN 1515x)を用いて、腸骨より骨髓液 15cc を無菌的に採取する。

### 調整方法

調整方法は、添付した細胞手順書（添付資料1）に従う。

### 移植方法

1. 回収された細胞を生理食塩水にて 4mL に浮遊させる
  2. 0.2mL づつを 1mL のシリンジに吸引し合計 20 本の細胞浮遊液シリンジを作製し、27 ゲージの針を装着し、混入した空気を取り除く
  3. 心臓外科手術中に直視下に心筋梗塞部および心筋梗塞周辺部に 5mm 以上の間隔を開けて、細胞浮遊液シリンジに装着した針を刺入
  4. 軽く陰圧をかけてバックフローを確かめ、心筋内に針の先端が刺入している事を確認する
  5. その後一カ所 5～10 秒で細胞を注入し、注入後も組織内圧が低下するまで 10 秒程度待つて針を抜く
- 3～5 の操作を合計 20 回繰り返す

## 別紙5【安全性についての評価】

### 1 **臨床試験に用いる試料の安全性**

今回、細胞培養を担当する慶應義塾大学医学部では、自己骨髄と自己血清を用いて間葉系細胞の培養を安全に行える設備ならびに経験を有しており、すでに間葉系細胞の培養増殖に成功している（倫理委員会受付番号49 平成15年11月5日承認）。また、間葉系細胞を用いた臨床応用（倫理委員会受付番号145 平成17年7月28日承認）を行っていて、既に2例の患者の骨髄から間葉系細胞の培養増殖に成功している。培養は「細胞培養操作手順書（添付書類1）」に則り、この培養期間中の真菌ならびにマイコプラズマによる汚染は認められていない。また、これらの患者培養細胞の同一患者への移植も行っており、感染の副作用をおこさず、良好な治療効果を得ている。

本研究ではGMP基準にのっとり、細胞培養を実行することによって細菌、真菌、ウイルスの感染を排除するよう配慮する。また本研究ではすべて自己細胞を用いるために、未知の病原体による感染の可能性はきわめて低くなるよう配慮している。また培養中の病原体の検査を移植直前に行い、予想外の病原体感染を極力抑える。

- 1.1 原料となるヒト幹細胞の受け入れ時に細胞の感染状況を確認し、記録する。
- 1.2 細胞調整はすべてクリーンルーム内で行い、閉鎖系培養器具を用いて、不慮の外來病原体の感染を防止する。
- 1.3 細胞培養中定期的に（1週間毎）培地の一部を採取し、病原体の混入の有無を確認する。
- 1.4 本研究では、血清に自己血清を用いるために、不活化は必要なく、血清を介して感染を引き起こす種々のウイルス・プリオンによる汚染の可能性はない。
- 1.5 移植後にシリンジ内に残留した細胞浮遊液を（シリンジ3本）、保存培養し病原体の有無を確認する。

### 2 **臨床研究実施後の安全性確保**

- 2.1 本試験は安全性の評価を目的としている。そのため別紙7【臨床研究の実施計画】内に詳細を記載した。
- 2.2 細胞移植後の被験者の安全確保は 別紙7【臨床研究の実施計画】内 項目8（検査項目）より項目11（臨床試験の中止）までに記載した。
- 2.3 細胞移植後の細胞調整に関する安全確保に付いては、別紙7【臨床研究の実施計画】内 項目4（細胞の保存）に記載した。

## 別紙6【臨床研究の実施が可能であると判断した理由】

### 催不整脈作用

骨髄間葉系幹細胞から得られた心筋細胞は未熟で、*in vitro* 培養条件下で観察すると、誘導初期に限ってしばしば活動電位で再分極異常を認める場合がある(1, 2)。しかし、成熟するにつれて活動電位は成熟し、不安定な再分極現象は消失する(1, 2)。またヒト骨髄間葉系幹細胞はその心筋への分化誘導効率が現在の培養方法では少なくとも0.3%と低く(3)、再生した心筋細胞自体の量が圧倒的に少ない事が予想され、それらが強固にホスト心筋とギャップ結合を示す事から、再分極は電気緊張的現象によって早期に安定化すると予想出来る(1-2)。また一般的に培養で用いられる培養液は、血清が大量に混入している事が知られている。血清は血小板が脱顆粒して放出された多くの成長因子が含まれている事が知られており、これらが心筋細胞の電気生理学的特性を変化させている事が考えられる。我々の検証でも、血清無しの培養液で培養すると、活動電位静止膜電位が明瞭に深くなり、より成熟した心室筋様活動電位を呈する様になる(図1)。つまり *in vitro* で長期間培養した心筋細胞の電気生理学的特性から、移植した細胞の催不整脈性を議論する事は(4)危険であると思われる。また間葉系細胞の移植によって、ホスト側心筋に対して血管新生やアポトーシス抑制といった良好な反応が生じ(5-7)、ホスト心筋内の電氣的不均一性を解消する事により、総合的には不整脈を生じない方向に働く事が想像出来る。

過去の臨床実施例では、症例数は少ないが、骨髄間葉系幹細胞移植で、催不整脈性の報告は無い。(8)

### 腫瘍形成性

ヒト骨髄間葉系幹細胞を免疫不全動物に移植した際に、移植局所に腫瘍形成性の報告は無い(3)。ただし、今回我々が用いる骨髄間葉系幹細胞は、培養に自己(ヒト)血清を用いるため、正確には同一とは言えない。そこで我々は2006年12月に免疫不全マウス(Nude mouse)に今回用いる骨髄間葉系幹細胞と同じ方法で培養した細胞の、皮下移植を行い、経過を観察しているが2007年3月現在も腫瘍形成を認めていない。今後も経過を観察する予定である。

また臨床患者においては、定期的に心臓画像検査(MRI, CT)を用いて腫瘍形成性の有無を慎重に経過観察してゆく。