

## ヒト幹細胞臨床研究実施計画について

### 【信州大学医学部附属病院】

- 青壮年者の四肢良性骨腫瘍および骨腫瘍類似疾患掻爬後の骨欠損に対する  $\beta$ -リン酸三カルシウムを担体としたヒト培養自己骨髄間葉系細胞移植による骨欠損修復研究…………… P1
- 青壮年者の有痛性関節内軟骨障害に対する I 型コラゲンを担体としたヒト培養自己骨髄間葉系細胞移植による軟骨再生研究…………… P27

### 【慶應義塾大学医学部】

- 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…………… P50

### 【国立循環器病センター】

- 急性期心原性脳塞栓症患者に対する自己骨髄単核球静脈内投与の臨床応用に関する臨床研究(変更計画)…………… P68

### 【東海大学医学部】

- 自家骨髄間葉系幹細胞により活性化された椎間板髄核細胞を用いた椎間板再生研究(変更計画)…………… P94

平成 20 年 12 月 16 日

信州大学医学部附属病院から申請のあったヒト幹細胞  
臨床研究実施計画に係る意見について

ヒト幹細胞臨床研究に関する  
審査委員会

委員長 永井良三

信州大学医学部附属病院から申請のあった下記のヒト幹細胞臨床研究実施計画について、本審査委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりまとめましたので報告いたします。

記

1. 青壮年者の四肢良性骨腫瘍および骨腫瘍類似疾患掻爬後の骨欠損に対するβ-リン酸三カルシウムを担体としたヒト培養自己骨髄間葉系細胞移植による骨欠損修復研究  
申請者：信州大学医学部附属病院 病院長 小池健一  
申請日：平成 19 年 10 月 1 日

## 1. ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	青壮年者の四肢良性骨腫瘍および骨腫瘍類似疾患掻爬後の骨欠損に対するβ-リン酸三カルシウムを担体としたヒト培養自己骨髄間葉系細胞移植による骨欠損修復研究
申請年月日	平成 19 年 10 月 1 日
実施施設及び総括責任者	実施施設：信州大学医学部付属病院 総括責任者：加藤 博之
対象疾患	内軟骨腫、単純性骨嚢腫、動脈瘤様骨嚢腫、骨内ガングリオン、非骨化性線維腫、線維性骨異形成
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	3 年間 20 歳から 65 歳までの 9 症例
治療研究の概要	良性骨腫瘍の摘出後生じる骨欠損で、骨折を生じる危険性が高い症例に対して、あらかじめ自己骨髄液から採取して、培養して得た骨髄間葉系幹細胞を付着させた人工骨を骨欠損部に充填することで早期の良好な骨形成を図る。
その他 (外国での状況等)	骨髄から採取した骨形成前駆細胞を培養して増幅し、人工骨 (ハイドロキシアパタイト) に播種させ、骨欠損部に移植した例は 2001 年 Quarto ら (伊・露) が 3 例報告した。国内でも同じく 2001 年 Ohgushi が骨髄間葉系細胞を培養・増殖し骨形成細胞に分化させ、HA や β-TCP 等の表面に播種して移植した臨床例での報告を行っており、歯科領域でも 2006 年 Yamada らの報告がある。奈良医科大学、大阪大学でも臨床使用例が報告されている。
新規性について	培養骨髄間葉系幹細胞と人工骨を組み合わせで作成した再生培養骨に関しては、すでに産業技術総合研究所、奈良医大、大阪大などで臨床応用例の報告があるが、信州大学医学部付属病院内のセルプロセッシングセンターを利用した臨床研究は今回が初めてであり、新規性・審議の必要性を認める。

## 2. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会における審議概要

### 1) 第1回審議

①開催日時： 平成19年11月28日(水) 10:00~12:00  
(第3回 ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会)

#### ②議事概要

平成19年10月1日付けで信州大学医学部附属病院から申請のあったヒト幹細胞臨床研究実施計画(対象疾患:内軟骨腫、単純性骨嚢腫、動脈瘤様骨嚢腫、骨内ガングリオン、非骨化性線維腫、線維性骨異形成、骨巨細胞腫、軟骨芽細胞腫、軟骨粘液線維腫)について、申請者からの提出資料を基に、指針への適合性に関する議論が行われた。

各委員からの疑義・確認事項については、事務局で整理の上申請者に確認を依頼することとし、その結果を基に再度検討することとした。

(本審査委員会からの主な疑義・確認事項)

○「被験者予定人数」に関して:単に可能数ではなく、統計的な必要数を明確にしたほうが臨床研究のデザインとして望ましい(プロトコルの作成に生物統計家に積極的に入ってもらい、 $\alpha$ 値、 $\beta$ 値をしっかりと設定すれば、ヒストリカルコントロールと比べて有意差を出すための必要数も算出できると思われる)。

○複数の人工骨のいずれかを支持体として選択することとなっているが、培養している中で分化能がそれぞれで違ってくる可能性もあるうえ、非常に少数例の中で比較されるので、そこまで比較するのに意味があるのかどうか。見解如何(研究と言う性質上、利用担体を1種類に絞るべきではないかという問題意識)。

○骨分化で引用されている論文は全て他の研究機関によるものでヒト間葉系幹細胞由来からの骨分化についてはこれから確認するという理解でよいか。

○良性腫瘍や腫瘍類似疾患で搔爬が必要になる疾患は多いため、10代を是非含めなければならないという理由にはなりにくいと思われる。倫理委員会の議論の中でも、そういった議論があったのかどうか確認されたい。

### 2) 第2回審議

①開催日時： 平成20年2月18日(月) 17:00~19:00  
(第4回 ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会)

#### ②議事概要

前回の審議における本審査委員会からの確認に対し、信州大学医学部附属病院から回答書及び追加資料が提出されたことを受けて、第2回目の議論を行い、引き続き実施計画の指針への適合性についての審議を行った。

その結果、再度出された疑義・確認事項について、事務局で整理の上申請者に確認を依頼することとし、その結果を基に検討することとした。

(本審査委員会からの主な疑義・確認事項)

○未成年者を被験者とする問題点については多くの指摘があったが、見解は如何。

○対象疾患に予後の大きく異なる疾患が含まれている。

### 3) 第3回審議

①開催日時： 平成20年7月16日(水) 10:00~12:00

(第5回 ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会)

#### ②議事概要

前回委員会より出されていた疑義事項・確認事項に対し、信州大学医学部附属病院から回答書及び追加資料が提出されたことを受けて、第3回目の議論を行った。

(本審査委員会からの主な疑義・確認事項)

○従来法との比較(メリット・デメリット)についての記述に若干誇張があるのではないか。

以上の各委員からの疑義・確認事項については、事務局で整理の上申請者に回答を求めることとし、その結果を基に持ち回りにて審議することとした。

### 4) 第4回審議

①委員会の開催は無し

#### ②議事概要

前回の審議における本審査委員会からの確認に対し、信州大学医学部附属病院から回答書及び追加資料が提出されたことを受けて、持ち回りにて審議を行った結果、当該ヒト幹細胞臨床研究実施計画を了承し、次回以降の科学技術部に報告することとした。

## 3. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会における審議を踏まえた第1回審議時からの実施計画及び被験者への同意説明文書などの主な変更内容

(実施計画書)

○対象とする患者を20歳以上65歳までの成人例とした(当初対象に含まれていた13歳から19歳を除外)。

○利用する人工骨を1種類に限定。

○被験者予定人数を統計学的に検討し、9例と設定。

○審査中に申請者である病院長の交代があり、修正。

○対象疾患から骨巨細胞腫、軟骨芽細胞腫、軟骨粘液線維腫を除外

(患者説明文書および同意書)

○研究参加時、幹細胞採取時、移植時でバラバラに作成されていた説明文書

を統一化。さらに理解を助けるための流れを示した説明図を添付。

#### **4. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会の検討結果**

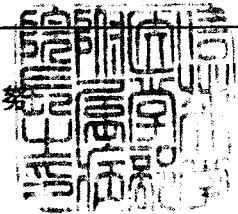
信州大学医学部附属病院からのヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：内軟骨腫、単純性骨嚢腫、動脈瘤様骨嚢腫、骨内ガングリオン、非骨化性線維腫、線維性骨異形成）に関して、ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会は、主として倫理的および安全性等にかかる観点から以上の通り論点整理を進め、それらの結果を実施計画及び患者への同意説明文書に適切に反映させた。その上で、本審査委員会は本実施計画の内容が倫理的・科学的に妥当であると判断した。

次回以降の科学技術部会に報告する。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成19年10月 1日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	長野県松本市旭3-1-1 (郵便番号 390-8621)
	名称	信州大学医学部附属病院 0263-35-4600 (電話番号) 0263-37-3024 (FAX 番号)
	研究機関の長役職名・氏名	信州大学医学部附属病院 病院長 勝山 英 

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
ハイドロキシアパタイトあるいはβ-リン酸三カルシウムを担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による骨欠損修復	信州大学医学部・運動機能学講座教授 加藤 博之

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<b>臨床研究の名称</b>	青壮年者の四肢良性骨腫瘍および骨腫瘍類似疾患掻爬後の骨欠損に対するβ-リン酸三カルシウムを担体としたヒト培養自己骨髄間葉系細胞移植による骨欠損修復研究
<b>研究機関</b>	
名称	信州大学医学部附属病院
所在地	〒390-8621 長野県松本市旭3-1-1
電話番号	0263-35-4600
FAX番号	0263-37-3024 (総務課)
<b>研究機関の長</b>	
氏名	小池 健一
役職	信州大学医学部附属病院長
<b>研究責任者</b>	
所属	信州大学医学部運動機能学講座
役職	教授
氏名	加藤博之
連絡先	Tel/Fax: Tel: 0263-37-2659 / Fax: 0263-35-8844
	E-mail: hirokato@shinshu-u.ac.jp
最終学歴	昭和54年北海道大学医学部医学科卒業
専攻科目	整形外科
<b>その他の研究者</b>	添付書類 (別紙1) 参照
<b>臨床研究の目的・意義</b>	<p>骨腫瘍あるいは骨腫瘍類似疾患の掻爬手術後に生じた骨欠損の補填治療において、低侵襲で早期の骨癒合と強度を得るために人工骨を母床としたヒト培養自己骨髄間葉系細胞移植法を開発し、その安全性と有効性を評価することを本臨床研究の目的とする。本臨床研究は骨伝導能を持つが骨誘導能がない人工骨に骨誘導能を付加するものである。従来の自家腸骨移植法は正常部位を切開して骨採取を行う侵襲性に加えて、骨採取量に制限があることや腸骨採取部の疼痛や異常感覚、血腫、感染などの合併症が問題とされているが<sup>31)33)</sup>、本法はこのような自家腸骨移植法の欠点を克服した有効な骨欠損修復法になりうる。</p> <p>本法は既に国内の一部の限定された施設で実施されているが、その症例数は少ない<sup>1)2)</sup>。本法による再生骨の有用性は実験的に証明されている<sup>3)4)5)</sup>。また本法の安全性については、確立されているとは言い切れないが培養細胞の腫瘍化や感染症発生など有害事象発生の報告はなく、培養細胞に対する細菌、真菌検査、マイコプラズマ検査、エンドトキシン検査や造腫瘍試験、核型異常試験などの安全性試験の結果も問題がないと報告されている<sup>6)</sup>。</p> <p>(文献)</p> <p>1)Morishita T, et al.:Tissue engineering approach to the treatment of bone tumors: three cases of cultured bone grafts derived from patients' mesenchymal stem cells. Artif Organs. 30:115-8, 2006.</p> <p>2)藤本哲穂、他：骨腫瘍に対する骨再生治療。腎と骨代謝. 19: 341-348、</p>



# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>2006.</p> <p>3) Ohgushi H, et al.: Osteogenic capacity of rat and human marrow cells in porous ceramics. Experiments in athymic (nude) mice. Acta Orthop Scand. 61:431-4, 1990.</p> <p>4) Goshima J, et al.: The osteogenic potential of culture-expanded rat marrow mesenchymal cells assayed in vivo in calcium phosphate ceramic blocks. Clin Orthop Relat Res. 262:298-311, 1991.</p> <p>5) Yoshikawa T, et al.: Immediate bone forming capability of prefabricated osteogenic hydroxyapatite. J Biomed Mater Res. 32:481-92, 1996.</p> <p>6) 山田陽一、他：幹細胞・ES細胞－歯・歯周組織－歯槽骨の再生医療。再生医療. 5: 105-111, 2005.</p> <p>31) Ahlmann E, et al.: Comparison of anterior and posterior iliac crest bone grafts in terms of harvest-site morbidity and functional outcomes. J Bone Joint Surg Am. 84-A:716-20, 2002.</p> <p>33) Kessler P, et al.: Harvesting of bone from the iliac crest --comparison of the anterior and posterior sites. Br J Oral Maxillofac Surg. 43:51-6, 2005.</p>				
<b>臨床研究の対象疾患</b>					
<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td data-bbox="245 931 608 1014" style="text-align: center;"><b>名称</b></td> <td data-bbox="608 931 1465 1014"> <p>内軟骨腫、単純性骨嚢腫、動脈瘤様骨嚢腫、骨内ガングリオン、非骨化性線維腫、線維性骨異形成</p> </td> </tr> <tr> <td data-bbox="245 1014 608 2002" style="text-align: center;"><b>選定理由</b></td> <td data-bbox="608 1014 1465 2002"> <p>上記の原発性良性骨腫瘍および骨腫瘍類似疾患で、四肢に存在し画像所見で増大傾向が確認され、髓腔占拠率が 50%を超え、皮質骨の菲薄化を伴うものは病的骨折の危険が高いとされる。その場合の治療法は、早期に病巣部を搔爬して骨欠損部に自家腸骨から採取した海綿骨とβ-リン酸三カルシウムなどの人工骨を充填する手術が標準的であった。しかし移植部の強度が得られるまでは、骨折の危険性があるために健全な学校生活と家庭生活・就労・スポーツ活動を送ることは困難で、患者のQOLは著しく損なわれる。当科で病巣搔爬後に人工骨(β-TCP)移植を行った症例や同様の方法で手術が行われた報告<sup>45), 46)</sup>では、多くの場合術後2ヶ月以上の荷重制限期間を必要としている。また自家腸骨採取においては8~20%に漿液腫、血腫、感染、知覚障害、疼痛などの合併症が生じるとする報告があり<sup>31) 33) 43) 44)</sup>、さらに術後早期では57%に疼痛の訴えがあるという報告もある<sup>33)</sup>。</p> <p>本法ではβ-リン酸三カルシウム製の気孔を有する固形人工骨に培養骨髄間葉系細胞を付加して骨誘導能を持たせて移植するので、骨欠損部の早期の骨癒合と強度の獲得を低侵襲に達成できる。本研究では、上記疾患治療後の単純X線像、CT、MRI、そして骨密度の評価によって培養骨移植法が人工骨単独の移植に対して早い骨形成を起こすことを検証できる。また従来の治療法後の免荷期間と本法後の免荷期間を比較することにより、本法の有効性を評価できる。さらに骨髄血採取部の疼痛を評価することで本法が低侵襲であることを検証できる。</p> </td> </tr> </table>	<b>名称</b>	<p>内軟骨腫、単純性骨嚢腫、動脈瘤様骨嚢腫、骨内ガングリオン、非骨化性線維腫、線維性骨異形成</p>	<b>選定理由</b>	<p>上記の原発性良性骨腫瘍および骨腫瘍類似疾患で、四肢に存在し画像所見で増大傾向が確認され、髓腔占拠率が 50%を超え、皮質骨の菲薄化を伴うものは病的骨折の危険が高いとされる。その場合の治療法は、早期に病巣部を搔爬して骨欠損部に自家腸骨から採取した海綿骨とβ-リン酸三カルシウムなどの人工骨を充填する手術が標準的であった。しかし移植部の強度が得られるまでは、骨折の危険性があるために健全な学校生活と家庭生活・就労・スポーツ活動を送ることは困難で、患者のQOLは著しく損なわれる。当科で病巣搔爬後に人工骨(β-TCP)移植を行った症例や同様の方法で手術が行われた報告<sup>45), 46)</sup>では、多くの場合術後2ヶ月以上の荷重制限期間を必要としている。また自家腸骨採取においては8~20%に漿液腫、血腫、感染、知覚障害、疼痛などの合併症が生じるとする報告があり<sup>31) 33) 43) 44)</sup>、さらに術後早期では57%に疼痛の訴えがあるという報告もある<sup>33)</sup>。</p> <p>本法ではβ-リン酸三カルシウム製の気孔を有する固形人工骨に培養骨髄間葉系細胞を付加して骨誘導能を持たせて移植するので、骨欠損部の早期の骨癒合と強度の獲得を低侵襲に達成できる。本研究では、上記疾患治療後の単純X線像、CT、MRI、そして骨密度の評価によって培養骨移植法が人工骨単独の移植に対して早い骨形成を起こすことを検証できる。また従来の治療法後の免荷期間と本法後の免荷期間を比較することにより、本法の有効性を評価できる。さらに骨髄血採取部の疼痛を評価することで本法が低侵襲であることを検証できる。</p>	
<b>名称</b>	<p>内軟骨腫、単純性骨嚢腫、動脈瘤様骨嚢腫、骨内ガングリオン、非骨化性線維腫、線維性骨異形成</p>				
<b>選定理由</b>	<p>上記の原発性良性骨腫瘍および骨腫瘍類似疾患で、四肢に存在し画像所見で増大傾向が確認され、髓腔占拠率が 50%を超え、皮質骨の菲薄化を伴うものは病的骨折の危険が高いとされる。その場合の治療法は、早期に病巣部を搔爬して骨欠損部に自家腸骨から採取した海綿骨とβ-リン酸三カルシウムなどの人工骨を充填する手術が標準的であった。しかし移植部の強度が得られるまでは、骨折の危険性があるために健全な学校生活と家庭生活・就労・スポーツ活動を送ることは困難で、患者のQOLは著しく損なわれる。当科で病巣搔爬後に人工骨(β-TCP)移植を行った症例や同様の方法で手術が行われた報告<sup>45), 46)</sup>では、多くの場合術後2ヶ月以上の荷重制限期間を必要としている。また自家腸骨採取においては8~20%に漿液腫、血腫、感染、知覚障害、疼痛などの合併症が生じるとする報告があり<sup>31) 33) 43) 44)</sup>、さらに術後早期では57%に疼痛の訴えがあるという報告もある<sup>33)</sup>。</p> <p>本法ではβ-リン酸三カルシウム製の気孔を有する固形人工骨に培養骨髄間葉系細胞を付加して骨誘導能を持たせて移植するので、骨欠損部の早期の骨癒合と強度の獲得を低侵襲に達成できる。本研究では、上記疾患治療後の単純X線像、CT、MRI、そして骨密度の評価によって培養骨移植法が人工骨単独の移植に対して早い骨形成を起こすことを検証できる。また従来の治療法後の免荷期間と本法後の免荷期間を比較することにより、本法の有効性を評価できる。さらに骨髄血採取部の疼痛を評価することで本法が低侵襲であることを検証できる。</p>				

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>(文献)</p> <p>43) DeOrio JK, Farber DC : Morbidity associated with anterior iliac crest bone grafting in foot and ankle surgery. Foot Ankle Int. 26(2):147-151, 2005.</p> <p>44) Mirovsky Y, Neuwirth MG : Comparison between the outer table and intracortical methods of obtaining autogenous bone graft from the iliac crest. Spine 25(13):1722-1725, 2000.</p> <p>45) Galois L, Mainard D, Delagoutte JP: Beta-tricalcium phosphate ceramic as a bone substitute in orthopaedic surgery. Int Orthop. 26(2):109-115, 2002.</p> <p>46) Hirata M, Murata H, Takeshita H, Sakabe T, Tsuji Y, Kubo T: Use of purified beta-tricalcium phosphate for filling defects after curettage of benign bone tumours. Int Orthop. 30(6):510-513, 2006.</p>
被験者等の選定基準	<p>選定基準としては以下 (1) ~ (4) をすべて満たす者とする。</p> <p>(1) 上記の良性骨腫瘍および腫瘍様病変を四肢長管骨に認める。</p> <p>(2) CT 画像上腫瘍の最大横径 (髄内占拠率) が 50% 以上かつ皮質骨の菲薄化 (健側と比べて 1/2 以下) を認める。さらに腫瘍の縦径は腫瘍の最大横径を超えている。</p> <p>(3) 病的骨折があるかまたは病変の増大傾向を認める。</p> <p>(4) 年齢は 20 歳以上 65 歳未満とする。</p> <p>(5) 体重 50kg 以上。</p> <p>(6) 血色素量は 11g/dl 以上、ヘマトクリット (Ht) 値 33% 以上。</p> <p>被験者においては事前に感染症、ウイルス、細菌、真菌などの感染がないことを確認し、抗生物質によるアレルギー歴もないことを確認する (抗生剤投与の可否は通常院内で抗生剤投与時に使用しているアレルギー問診表を使用して判断する)。説明時には主治医と一緒に看護師が同席し、同意を得る過程において、本人および親族からのさまざまな相談を受けられる体制とする。年齢に関わらず知的障害者、精神疾患を有する者など同意能力に問題があると考えられる場合は本臨床研究の対象としない。</p>
臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	骨髄間葉系幹細胞
由来	<input checked="" type="checkbox"/> 自己・非自己・株化細胞 <input checked="" type="checkbox"/> 生体由来 <input type="checkbox"/> 死体由来
採取、調製、移植又は投与の方法	<p>添付書類 (以下) 参照</p> <p>(1) 採取: 自己骨髄細胞採取マニュアル</p> <p>(2) 調製: 培養骨製品標準書・骨組織培養指図記録書</p> <p>(3) 移植: 再生人工骨移植マニュアル</p>
調製 (加工) 行程	有
非自己由来材料使用	有      動物種 (ブタ (ヘパリン))
複数機関での実施	無
他の医療機関への授与・販売	無

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<p>安全性についての評価</p>	<p>細胞の培養・調製を行う信州大学医学部附属病院先端細胞治療センターはGMPに準拠した施設であり「汚染防止」、「人為的ミス防止」、「品質保証」を遵守している（添付書類【信州大学医学部附属病院先端細胞治療センターがGMPに準拠している根拠】参照）。</p> <p>また培養調製段階では形態観察、無菌試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験を行い、感染症の否定や細胞の形態変化、生存率のチェックをおこなう。また移植に用いる細胞の安全性評価のため核型試験を症例ごとに行う。ただしこの結果は最終製品の移植後に判明するため出荷判定には用いない。現状では陽性所見と発癌リスクの関連性についての科学的根拠は明確でないと考えられるため陽性所見が得られた場合は被験者に結果を説明して本臨床研究の継続・中止を協議する（再生培養骨搭載人工骨標準書 -25 頁のうちの23、24頁-8. 構成部品、細胞培養用物質、中間製品、製品の試験検査方法、試験検査手順、合否判定基準、試験検査に用いる装置、設備、器具、および試験検査環境の項を参照）。</p> <p>被験者に対しては移植手術後には通常の手術の術後と同様に全身状態のチェックを綿密におこなうとともに、血液・生化学検査を術後翌日、1週、2週、3週、2ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、1年（以後1年毎）を目安におこない感染症の有無などをチェックする。また定期レントゲン、CT、MRI 検査（臨床研究の実施計画（4）術後評価の項参照）を通して移植部位に異常がないかどうかを確認する。</p>
<p>臨床研究の実施が可能であると判断した理由</p>	<p>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に関する報告<sup>7)</sup>では、培養人工骨をラットの皮下に移植することによる異所性骨形成の実験系で、本来ハイドロキシアパタイト（HA）のみでは骨形成が起こらない皮下組織内で培養骨は組織学的に骨を形成することを証明した。そして培養骨では骨芽細胞の分化マーカーであるアルカリフォスファターゼ（ALP）やオステオカルシン（OC）の活性が上昇しており、付加した培養骨髄間葉系細胞が骨形成細胞に分化し人工骨内に骨形成を誘導している事実を示した。さらにこの論文ではマイクロCTでアパタイト内の新生骨の分布を確認、証明している。またIto Yらのラット脛骨骨欠損部への骨移植に関する研究<sup>8)</sup>では、HA単独よりもHAに培養骨髄間葉系細胞を付加した人工骨の方が早期に骨形成が起こっていた。さらにLacZを組み込んだ培養骨髄間葉系細胞をHAに付加してラット皮下に移植する実験<sup>9)</sup>では、培養骨の骨形成に関与した骨芽細胞や骨細胞は培養付加した骨髄間葉系細胞由来であることが証明された。さらにLiu Gらのヤギ脛骨骨幹部に長さ26mmの骨欠損部を作り、この欠損部にA：骨形成を誘導した骨髄間葉系細胞を付加したβ-TCPを移植、B：β-TCPのみ移植、C：何も移植せず欠損のままにしておく、の3群を設定して画像評価、摘出検体の強度および組織学的検討を行った研究<sup>47)</sup>では、16週で培養人工骨（A群）のみ骨癒合が完成しておりB、C群は32週でも癒合不全であった。そして32週のA群の骨強度は正常側と同等であった。以上の基礎実験の結果を総合すると、ヒトにおいて</p>

## ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

も培養骨髄間葉系細胞を付加した人工骨は付加した細胞が骨形成細胞に分化することによって骨誘導能を持ち、人工骨単独の移植より早期に骨形成（骨癒合）と強度を獲得することが期待できる。

自家骨移植を対照とした培養人工骨移植における骨形成の優位性については先行する基礎研究の中で既に証明されていると考えている。Yoshikawa Tら<sup>10)</sup>は、HAと培養骨髄間葉系細胞を共培養してラットの皮下に移植し骨形成を誘発させたものと新鮮海綿骨とで比較し、両者から抽出したRNAを用いてALPとOCのmRNAの発現をnorthern blottingで定量化している。これによると培養人工骨では移植後2週間で新鮮海綿骨に匹敵するALP、OC発現がみられ、培養骨は移植後早期に海綿骨と同様の骨形成能を持つことが示された。Kai T<sup>35)</sup>らはウサギにおける椎間固定の実験系で自家腸骨と培養人工骨を術後12週で比較し、骨癒合率（67%と100%）、癒合部周辺の仮骨量、母床と移植骨間のCT画像評価、負荷に対する強度のいずれも培養骨が自家骨より優っており、組織学的解析においても新生骨の形成は培養骨の方が顕著であったことを示している。さらにCinotti Gら<sup>36)</sup>はウサギ後側方固定の実験系で自家腸骨移植と培養人工骨を比較（術後8週）し、骨癒合に関するX線学的評価、触診による癒合評価で培養人工骨の癒合が優っており、組織学的評価では培養人工骨で均一な新生骨が見られたのに対して自家骨は新生骨の形成は粗で中心部はまだ壊死状態であったことを示している。この実験結果は動物実験レベルでは培養骨の方が自家骨より早期に新生骨を形成して強度を持ちうることを示したデータであると考えられる。

当施設においては共同研究者のWakitaniら<sup>37)</sup>が行ったウサギの膝関節骨軟骨欠損に骨髄間葉系細胞移植を行う実験系で、移植後骨軟骨欠損部にトルイジンブルーに異染性をしめす硝子軟骨様組織の形成がみられるとともに、移植後2～4週の早期に骨欠損部が血行の豊富な新生骨で修復されることを組織学的に確認している。臨床例においても、申請者らが行ってきた若年者の肘関節部の骨軟骨障害に対して自己の骨髄間葉系細胞を移植すると、上腕骨小頭部の骨欠損部は術後8週までに大部分が修復されることをX線写真で確認している。

以上を総合すると培養骨髄間葉系細胞を付加した人工骨移植は自家骨移植に匹敵する骨移植法であると考えられ、また既に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人工骨を移植しCT画像上早期の骨癒合が示されている<sup>2)</sup>ことを考慮すると、本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。

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）を既に開設している。培養手技はCPC開設前に数年前より尼崎の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）にて申請者らが行っており現在も共同で研究を行っている。

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<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> <p>7) 西川昌孝、他：連通多孔体ハイドロキシアパタイトと骨髓間葉系細胞を用いた骨再生. 別冊整形外科 47:7-11、2005.</p> <p>8) Ito Y, et al.: 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 69:454-61, 2004.</p> <p>9) Akahane M, et al.: Hydroxyapatite ceramics as a carrier of gene-transduced bone marrow cells. J Orthop Sci 7:677-82, 2002.</p> <p>10) Yoshikawa T, et al.: 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. 41:568-73, 1998.</p> <p>(追加文献)</p> <p>35) Kai T, Shao-qing G, Geng-ting D: In vivo evaluation of bone marrow stromal-derived osteoblasts-porous calcium phosphate ceramic composites as bone graft substitute for lumbar intervertebral spinal fusion. Spine 28(15):1653-8, 2003.</p> <p>36) Cinotti G, Patti AM, Vulcano A, Della Rocca C, Polveroni G, Giannicola G, and Postacchini F: Experimental posterolateral spinal fusion with porous ceramics and mesenchymal stem cells J Bone Joint Surg Br 86-B: 135-142, 2004.</p> <p>37) Wakitani S, et al.: Mesenchymal cell-based repair of large, full thickness defect of articular cartilage. J Bone Joint Surg 76-A:579-592, 1994.</p> <p>47) Liu G, Zhao L, Zhang W, Cui L, Liu W, Cao Y: Repair of goat tibial defects with bone marrow stromal cells and beta-tricalcium phosphate. J Mater Sci Mater Med. 19(6):2367-76, 2008.</p>
<p><b>臨床研究の実施計画</b></p>	<p>&lt;目標例数&gt;</p> <p>当施設においては今回対象としている四肢原発性良性骨腫瘍および同部の骨腫瘍類似疾患に対して病巣搔爬、人工骨充填手術を年間約10例(2006年度は11例)行っている。そのうち20歳以上65歳未満の患者は年間4-5例程度と予想される。当施設の1997年から現在までの当該疾患に対し病巣搔爬後にβ-リン酸三カルシウムのみを充填した11例の術後単純X線写真を調査すると、充填したβ-リン酸三カルシウムは術後平均12.3週(SD=3.77)で周囲骨組織と均一化していた。</p> <p>これに対して本研究では術後8週までのβ-リン酸三カルシウムの早期均一化を目指している。先に示した当施設のデータから本研究参加例数の目標は9例、コントロール例数18例と設定される(α値=0.05、β値=0.20)。今後3年間で本研究参加例数を9例とすると、年間3例の臨床研究参加例目は実際に当施設で実施可能な例数である。さらに過去の当施設の12例に今後3年間で6例のコントロール例を追加できればコントロール数は18例となり、コントロー</p>

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>ル例数も実際に当施設で設定可能な例数である。</p> <p>&lt;実施計画&gt;</p> <p>(1) 骨髓血採取 (2) 幹細胞の培養・調製 (3) 再生人工骨の移植（手術） (4) 術後評価</p> <p>の各段階に分けて記載する。</p> <p>(1) <u>骨髓血採取</u> 添付書類（自己骨髓細胞採取マニュアル）参照</p> <p>(2) <u>幹細胞の培養・調製</u> 添付書類（培養骨製品標準書）参照</p> <p>(3) <u>再生人工骨の移植（手術）</u> 添付書類（再生骨移植マニュアル）参照</p> <p>(4) <u>術後評価</u> 下記条件撮影の画像で骨癒合（骨形成）の状況を評価する。</p> <p>単純X線 : 術後 1・3・6 週、2・3・6・9 ヶ月、1 年、以後 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。</p> <p>CT : 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。</p> <p>移植部骨密度 : 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。</p> <p>MRI : 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。</p> <p>(評価方法)</p> <p>①単純 X 線像 : 骨腫瘍搔爬部の 2 方向撮影像を読影。 ②CT : 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。 ③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。 ④MRI (造影) : 骨移植部の血流再開の程度 (造影領域) を見ることによって骨形成を評価する。</p> <p>&lt;エンドポイント&gt;</p> <p>(1) 安全性の評価 有害事象の発生 : 重篤な有害事象の発生の有無</p> <p>(2) 術後 1 週、3 週、6 週、3 ヶ月、1 年における移植部の骨量</p> <p>①充填した <math>\beta</math>-リン酸三カルシウム周囲の均一化像の出現</p>
--	---

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>時期を確認する。</p> <p>②CT 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。</p> <p>③移植部に ROI を設定して局所の骨密度 (DEXA) を評価する。</p> <p>(3) 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>(4) 全荷重開始時期</p> <p>(5) 骨髓血採取後 3 日目と 2 年目の疼痛の程度を被験者に質問し被験者が visual analogue scale (VAS: 0~10) に記載する。</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>(3) 全荷重可能となった手術後の週数を評価する。</p> <p>(4) VAS score を評価する。</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、または病気と定義する。</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> <p>(1) 死亡にいたるもの</p> <p>(2) 生命を脅かすもの</p> <p>(3) 治療のため入院または入院期間の延長が必要なもの</p> <p>(4) 永続的または顕著な障害／機能不全に陥るもの</p> <p>(5) 次世代に影響が及ぶと思われるもの</p> <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> <p>(1) 被験者または代諾者の不参加表明</p> <p>(2) 有害事象が生じたとき</p> <p>(3) 培養中の感染等培養過程での事故</p> <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>
--	--

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

被験者等に関するインフォームド・コンセント	
<b>手続</b>	整形外科内での症例検討会にて本研究の適応と判断された場合に別紙の説明文書に基づき術者が被験者・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回取得する。また説明に際しては被験者自身が理解できる言葉や用語・図を用いて本研究について可能な限り十分な説明を行う。さらに被験者に対して、試験の参加を拒否する権利又は試験からいつでも辞退できる権利についてもわかりやすく説明する。後日、同席した治療担当看護師、被験者、家族が面談する場を設け、本臨床研究に関する理解を確認し、質問・不十分な理解・誤った理解がある場合は、再度説明を行う。これらの過程を経て被験者本人からの積極的な同意が得られた場合は、同意文書に被験者本人が署名、年月日を記入する。
<b>説明事項</b> （被験者の受ける利益と不利益を含む。）	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。 ① 当該臨床研究の目的、意義 ② 研究の方法 ③ 当該研究を実施する機関名 ④ 予期される研究の効果 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 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 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 ⑧ 健康被害に対する補償の有無 ⑨ 個人情報の取り扱い ⑩ 研究のための費用 ⑪ 研究成果の公表 ⑫ 知的財産権の帰属 ⑬ 研究者名 ⑭ 問い合わせ・苦情の連絡先
<b>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</b>	
<b>研究が必要不可欠である理由</b>	本臨床研究の対象年齢を20歳以上とし単独でインフォームド・コンセントを得ることが困難な者を被験者としない。
<b>代諾者の選定方針</b>	単独でインフォームド・コンセントを得ることが困難なものを被験者としなため、代諾者は選定しない。
<b>被験者等に対して重大な事象が生じた場合の対処方法</b>	健康被害等の有害事象が生じた場合、被験者に対して状況についての説明と対処方法について説明を行い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。また重篤な有害事象が発生した場合の措置としては （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



# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>研究代表者および医療機関の長に緊急報告する。</p> <p>(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)。</p> <p>(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。</p>
臨床研究終了後の追跡調査の方法	<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>細胞調製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、最終調製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)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>
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>この研究に参加したことによって本法との関連性が否定できな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、その他の補償はおこなわない。</p>
個人情報保護の方法	
連結可能匿名化の方法	<p>診療に関しては匿名化しない。</p> <p>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え防止のために、個人とその符号を結びつける対応表は個人情報管理者の下で厳重に管理する。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。</p>
その他	<p>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ないようにする。</p>
その他必要な事項	<p>&lt;ヒト幹細胞臨床研究にかかる研究資金の調達方法&gt;</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>

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>&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;</p> <p>培養骨髄間葉系細胞と人工骨を組み合わせて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;</p> <p>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、その他骨腫瘍掻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;</p> <p>主に骨腫瘍掻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○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）

# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

■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）