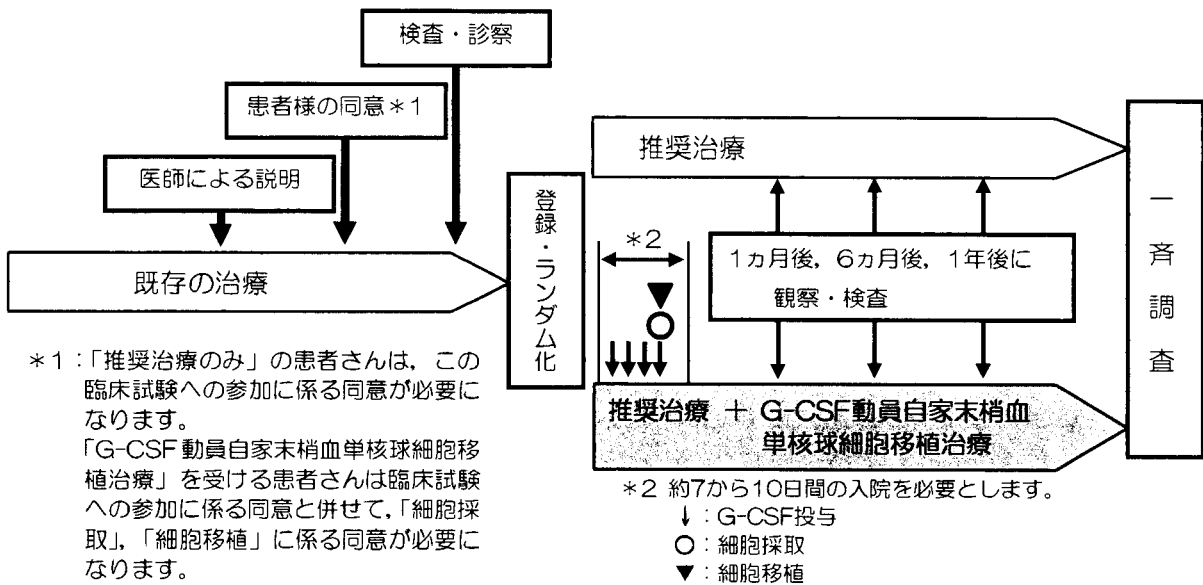


	<p>付を記入し、記名捺印又は署名する。その同意文書は被験者へ交付し、実施医療機関ではその写し等をカルテに添付して保管する。なお、本臨床試験協力者が補足的に説明を行った場合には、協力者も記名捺印又は署名し、日付を記入するものとする。</p> <p>被験者が本臨床試験に参加している間に、説明・同意説明文書が改訂された場合は、試験責任医師又は試験分担医師は、その都度当該情報を速やかに被験者に伝え本臨床試験に参加するか否かについて、被験者の意思を確認するとともに、改訂された説明・同意文書を用いて改めて説明し、本臨床試験の参加継続について被験者から自由意思による同意を文書により得るものとする。</p> <p>本臨床試験参加中の被験者が同意の撤回を申し出た場合、試験責任医師又は試験分担医師、ならびに被験者はその旨を記載した文書（同意撤回文書）に各自日付を記入し、記名捺印又は署名する。その同意撤回文書は被験者へ交付し、実施医療機関ではその写し等をカルテに添付して保管する。</p> <p>別紙6：臨床試験実施計画書；8.説明と同意（15頁）参照</p>
<p>説明事項</p>	<p>説明文書・同意書（様式）及び同意撤回書は試験責任医師が作成する。説明文書には、少なくとも以下の事項が含まれていなければならない。ただし、被験者を意図的に誘導するような記載をしてはならない。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 試験が研究を伴うこと 2) 試験の目的 3) 試験の方法 4) 被験者の試験への参加予定期間 5) 試験に参加する予定の被験者数 6) 予期される臨床上の利益及び危険性又は不便 7) 患者を被験者にする場合には、当該患者に対する他の治療方法の有無及びその治療方法に関して予想される重要な利益及び危険性 8) 試験に関連する健康被害が発生した場合に被験者が受けることのできる補償及び治療 9) 試験への参加は被験者の自由意思によるものであり、被験者（又はその代諾者）は、被験者の試験への参加を随時拒否又は撤回することができること。また、拒否・撤回によって被験者が不利な扱いを受けたり、試験に参加しない場合に受けるべき利益を失ったりすることはないこと。 10) 試験への参加の継続について被験者（又はその代諾者）の意思に影響を与える可能性のある情報が得られた場合には速やかに被験者（又はその代諾者）に伝えられること。 11) 試験への参加を中止させる場合の条件又は理由 12) モニタリング又は監査担当者、倫理審査委員会及び規制当局が原医療記録を閲覧できること。その際、被験者の秘密は保全されること。また、同意書（様式）に被験者（又はその代諾者）が記名捺印又は署名することによって閲覧を認めたことになること。 13) 試験の結果が公表される場合であっても、被験者の秘密は保全されること。 14) 被験者が費用負担する場合にはその内容 15) 被験者に金銭等が支払われる場合にはその内容 16) 試験責任医師又は試験分担医師の氏名、職名、連絡先 17) 被験者が試験及び被験者の権利に関してさらに情報が欲しい場合又は試験に関連する健康被害が生じた場合に照会すべき又は連絡をとるべき実施医療機関の相談窓口 18) 被験者が守るべき事項 19) 当該臨床試験の成果により特許権等が生み出される可能性があること及び特許権等が生み出された場合の帰属先 20) 当該臨床試験に係る資金源、起こりうる利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり 21) 説明文書作成日、版 <p>同意書（様式）には、以下の事項を含まなければならない。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 臨床試験名 2) 説明文書作成日、版 3) 説明日、試験責任医師又は試験分担医師の記名捺印もしくは署名欄

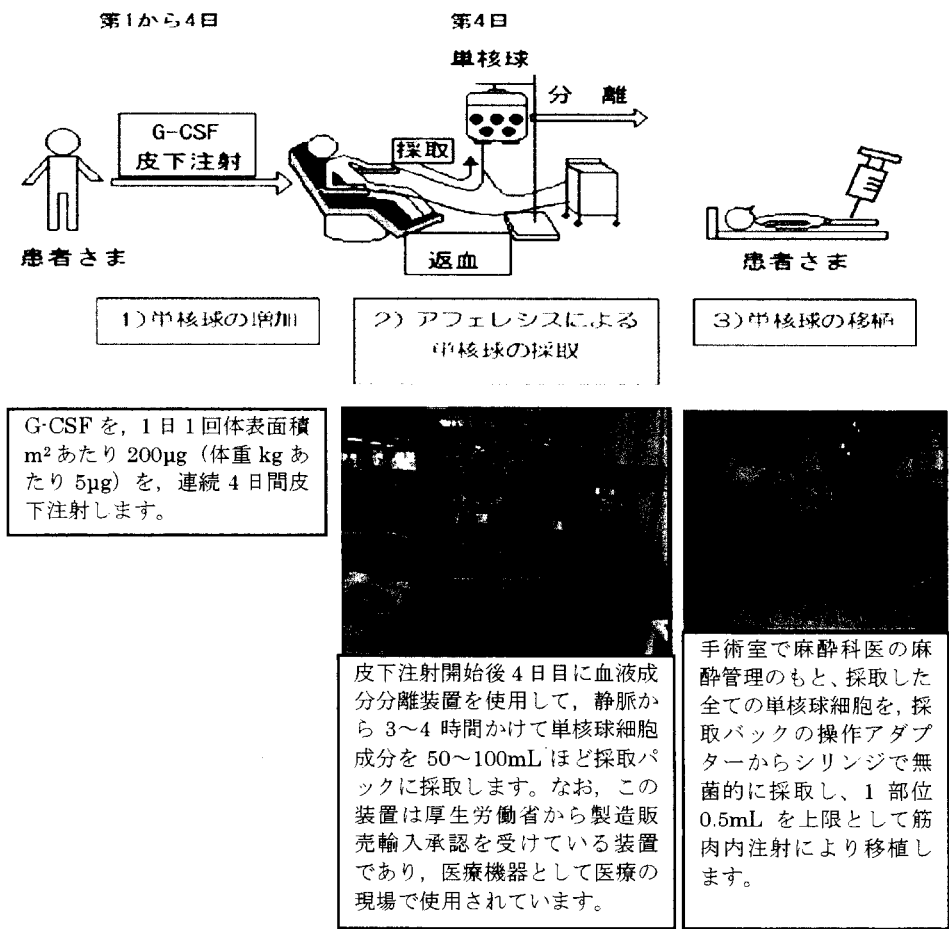
	<p>4) 同意日, 被験者の記名捺印もしくは署名欄</p> <p>5) 説明の内容を理解し, 試験に参加することに同意する旨の記述</p> <p>6) 実施医療機関名</p> <p>同意撤回書には, 以下の事項を含まなければならない。</p> <p>1) 臨床試験名</p> <p>2) 試験責任医師又は試験分担医師の記名捺印もしくは署名欄</p> <p>3) 同意撤回日, 被験者の記名捺印もしくは署名欄</p> <p>4) 試験参加への同意を撤回する旨の記述</p> <p>5) 実施医療機関名</p> <p>試験開始後に試験責任医師が被験者の同意に関連する新たな知見を得, 説明文書・同意書(様式)の改訂が必要と判断した場合には, それを改訂する。被験者の同意に関連する新たな知見とは, 例えば当該治療法等に関連する新たな有害事象の情報, あるいは当該疾患に係る新治療法等の開発に関する情報などを指す。なお, 改訂の内容を重大と判断する場合は所属する医療機関の倫理審査委員会に提出し, その承認を得る。</p> <p>別紙5: 説明同意文書; 参照 別紙6: 臨床試験実施計画書; 19.倫理的事項(41~42頁)参照</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もの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	
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	<p>主任研究者, 研究事務局及び独立データモニタリング委員は, 一次報告後の対応, 二次報告後の対応, 独立データモニタリング委員会による評価・勧告, 対策の決定, 最終報告後の対応を行う。手順の詳細については, 臨床試験実施計画書等を参照のこと</p> <p>別紙6: 臨床試験実施計画書; 12.有害事象・重大な事態の評価・報告(23~25頁)、18.独立データモニタリング委員会(41頁)、22.試験の終了と早期中止(45頁)、27.9.重篤な有害事象発生時の報告・対応マニュアル(82~85頁)参照</p>
臨床研究終了後の追跡調査の方法	最終症例登録から1年後に, 一斉調査(転帰と細胞移植治療実施の有無)を行う。
臨床研究に伴う補償	
補償の有無	<p>×有 ・ ○無</p> <p>本臨床試験のG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植治療実施に起因して有害事象が発生し被験者に健康被害が生じた時は, 適切な治療その他必要な措置を受けることができるように実施医療機関, 試験責任医師, 主任研究者が対応し, 提供される治療等には財団法人地域医学研究基金から助成された施設研究費で支払う。ただし, 被験者への金銭での補償は行わない。</p>
補償がある場合、その内容	
個人情報保護の方法	
連結可能匿名化の方法	<p>試験責任医師及び試験分担医師は, 症例登録票及び症例報告書等を当該医療機関外に提供する際には, 連結可能匿名化を行うために新たに被験者識別コードを付し, それを用いる。医療機関外の者が, 被験者を特定できる情報(氏名・住所・電話番号など)は記載しない。</p> <p>別紙6: 臨床試験実施計画書; 27.7.匿名化番号対照表(78頁)参照</p>
その他	<p>試験に携わる関係者は被験者の個人情報保護に最大限の努力をばらう。データセンターが医療機関へ照会する際の被験者の特定は, 試験責任医師及び試験分担医師が管理する被験者識別コード又はデータセンターが発行した登録番号を用いて行う。原資料の直接閲覧を行ったモニタリング担当者, 監査担当者, 規制当局の担当者などは, そこで得られた情報を外部へ漏洩しない。主任研究者等が試験で得られ</p>

	た情報を公表する際には、被験者が特定できないよう十分に配慮する。
その他必要な事項 (細則を確認してください)	① 当該研究に係わる研究資金の調達方法 本臨床試験は、財団法人地域医学研究基金の助成により実施される。 別紙6：臨床試験実施計画書；20.試験の費用負担（44頁）参照
	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 本臨床試験と同等の治療を、既に下記の6施設が実施しており臨床効果が期待されるが、末梢動脈疾患の推奨治療（TASCII及び日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」）と明確に計画され無作為に割り付けられた大規模な試験を行っていないため、有効性を明確に示唆するまでには至っていない。 ①当該治療を2005年6月に高度先進医療の認定を受け、健康保険法が改正した2006年10月からは先進医療として当該治療を実施。 北楡会 札幌北楡病院 ②当該治療を2006年10月以降、先進医療の認定を受け当該治療を実施。 独立行政法人国立病院機構 千葉東病院 東京医科歯科大学医学部附属病院 ③ヒト幹細胞を用いる臨床研究の倫理指針の施行前(平成18年9月1日以前)に施設の倫理委員会から当該治療の実施の承認を得て単施設の臨床研究として実施。 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 板橋中央総合病院 神奈川県循環器呼吸器病センター 本臨床試験は下記の21施設の参加が予定されている多施設臨床試験として実施され、既存の治療に抵抗性の末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・パージャー病）患者を対象として、TASCII及び日本脈管学会編「下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針Ⅱ」に準じた治療が行われる推奨療法群あるいは推奨療法及びG-CSF動員自家末梢血単核球細胞移植併用治療群のいずれかを無作為に割り付け、この併用治療の有効性と安全性を推奨療法との比較によって評価する。 主任研究者 北楡会 札幌北楡病院 外科 堀江 卓 研究参加予定施設及び試験責任医師 北楡会 札幌北楡病院 外科 堀江 卓 市立函館病院 心臓血管外科 森下 清文 青森県立中央病院 血液内科 久保 恒明 国立病院機構千葉東病院 外科 岩下 力 明生会 東葉クリニック 外科 林 良輔 板橋中央総合病院 血液浄化療法部 赤松 眞 東邦大学医療センター大森病院 腎センター 水入 苑生 東京医科歯科大学医学部附属病院 老年病内科 金子 英司 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 腎センター 星野 純一 慶應義塾大学病院 一般・消化器外科 尾原 秀明 神奈川県立循環器呼吸器病センター 心臓血管外科 市川 由紀夫 東海大学医学部 外科学系 形成外科学 田中 理佳 湘南鎌倉総合病院 腎臓内科 小林 修三 田附興風会 医学研究所 北野病院 血液浄化センター 塚本 達雄 国家公務員共済組合連合会 呉共済病院 内科 久傳 康史 島根大学医学部附属病院 心臓血管外科 織田 禎二 徳島赤十字病院 外科 阪田 章聖 天神会 新古賀病院 古賀 伸彦 長崎大学医学部・歯学部附属病院 血液浄化療法部 錦戸 雅春 有隣厚生会 東部病院 血管外科 花田 明香 財団法人 住友病院 腎センター 阪口 勝彦

本臨床試験の手順



G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療の説明図



添付資料

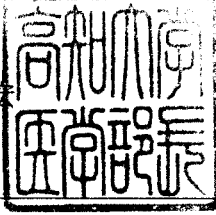
- ㊦ 研究者の略歴および研究業績・・・・・・・・・・・・・・・・別紙 1
- ㊦ 研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況・・・・・・・・別紙 2
- ㊦ 臨床研究の概要をできる限り平易な用語を用いて記載した要旨・・・・別紙 3
- ㊦ 臨床研究に用いるヒト幹細胞の品質等に関する研究成果・・・・・・・・別紙 4
- ㊦ インフォームド・コンセントにおける説明文章及び同意文章様式・・・・別紙 5
- ㊦ 試験実施計画書・・・・・・・・・・・・・・・・別紙 6
- ㊦ 同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況・・・・・・・・別紙 7



ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成 22年 2月 26日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	〒783-8505 南国市岡豊町小蓮
	名称	国立大学法人高知大学医学部
	研究機関の長 役職名・氏名	医学部長・脇口 宏 

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
小児脳性麻痺に対する自己臍帯血 幹細胞輸血による治療研究	高知大学医学部病態情報診断学講座・ 教授・杉浦 哲朗

ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	小児脳性麻痺に対する自己臍帯血幹細胞輸血による治療研究
申請年月日	平成22年2月26日
実施施設及び研究責任者	実施施設：国立大学法人高知大学医学部 研究責任者：杉浦 哲朗
対象疾患	小児脳性麻痺
ヒト幹細胞の種類	ヒトさい帯血幹細胞（自己）
実施期間及び対象症例数	登録期間は2010年9月1日より2014年8月31日 目標症例数は10症例
治療研究の概要	出産時に採取された自己さい帯血を治療に用いる。さい帯血から比重遠心法にて分離された単核球を、ステムセル社の細胞調製施設にて凍結保存する。保存された自己さい帯血幹細胞を脳性麻痺患児に投与し、安全性を評価するとともに、身体的機能障害及び発達障害の回復をはかる臨床研究。
その他（外国での状況等）	現在、自己さい帯血幹細胞を用いての小児脳性麻痺への治療は、米 Duke 大学の Dr. Kurtzberg 研究室で Open Study が実施されている。200 症例以上実施（2010 年 2 月）の経験があり、現在、二重盲検試験を米国 FDA に申請している。
新規性について	自己さい帯血幹細胞を脳性麻痺患者の治療に応用するという新規の臨床研究であり、米国の研究機関以外からの報告はない。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	小児脳性麻痺に対する自己臍帯血幹細胞輸血による治療研究
研究機関	
名称	国立大学法人 高知大学医学部
所在地	〒783-8505 高知県南国市岡豊町小連
電話番号	(代表)088-866-5811
FAX番号	
研究機関の長	
役職	国立大学法人 高知大学医学部長
氏名	脇口 宏 印
研究責任者	
所属	国立大学法人 高知大学医学部病態情報診断学講座
役職	教授
氏名	杉浦 哲郎 印
連絡先 Tel/Fax	Tel: 088 - 880 - 2468 /Fax: 088 - 880 - 2462
E-mail	sugiurat @ kochi-u.ac.jp
最終学歴	関西医科大学大学院(博士課程)終了・医学博士取得
専攻科目	循環器病学(非観血的検査法)・臨床検査医学
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	株式会社ステムセル研究所
所在地	〒105-0004 東京都港区新橋5-22-10 松岡田村町ビル7F
電話番号	03-5408-5279
FAX番号	03-5408-5289
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	代表取締役会長
氏名	大野 典也
臨床研究の目的・意義	①目的

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

小児脳性麻痺に対して、自己臍帯血幹細胞輸血を行い、出生時に損傷した側脳室周囲の神経細胞を賦活化し、脳性麻痺児の身体・知的障害の改善を図り、発達を促すことを目的とする。

主要評価項目は有害事象の有無、種類、重症度、安全度、発現頻度及び発現期間、副次評価項目は一般神経学的診察と理学療法士による、摂食・嚥下・言語障害の評価及び頭部MRI・脳波等の臨床検査を実施する。

②背景と根拠

小児脳障害は一旦発症すると、生涯にわたり身体・精神の機能およびQOL(生活の質)を著しく損なう難治性の疾患である。しかし、脳傷害に対する根本的な療法はなく、リハビリテーション等の対症療法を行っているのが現状である。

近年、米国デューク大学のJ.Kurtzberg教授を中心としたチームはまず初めに先天性の代謝疾患の治療にさい帯血を利用することを試みた。この試みの代表的なものはハーラー症候群50症例、クラッペ病36症例など160症例¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾に及ぶ。これら重篤な脳神経障害を伴う疾患の治療経験とその結果が良好であった。脳性麻痺、新生児低酸素虚血性脳症や、さらには先天性の水頭症そして急性脳障害(水没、外傷)等、難治性脳障害児に対して自己さい帯血による細胞治療の臨床研究を可能にした。現在、デューク大学で脳性麻痺等、難治性脳障害児に関するさい帯血幹細胞治療による臨床研究のオープンスタディが2005年から開始され、2010年2月で200症例が実施されている。2009年1月17日のステムセル研究所主催の日本でのJ.Kurtzberg教授招待講演(順天堂大学医学部講堂)では、脳性麻痺の治療効果について細胞投与1年後の正式な診察評価で8例中6例に改善効果があったと発表(論文は未発表)し、有害事象は見られなかったと報告された。

同様に、台湾Chang Gung Childrens病院では、脳性麻痺児に対して、自己臍帯血幹細胞輸血を行った症例(2症例)が報告された。また、メキシコのRamirezらのグループは脳性麻痺児に非自己(アロ)臍帯血を投与することにより、8例中6例(75%)に症状の改善を認めたという報告もある⁶⁾。

また、ジョージア医科大学⁷⁾で脳性麻痺児への自己さい帯血を使用した臨床研究がFDAの認可のもとに実施されようとしている。

また、アリゾナ大学、カルフォルニア大学サンディエゴ校も臨床研究の準備

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

を進めている。

さらに、テキサス大学では外傷性脳損傷児への自己臍帯血を使用した治療が開始され、米国を中心に自己臍帯血治療が盛んに行われつつある。

現在、本邦においては、神経再生の治療として、札幌医科大学と国立循環器病センターで脳梗塞患者に対して骨髄系幹細胞の静脈投与を用いた臨床試験が始まっている。

また、骨髄系幹細胞と同様に、臍帯血幹細胞を虚血性あるいは外傷性脳損傷ラットに投与して行動学的に改善効果があることが複数の施設で報告されている 8) 9) 10) 11) 12) 13)。

これらの報告によると、主としてさい帯血幹細胞の体内での作用機序は、虚血による脳神経障害を受けた場合に、障害部位からは α 、 β ケモカインが分泌される14)。この時に、さい帯血幹細胞を静脈内投与すると、脳血液関門を通過し、損傷部位へ遊走する。次にさい帯血幹細胞由来のCD34陽性細胞が血管新生因子(VEGF: 血管内皮増殖因子、HGF: 肝細胞増殖因子、IGF: インシュリン様増殖因子等)を分泌するとともに、血管内皮細胞に分化・増殖し、新しく血管を形成する15)。

次に、新生した血管を通じて、障害部位の周囲の損傷した神経細胞へ酸素、栄養素を補給し修復が行われる。同時に、さい帯血中の神経前駆細胞、グリア前駆細胞が分化し、神経の再生修復が障害部位でおこなわれる。さらに、自己の神経幹細胞が刺激を受け、神経細胞に分化し、再生修復されると考えられている。脳梗塞の臨床研究は成人の脳卒中後遺症が対象として始まったが、その幹細胞投与の脳内作用機序ならびに脳の可塑性と発達の臨界期(敏感期)を考慮すると、小児脳性麻痺疾患に対して臍帯血幹細胞輸血を施行することは、成人と同等かそれ以上の効果が期待できる治療法であると予測できる。

脳性麻痺は、重篤な仮死で生まれた場合以外は未熟児・多胎児に発生頻度が多いことは疫学的に判明しているが、その原因は不明なのが現状である。

しかしながら、近年、米国心臓協会・米国脳卒中協会より、その原因は多くのケースは出産前後の脳卒中が原因かもしれないと発表している。また、米国国立神経・脳卒中研究所では、周産期の胎児・新生児は

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

1/300~1/5000が脳卒中に侵され、そのうちの30%が脳性麻痺になると推定されると発表している。

脳卒中による虚血が主な原因の一つとなっていることが明らかになってきていることより、我々は脳性麻痺疾患に対して自己さい帯血幹細胞輸血の安全性・有効性を確立するためにヒトさい帯血幹細胞に寛容な免疫反応をもつNOD.CB17-Prkdc scid/J (NOD-scidマウス)の脳虚血モデルを作成し、実験を行った。

細胞治療を目的として、治療に使用する当該細胞の開発にあたって、最も重要な点は使用する臍帯血には主要組織適合性抗原(MHC)分子が投与細胞表面に発現している為に投与細胞とレシピエントとが異なると当然、免疫反応が惹起される事である。この点に於いても開発中の治療方法では患者と投与細胞との MHCの完全一致の確認を必要としている所以である。本件に在っては、自己のさい帯血のみを当該細胞として使用する事で、この問題の解決をはかる事を特色としている。

さて、ヒトさい帯血細胞の安全性と有効性との証明に異種動物細胞で証明可能かと云う問題がある。即ち、サルモデル実験にサルのさい帯血細胞を使用して、当該ヒトさい帯血細胞の安全性と有効性を証明または、推論可能かと云う問題である。サルやイヌやマウスのさい帯血がヒトさい帯血と等価であるとは断言できる保証はない。

かかる理由から、われわれの考察の結果は、治療目的で使用される細胞を異種に変更する事は好ましくないと判断した。こうした条件下での前臨床研究のデザインにおいて、考慮した点を以下に箇条書きする。

- ①免疫学上の問題点：細胞治療の場合には、当然の事であるが生細胞を投与する。この時、宿主の免疫系が強く関与する事が想定される。
- ②ことに細胞性免疫の関与が問題となると考察される。
- ③理想的にはT-細胞系、B-細胞系さらにはNK-細胞系も抑制されている系統化された動物の使用が理想である。
- ④脳神経系の機能障害とその機能回復を客観的に評価可能な実験系の確立している必要がある。
- ⑤有効性の評価に於いては、客観性の保証の為に系統化された実験動物群を使用することが望ましい。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

以上の諸点を考察して、NOD/scidマウスを使用することとした。このマウスの場合には宿主免疫系のT-細胞系、B-細胞系さらにKN活性も抑制されている事が確認されている系統化された実験動物である。

他の実験可能な諸動物、イヌ、ミニブタ、サル類で目的に適合した、免疫不全または、免疫抑制状態にある動物の存在を探索し、その入手を試みたが、現時点でこの様な動物の存在を見いだすことは出来なかった。

またマウス、イヌ、サルの臍帯血の入手は困難であり、殊にサルの場合には社会的な理由から妊娠サルや新生児サル及び幼若個体を用いての試験はわが国では極めて困難である。

更に、大動物を用いての安全性の検討にたとえば、サルのさい帯血をサルに投与する試験で、ヒトのさい帯血の安全性を証明する事は不可能である。また、免疫系の正常なサルにヒト細胞を投与投与した場合にはNK細胞等により短期間に排除される事が想定されるので、安全性の試験は成立しない。上記の理由から大動物での安全性試験を割愛する事とした。

実験的に脳虚血に伴う脳障害を付与したNOD-scidマウスに、ヒトさい帯血幹細胞を尾静脈から投与した群では実験第1日目で顕著な脳血流量障害を確認し、第34日には顕著な改善を見た。更に神経学的異常行動の正常化、自発運動量の改善傾向、記憶学習能力の上昇、大脳実質の修復を確認することができた。

安全性に関してはさい帯血投与マウスの解剖時の所見として肺・肝・腎・脾臓の肉眼的異常は認められなかった。

大脳全域ことに脳皮質、白質、灰白質部、海馬、上衣細胞部等総てに於いて顕著な変化は認められず、異所性増殖を呈している組織所見は全く観察されなかった。以上前臨床試験に於いてヒトさい帯血幹細胞は極めて安全であると結論した。

更に、さい帯血の他の適応症例とし、先天性の奇形児への手術の際や術後には、自己のさい帯血全血輸血は一般的に行われている。

さらに悪性腫瘍の治療目的では同種(アロ)臍帯血移植は広く全世界的に標準治療として確立し、骨髄移植を凌駕しつつ有る状況であるが同種臍帯血移植の場合には細胞性免疫機構が発動し時として重篤な有害事象(アナフィラキシー、遅延型アレルギー、GVH等)を伴う場合も予想される。

また、一方自己臍帯血移植の場合には重篤な免疫反応の発症を診た事例は

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

一例も報告されていない自己臍帯血のステムセル分画を投与する治療方法は、その安全性に関して十分な配慮と手技の下で実施されれば、安全な医療行為である。

上記のマウス実験結果から、投与の安全性及び神経学的、機能的な改善が見られたこと、さらに自己さい帯血幹細胞分画を投与する場合は、実施状況と安全性が証明されていることから、脳障害児への自己さい帯血幹細胞の投与は妥当な医療行為であると判断した。

本研究では、脳性麻痺に伴う身体的麻痺・感覚発達遅滞の快復の新たな治療法として、脳性麻痺児に対して、自己さい帯血幹細胞を輸血する再生医療を実施し、その安全性を評価し、副次的に有効性の評価、実施可能性を評価することを目的とした。

③意義

本研究の意義は小児脳性麻痺患者を対象とした自己さい帯血幹細胞移植の安全性を明らかにし、主症状である手足の麻痺や知的障害の改善をはかる新たな再生医療の確立の礎を築くことにある。

この治療法により、小児脳性麻痺患者の長期的な生活の質の向上および早期の社会復帰の実現に大きく寄与することが期待される。

臨床研究の対象疾患

名称	小児脳性麻痺
選定理由	小児脳障害(脳性麻痺、水頭症、低酸素虚血脳症、外傷性脳損傷等)は一旦発症すると生涯に渡り身体・精神の機能およびQOL(生活の質)を著しく損なう難治性の疾患である。しかし、脳障害に対する根本的な治療法はなく、リハビリテーション等の対症療法を行っているのが現状である。特に小児脳性麻痺は小児脳障害の中でも発症頻度が高く、かつ、原因が未だほとんど解明されていないこと、重症度の高い患者のQOLの改善が困難であるということより対象とした。
被験者等の選定基準	選択基準 1) 計測可能な障害の認められる者

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>2) 自己臍帯血が使用に適する条件で保管され、かつ利用可能な者</p> <p>3) 文書によるインフォームドコンセントが得られている者</p> <p>4) 心、肺、肝、腎、血液など実質臓器に著しい障害が無い者</p> <p>5) 3ヶ月以上生存可能と判断される患者</p> <p>除外基準</p> <p>1) 自己免疫疾患(慢性関節リウマチ等)を有する者</p> <p>2) HBs抗原またはHIV, HCV(PCR法)陽性の者</p> <p>3) 消化管出血コントロール不可能な消化性潰瘍を有する者</p> <p>4) 重篤な感染症を有する者</p> <p>5) コントロール困難な糖尿病を有する者</p> <p>6) 他の試験薬を投与中の者</p> <p>7) その他、試験担当医師が本試験の対象として不相当と判断した者</p>
臨床研究に用いるヒト幹細胞	
種類	ヒトさい帯血幹細胞
由来	(自己) 生体由来
採取、調製、移植又は投与の方法	<p>さい帯血幹細胞の分離と輸血プロトコル</p> <p>さい帯血の分離及び凍結保存はステムセル社で行い、その保存と保存細胞の治療施設までの輸送については分娩までに胎児の母および家族とステムセル社で契約されている。</p> <p>1) さい帯血の採取方法</p> <p>さい帯を十分にアルコール綿で拭き、さい帯血バック(CPD添加)にて採血する。</p> <p>2) さい帯血の搬送(ステムセル社)</p> <p>採血後、施設名、母親名を付したものを48時間以内に25℃以下で搬送用バックにてステムセル研究所に搬送する。</p> <p>3) さい帯血幹細胞のさい帯血からの分離と調製(ステムセル社)</p> <p>①さい帯血をハクス緩衝液(HBSS)にて3.5倍に希釈。</p> <p>② Ficoll-Paque PREMIUM(GE社)を用いた比重遠心法(1200rpm,30分)</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

にて単核球層を分離する。

③ HBSSにて3回洗浄する。

4) さい帯血幹細胞の凍結保存(ステムセル社)

① 凍結保存用培地の調製

処方: 希釈自己血漿 * 0.20ml, RPMI1640 (SIGMA社) 0.75ml,

DMSO (MERCK 社) 0.075ml, 全1.025ml .

希釈自己血漿の成分: 成分: 自己血漿 0.45~0.9ml, HBSS (SIGMA社)

1.5ml, 生理食塩水(日局) 2.55~2.1ml, 全 4.5ml.

② 上記培地を加え, チュルク染色液で細胞数をカウントする。

③ 上記凍結保存用培地にて $10^7 \sim 10^8$ /mlになるように濃度調製し,
2mlクライオチューブに1ml/チューブに分注し, 二次元バーコードのラベル(検体に保管者識別コード, 登録番号等を付す)を各チューブに貼り,
24時間マイナス80°Cで凍結し, ついで液体窒素タンク内にて気相保管
する。

④ ③の細胞の一部を使い, フローサイトメーター(ステムセル社)にて
CD45陽性細胞, CD34陽性細胞の生存率と数を測定する。

⑤ ③の細胞の一部を使い, 無菌試験を外部(三菱化学メディエンス)
に委託する。

4) 保管さい帯血幹細胞の搬送(ステムセル社)

① 保管さい帯血細胞が無菌であることを確認する。

② 凍結保管してある試験用サンプルを用いて細胞と細胞ドナーの末梢血
についてHLAを検査し, 一致することを確認する。

③ 感染症試験(HBs抗原, HCV, HIV, HTLV-1, CMV, 梅毒)を行い,
陰性であることを確認する。

④ 検査確認済みの凍結保管した細胞を液体窒素入りの簡易型輸送
タンク(商品名, ミニムーバー)に入れ, 治療施設へ搬送する。

5) さい帯血投与前検査(高知大学)

自己さい帯血投与予定の3日前から, 以下の検査を実施する。

患者の身体検査, 血液検査, 診察, 理学療法士による摂食, 嚥下,

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

言語障害の評価を行う。画像診断として脳波、頭部MRI、SPECT、FDG-PETを行う。

6) さい帯血投与前処置(高知大学)

患者の診察、点滴投与の静脈ルートの確保。

前処置薬の投与:解熱鎮痛薬(アセトアミノフェン10mg/kg)ステロイド剤(メチルプレドニゾロン0.5mg/kg)、鎮静剤(ジフェニールファイドラミン10mg/kg)。(患者の状況に応じて、投与量を増減又は投薬しないこともある。)

7) DMSOの除去とさい帯血幹細胞液の調製(高知大学)

一度の治療で輸注する全ての希釈自己血漿チューブ(4.5ml×2~3本)をビニール袋に入れ、37℃の温水中にて急速融解する。

融解した希釈自己血漿を全てシリンジに吸引しておく。

凍結保存した細胞チューブを37℃の温水中にて急速融解し、完全に融解する前に希釈自己血漿入りのシリンジでさい帯血幹細胞を吸引し、細胞液を十分に混和させる(全量約13~15ml)。

その細胞液を遠心管に移し自己血漿5%添加の滅菌生理食塩水15mlを加え、約30mlに調製し、1800rpm、10分間遠心分離する。DMSOを含む上澄液を廃棄し、残渣に自己血漿5%添加の滅菌生理食塩水15mlを添加し、投与細胞液とする。

8) さい帯血幹細胞液の輸血(高知大学)

調製した細胞液を点滴静注する。終了間際に細胞バックを滅菌生理食塩水15mlで共洗いし、共洗い液も含めて約15分間で点滴静注する。

生理食塩水の投与100mlを約1時間で点滴静注する。

細胞投与生理食塩水の点滴静注時は以下をモニタリングする。

心拍数、心電図、血圧、さい帯血投与後の検査、患者の診察。

調製(加工)行程	無	
非自己由来材料使用	無	動物種()
複数機関での実施	有	

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

他の医療機関への授与・販売	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。(詳細は「臨床研究の実実施計画」の「8. 有害事象の定義および評価」「9. 主要エンドポイント」を参照。
臨床研究の実施が可能であると判断した理由	<p> 研究責任者らはヒトさい帯血中に存在する多能性の幹細胞に着目し、この細胞の臨床応用の可能性を検討してきた。この分野で先駆的な臨床研究を進めている米国デューク大学のJ.Kurtzberg博士の協力によりその詳細の提示を受けた。その上で、前臨床研究を以下の様にデザインした。 </p> <p> その要点は1) 実験動物に投与する細胞は当該臨床研究と全く同等な条件で分離保管し、調整した「ヒトさい帯血細胞」とすること。2) 宿主動物は免疫抑制状態にある事、即ちT-細胞系、B-細胞系さらにNK活性も抑制状態にある事が望ましい。3) 当該臨床研究の性格から、脳神経系の機能快復の有無を最も重要な評価項目とした。4) 安全性の確認として、実験最終日に免疫組織学的染色を含む病理組織学的解析を試みた。 </p> <p> 前臨床試験のより客観性の保証から外部機関に委託する事とした。 </p> <p> 実際のNOD/scid マウス を使用しての実験結果は極めて良好であった。 </p> <p> (2. 細胞品質関連書類 3. 1 非臨床試験成績参照) </p> <p> 即ち、安全性の検討の目的での体重測定、観測最終日に全例の剖検を施行した結果、マクロ病理では全く異常は認められなかった。更に総ての実験群のマウスの脳を摘出し免疫組織染色を含む病理組織学的解析を試みた。その結果ヒトさい帯血細胞投与群に有っても、実験最終日(34日)にはヒト細胞の存在を示唆する所見は無く、さらに投与細胞が異所性に増殖を来している等の異常所見は脳神経系全域に於いて、全く観察されなかった。殊に当該マウスは免疫学的には外来細胞を除去する能力の極めて低い環境下である事から、ヒトさい帯血は安全であると結論された。 </p> <p> 有効性に関しては、神経学的評価試験(NDS)さらにモリス水迷路試験等の結果、ヒトさい帯血細胞投与群は対照(PBS投与)群と比較して顕著な脳血流量の快復、神経学的異常行動の正常化、自発運動量の増加、記憶学習能力の増強等の脳神経機能の明確な改善傾向を観察した。 </p> <p> さらにわれわれは、予備実験に於いて、投与細胞が脳血液関門を通過して、損傷局所に集積し血管新生を促進している事を確認している。 </p>