

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 (代表) 0263-37-3024 (総務課)
	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 努

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
Type I collagen を担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による軟骨欠損修復	信州大学大学院医学研究科 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の概要

研究課題名	Type I collagen を担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による軟骨欠損修復
申請受理年月日	平成 19 年 10 月 1 日
実施施設及び 総括責任者	実施施設：信州大学医学部附属病院 総括責任者：加藤 博之
対象疾患	離断性骨軟骨炎・外傷性骨軟骨損傷・若年者の特発性膝骨壊死・変形性関節症に伴う骨軟骨障害
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 13 歳から 65 歳までの 10 症例
治療研究の概要	治療困難であり、自然修復が期待できない重症化した上記軟骨疾患（特に若年者）を対象とし、患者の骨髄液から採取した骨髄間葉系幹細胞を増幅した後、担体であるコラーゲン（アテロコラーゲン・ペルナック）に包埋させる。採取より数週間後、軟骨欠損部に外科的に移植して表面を骨膜でパッチすることで、軟骨欠損部および軟骨下骨の早期修復を図る。
その他（外国での状況等）	軟骨損傷に対する治療は従来、骨髄刺激法、モザイクプラスチック、自己培養軟骨細胞移植などが行われているが、骨髄間葉系幹細胞移植に関しては、1994 年 Wakitani らによりウサギ膝関節軟骨欠損に対して MSC 移植後、硝子軟骨様組織が形成されることが示されたのを期に、2002 年ヒト膝蓋骨軟骨損傷への臨床応用例が初めて報告された。それ以降、下肢関節軟骨を中心とした国内での臨床応用が、少数例ではあるが報告されている。
新規性について	これまで、骨髄間葉系幹細胞による軟骨再生の臨床研究は国内では産業技術総合研究所を中心に行われてきたが、今研究は申請者である信州大学医学部附属病院として初めて行われる研究であり、また上肢の骨軟骨損傷に対する同様の治療報告はなく、新規性を認める。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	Type I collagen を担体とする培養自己骨髄間葉系細胞移植による軟骨欠損修復
研究機関	
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)
研究機関の長	
氏名	勝山 努
役職	信州大学医学部附属病院長
研究責任者	
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	0263-37-2659/0263-35-8844
E-mail	hirokato@hsp.md.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
その他の研究者	添付書類1参照
臨床研究の目的・意義	<p>関節軟骨が損傷されると、軟骨下骨同士が擦れ合い摩擦が大きくなり、また衝撃が直接軟骨下骨に伝わるため軟骨下骨が損傷しやすく、骨硬化あるいは疼痛が生じ、将来的には変形性関節症(OA)に移行すると考えられる。しかしながら、関節軟骨の修復能力は非常に弱く、いったん損傷されると、本来の組織である硝子軟骨で修復されることはないと考えられており、現在のところ、関節軟骨を完全にかつ確実に修復する方法は確立されていない。</p> <p>従来、このような軟骨損傷に対しては古くから骨髄刺激法(drilling, abrasion, microfracture)が行われてきた。この方法は軟骨下骨を削り出血させることで骨髄中の間葉系細胞を動員し修復を得る方法である。特別な手技や道具は必要無く簡便に施行できるため昔から広く行われてきたがこれにより再生されるのは線維軟骨であり長期にわたり本来の硝子軟骨同様の機能を維持できるかは分かっていない。また、近年ではモザイクプラスチック・自己培養軟骨細胞移植などが行われるようになってきた。しかしこれらの方法</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>は膝関節を切開し正常の軟骨組織を犠牲にしなければならないという欠点がある。また、前者は本来の関節表面の曲率を再現するのが困難でありまた対応できる欠損の大きさには限界がある。後者においても移植した組織が周囲の関節軟骨や軟骨下骨との間で強固に結合するかは不明であり近年の報告では再鏡視で部分剥離が見られたとの報告もある。</p> <p>このため我々は関節軟骨を修復する新たな方法の一つとして骨髄間葉系細胞を用いることを考えた。骨髄間葉系細胞は骨髄系の接着細胞で一部が骨・軟骨・筋肉・脂肪等の間葉系組織に分化する能力を持つ。骨髄血から容易に採取可能であり10日間で2000倍にも増殖するため臨床応用に適し、いくつかの組織の再生医療に応用が試みられており、我々も軟骨再生において良好な結果を得ている。当方法の利点は局所麻酔で移植源である細胞を採取できること、増殖させた状態で移植すること、また、軟骨だけでなく軟骨下骨の修復も期待できることから従来の方法に比してより良い軟骨修復を得られる可能性があるものと思われ、治療が困難な若年者に対しても有用な方法であることが期待される。</p> <p>また当方法で関節軟骨を再生することが可能になれば軟骨欠損による症状を緩和させ、OAへの進行を予防することにより将来人工関節や関節固定術などの手術治療を回避することができると考えられる。</p> <p>今回我々は各疾患における骨軟骨障害に対して骨髄間葉系細胞移植を行い、この治療の安全性および臨床効果の評価を本臨床研究の目的と考えている。</p>
<p>臨床研究の対象疾患</p>	
<p>名称</p>	<p>離断性骨軟骨炎・外傷性骨軟骨損傷・若年者の特発性膝骨壊死・変形性関節症に伴う骨軟骨障害</p>
<p>選定理由</p>	<p>上記の疾患は若年者に発生し重症例の場合治療は困難であり、また、関節軟骨の自然修復も期待できない。一度関節軟骨の損傷が生じ、これが残存すると関節表面の摩擦が大きくなり滑動性も悪くなる。これを放置すると更に軟骨の損傷が進み関節の変形も進行し、重度の変形性関節症（OA）の状態に移行する事が分かっている。中高齢者に比べ若年者のOAは痛みや可動域制限、運動障害によりその後の将来にわたり運動や日常・社会生活に大きな影響を及ぼすものと考えられる。</p> <p>そして上記疾患は臨床経過が把握されており、画像判定による病期分類等も確立され、X線・MRI・術後の再鏡視画像や生検組織から治療の効果判定が可能である。また、従来の治療法の有効性・安全性も明らかになっている。このため今回の方法の有効性、安全性を評価する対象疾患として適切であると考えた。</p>
<p>被験者等の選定基準</p>	<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） 臨床所見として各関節の腫脹・疼痛・可動域制限を認めるも</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>の</p> <p>(2) 画像所見 (X線・MRI・関節鏡所見) から下記の病期を満たすもの</p> <p>離断性骨軟骨炎: ICRS classification of OCD の class III・IV</p> <p>外傷性軟骨損傷: Outerbridge 分類の stage IV</p> <p>特発性膝骨壊死: 腰野の分類の stage III・IV</p> <p>変形性関節症: Kellgren-Lawrence 分類の Grade III・IV (添付文書 4 画像評価基準参照)</p> <p>の患者</p> <p>(3) 13 歳以上 65 歳以下の患者</p> <p>(4) 本人より文書にて同意が得られている患者</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、抗生物質によるアレルギー歴もないことを確認する。13 歳から 19 歳までの対象者については両親あるいは親権者を代諾者としてインフォームド・コンセントを得る (被験者に対してもインフォームド・アセントを得る)。20 歳以上については知的障害者、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>
<p>臨床研究に用いるヒト幹細胞</p>	
<p>種類</p>	<p>骨髄間葉系幹細胞</p>
<p>由来</p>	<p>自己・生体由来</p>
<p>採取、調整、移植又は 投与の方法</p>	<p>製品標準書(関節軟骨再生用培養細胞標準書)参照。</p>
<p>調製(加工)行程</p>	<p>有</p>
<p>非自己由来材料使用</p>	<p>有 動物種(ブタ・ウシ)</p>
<p>複数機関での実施</p>	<p>有</p>
<p>他の医療機関への授与・販売</p>	<p>無</p>
<p>安全性についての評価</p>	<p>細胞の培養・調整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」、「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>また培養調整段階では形態観察、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(詳細は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)、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。</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</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>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、4週、8週、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のチェックをする。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>Wakitaniらはウサギの膝関節軟骨欠損の実験系を用い骨髄間葉系細胞移植を行った（文献1）。骨髄血を採取し接着細胞を培養、これを骨髄血に包埋し骨軟骨欠損部に移植した。移植後2週間で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が形成され、24週で軟骨下骨も完全に修復された。</p> <p>この実験により骨髄間葉系細胞移植により骨軟骨欠損の修復が促進されることが明らかになったためこれをヒトの膝蓋骨軟骨損傷に、に応用した（文献2）。この治療施行後臨床症状は改善し再鏡視においても軟骨欠損部においても良好な修復を認めた。また変形性膝関節症の骨切り患者を対象に骨髄間葉系細胞移植を行い、非移植群をcontrolとしてその有用性を評価した（文献3）。結果、臨床症状には有意差が認められなかったが鏡視上や生検組織上は移植群において良好な軟骨修復が得られていた。</p> <p>また、Kurodaらも当方法を用いて骨軟骨欠損の治療を行い、7ヶ月の時点で鏡視上欠損部の修復がみられ組織学的にサフラニンOやトルイジンブルーに濃染する硝子軟骨様組織と軟骨下骨の再生を確認したと報告している。（文献4）</p> <p>動物実験や他施設での良好な治療成績を踏まえ、当院においても2003年より骨軟骨損傷の治療として10例に対して骨髄間葉系細胞移植を行ってきた。成績はいずれも良好でその一部を報告している。（文献5）</p> <p>また、動物実験や臨床症例の中で術後感染や異常な修復、癌化等を生じた事は無く安全性の高い方法であると考えられる。</p> <p>従来、細胞培養の工程は産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門に委託して行っていたが、今回我々は当院に開設された先端細胞治療センター（CPC）を使用して当研究の実施を予定している。このCPCはGMPに準拠しており、技術的な部分も産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門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 1 : Wakitani S: Mesenchymal cell-based repair of large, full thickness defect of articular cartilage. J Bone Joint Surg 76-A:579-592, 1994</p> <p>文献 2 : Wakitani S: Autologous bone marrow stromal cell transplantation for repair of full-thickness articular cartilage defects in human patellae: two case reports. Cell</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>Transplant vol13:595-600, 2004.</p> <p>文献 3: Wakitani S: Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal cell transplantation for repair of cartilage defects in osteoarthritic knees Osteoarthritis and Cartilage 10: 199-206, 2002.</p> <p>文献 4: Kuroda R: Treatment of a full-thickness articular cartilage defect in the femoral condyle of an athlete with autologous bone-marrow stromal cells. Osteoarthritis and Cartilage 15 (2): 226-231, 2007.</p> <p>文献 5: Wakitani S: Repair of articular cartilage defects in the patello-femoral joint with autologous bone marrow mesenchymal cell transplantation: three case reports involving nine defects in five knees. J Tissue Eng Regen Med. in press, 2007.</p>
<p>臨床研究の実施計画</p>	<p>当施設では 2003-2006 年の間に 10 例の患者に対して同治療を行った実績がありこのため年間 3 例前後、3 年間で 10 例を目標として評価を行う予定である。</p> <p>(1) 骨髄血採取</p> <p>(2) 幹細胞の培養・調整</p> <p>(3) 再生軟骨の移植 (手術)</p> <p>(4) 術後評価</p> <p>の各段階に分けて記載する。</p> <p>(1) <u>骨髄血採取</u> 添付書類 2 (自己骨髄細胞採取マニュアル) 参照</p> <p>(2) <u>幹細胞の培養・調整</u> 製品標準書 (関節軟骨再生用培養細胞標準書) 参照</p> <p>(3) <u>再生軟骨の移植 (手術)</u> 添付書類 3 (再生軟骨移植マニュアル) 参照</p> <p>(4) <u>術後評価</u></p> <p>①臨床評価: 臨床評価基準として 肘関節: Mayo elbow performance score 膝関節: Lysholm score 足関節: AOFAS score (添付文書 4 臨床評価基準参照) を用いて術前・術後 3 ヶ月・6 ヶ月・1 年、1 年から 10 年は 1 年毎に評価を行う。</p> <p>②単純 X 線像: 関節裂隙・軟骨下骨の状態・関節症の進行の有無を評価する。関節症の進行度は Kellgren-Lawrence grading scale</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

(添付文書4 画像評価基準参照)を用いて客観的評価を行う。術前・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。

③MRI検査:

経時的な軟骨の厚み・性状・輝度の変化を評価し、Hendersonの評価基準(添付文書4 画像評価基準参照)を用いて客観的評価を行う。術前・術後3・6・1年で撮影。1年から10年は1年毎に撮影する。)

④関節鏡:

術後1年の時点で関節表面の軟骨の性状(平滑性・色調・硬さ・移植した骨膜の状態)を評価するために行う。また、痛みや関節の腫脹などが生じた場合においても適宜行い移植した軟骨の状態を評価する。

⑤超音波検査:

術後1年の再鏡視時に再生軟骨の物性的性質を定量的に評価するために、移植後1年時の関節鏡検査時にHattoriらの開発した超音波探素子を関節内に挿入し、移植部中央に箇所測定点で軟骨の反射エコーを測定する。

⑥病理検査: 関節鏡を行った際に再生組織の一部を生検し、HE染色、トルイジンブルー染色を行いWakitani score(添付文書4 画像評価基準参照)を用いて客観的組織学的評価を行う。

<エンドポイント>

- (1) 術前・術後1年での各関節の臨床評価基準における点数
- (2) 術前、術後1年でのX線画像におけるKellgren-Lawrence分類による病期
- (3) 術前・術後1年でのHendersonのMRI評価基準における点数
- (4) 術前・術後1年での超音波での強度評価
- (5) 術後1年での再生組織の生検のWakitani scoreでの評価

<解析方法>

- (1) 手術前と術後1年での臨床点数を比較し、改善度(術後1年時臨床評価点数/術前臨床評価点数)を算出する。
- (2) 手術前の病期と術後1年目あるいは治療の中止時の病期を判定し、病期が進行した症例を病期進行例と分類し、病期進行割合(病期進行例数/細胞移植施行例数×100%)を算出する。
- (3) 手術前と術後1年でのMRI評価点数を比較し、改善度(術後1年時評価点数/術前評価点数)を算出する。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>(4) 術後 1 年での超音波での評価(正常軟骨の最大強度に対する再生軟骨の最大強度の割合)を最大強度比として算出する。また移植手術時に測定した最大強度比(正常軟骨の最大強度に対する損傷軟骨の最大強度の割合)と比較し改善率(術後 1 年最大強度比/移植時最大強度比)を算出する。</p> <p>(5) Wakitani score の点数</p> <p>また、肘関節に関しては対照群として申請者が過去に mosaicplasty による軟骨修復を行った 12 例の成績 (Am J Sport Med., 2007) を用い、本研究の評価値と比較検討する。</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> <ol style="list-style-type: none"> 1. 死亡にいたるもの 2. 生命を脅かすもの 3. 治療のため入院または入院期間の延長が必要なもの 4. 永続的または顕著な障害/機能不全に陥るもの 5. 次世代に影響が及ぶと思われるもの <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"> 1. 被験者または代諾者の不参加表明 2. 有害事象が生じたとき 3. 培養中の感染等培養過程での事故 <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・コンセントして一般的な治療法(骨髄間葉系細胞刺激法・モザイクプラスチック)で治療を進めるかどうかを確認する。</p>
<p>被験者等に関するインフォームド・コンセント</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)骨髄血採取時、(3)移植手術前の計 3 回おこなう。</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

説明事項

(被験者の受ける利益と不利益を含む。)

- 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
- 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。

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

今回の対象疾患である離断性骨軟骨炎の発症年齢は平均 15 歳で、骨端線閉鎖前の若年者に多く発症する事が知られている。また申請者は肘離断性骨軟骨炎において 20 歳以上の発症は稀であることを報告している (Clin Orthop Related Res. 1999)。さらに本症の ICLS class III, IV を放置した場合は、将来において約 50%の患者が変形性肘関節症に移行し、成人あるいは高齢者において障害が徐々に進行することも明らかにしている (Clin Orthop Related Res. 1999)。膝・足関節の離断性骨軟骨炎が 10 歳台に生じることは肘関節ほど多くはないが、もし 10 歳台に生じた場合は加重関節であることから肘関節以上に高頻度にかつ重度の変形性関節症が発生することは明らかである。したがって、離断性骨軟骨炎患者全体の健康を増進させ、将来的に就学・運動・就労に障害の少ない関節を獲得するには本研究は必要不可欠であり、本研究は法的に無能力な未成年者を対象として含まざるを得ない。しかし、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があると判断し、エントリー年齢を 13 歳以上とした。

代諾者の選定方針

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

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>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。</p> <p>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>
<p>その他</p>	<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ることがないようにする。</p>
<p>その他必要な事項</p>	<p><u>＜ヒト幹細胞臨床研究にかかる研究資金の調達方法＞</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>＜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＞</u></p> <p>当研究に関しては2000年より我々の研究グループでのみ行われており、また、上肢の骨軟骨損傷に対する同様の治療の報告はなく新規性の高い臨床研究であるものと思われる。</p> <p>他施設での実施状況</p> <p><u>＜産業技術総合研究所＞</u></p> <p>当院の共同研究機関で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ある。軟骨再生に関しては旧国立大阪南病院（現 国立病院機構大阪南医療センター）、信州大学、神戸大学、兵庫医科大学との共同研究にて約20例前後の症例に対して同治療を行っている。</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
- 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

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

- 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：参考文献 1－5）
- その他（資料内容：製品標準書（関節軟骨再生用培養細胞標準書））
- その他（資料内容：添付文書 1－3）

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 努

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の概要

研究課題名	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
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	骨嚢腫、非骨化性線維腫、線維性骨異形成症、内軟骨腫、骨巨細胞腫
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 13 歳から 65 歳までの 10 症例
治療研究の概要	若年者に多い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での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。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	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	
研究機関		
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)	
研究機関の長		
氏名	勝山 努	
役職	信州大学医学部附属病院長	
研究責任者		
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@hsp.md.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	整形外科学	
その他の研究者	添付書類(別紙1)参照	
臨床研究の目的・意義	<p>骨腫瘍の手術後に生じた骨欠損の補填について、低侵襲で早期の骨癒合と強度を得ることを目的として、人工骨を母床とした培養骨移植法の開発を目指し、細胞移植治療の安全性と有効性を評価する。この方法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、採取量が制限され侵襲も伴う自家骨移植に代わる有効な骨移植法になりうる。この方法については既に国内でもおこなわれており(以下文献1, 2)その有効性が言われているがまだ症例数は少なく一部の限定された施設のみでおこなわれている。再生骨の有効性については種々の論文(3, 4, 5)で述べられている。また安全性については培養細胞の腫瘍化や感染症の報告はなく、培養細胞に対して細菌、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を述べている報告6)もあるが特に問題がない。</p>	

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>(文献)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 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. <i>Artif Organs</i>. 30(2):115-8, 2006. 2. 藤本哲穂、木澤卓嗣、西川昌孝、名井陽、吉川秀樹 : 骨腫瘍に対する骨再生治療. <i>腎と骨代謝</i> 19(4) 341-348, 2006. 3. Ohgushi H, Okumura M: Osteogenic capacity of rat and human marrow cells in porous ceramics. <i>Experiments in athymic (nude) mice</i>. <i>Acta Orthop Scand</i>. 61(5):431-4, 1990 4. Goshima J, Goldberg VM, Caplan AI: The osteogenic potential of culture-expanded rat marrow mesenchymal cells assayed in vivo in calcium phosphate ceramic blocks. <i>Clin Orthop Relat Res</i>. 262:298-311, 1991 5. Yoshikawa T, Ohgushi H, Tamai S: Immediate bone forming capability of prefabricated osteogenic hydroxyapatite. <i>J Biomed Mater Res</i>. 32(3):481-92, 1996 6. 山田陽一、上田実 : 幹細胞・ES細胞-歯・歯周組織-歯槽骨の再生医療 <i>再生医療</i> 5(1) : 105-111, 2005. 				
<p>臨床研究の対象疾患</p>					
<table border="1"> <tr> <td data-bbox="172 1198 555 1310"> <p>名称</p> </td> <td data-bbox="555 1198 1441 1310"> <p>骨嚢腫、非骨化性線維腫、線維性骨異形成症、内軟骨腫、骨巨細胞腫</p> </td> </tr> <tr> <td data-bbox="172 1310 555 2040"> <p>選定理由</p> </td> <td data-bbox="555 1310 1441 2040"> <p>上記の良性骨腫瘍および腫瘍様病変は画像所見で増大傾向が確認される例で、髄腔占拠率が 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ており搔爬、骨移植手術の適応となる。しかしほとんどの場合骨欠損部の充填が自家骨では不足で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といった人工骨を使用している。人工骨は骨誘導能を持たないため術後骨癒合が得られて日常生活に戻れるまでには長期間を要するため患者の活動性を著しく障害する（例えば大腿骨部の骨腫瘍については術後約 3 ヶ月間の患肢免荷歩行を指導しており、日常生活に及ぼす影響は大きいと考える）。本臨床研究では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。この方法は骨欠損部の早期の骨癒合と強度の確立に寄与し、従来の治療法に比して活動性の回復までの期間を短縮できると考える（従来の人工骨移植で 3 ヶ月要していた免荷期間を半分以下に短縮できる可能性がある）。そして単純レントゲン、CT、MRI 画像や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証明できると考えた。</p> </td> </tr> </table>	<p>名称</p>	<p>骨嚢腫、非骨化性線維腫、線維性骨異形成症、内軟骨腫、骨巨細胞腫</p>	<p>選定理由</p>	<p>上記の良性骨腫瘍および腫瘍様病変は画像所見で増大傾向が確認される例で、髄腔占拠率が 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ており搔爬、骨移植手術の適応となる。しかしほとんどの場合骨欠損部の充填が自家骨では不足で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といった人工骨を使用している。人工骨は骨誘導能を持たないため術後骨癒合が得られて日常生活に戻れるまでには長期間を要するため患者の活動性を著しく障害する（例えば大腿骨部の骨腫瘍については術後約 3 ヶ月間の患肢免荷歩行を指導しており、日常生活に及ぼす影響は大きいと考える）。本臨床研究では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。この方法は骨欠損部の早期の骨癒合と強度の確立に寄与し、従来の治療法に比して活動性の回復までの期間を短縮できると考える（従来の人工骨移植で 3 ヶ月要していた免荷期間を半分以下に短縮できる可能性がある）。そして単純レントゲン、CT、MRI 画像や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証明できると考えた。</p>	
<p>名称</p>	<p>骨嚢腫、非骨化性線維腫、線維性骨異形成症、内軟骨腫、骨巨細胞腫</p>				
<p>選定理由</p>	<p>上記の良性骨腫瘍および腫瘍様病変は画像所見で増大傾向が確認される例で、髄腔占拠率が 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ており搔爬、骨移植手術の適応となる。しかしほとんどの場合骨欠損部の充填が自家骨では不足で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といった人工骨を使用している。人工骨は骨誘導能を持たないため術後骨癒合が得られて日常生活に戻れるまでには長期間を要するため患者の活動性を著しく障害する（例えば大腿骨部の骨腫瘍については術後約 3 ヶ月間の患肢免荷歩行を指導しており、日常生活に及ぼす影響は大きいと考える）。本臨床研究では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。この方法は骨欠損部の早期の骨癒合と強度の確立に寄与し、従来の治療法に比して活動性の回復までの期間を短縮できると考える（従来の人工骨移植で 3 ヶ月要していた免荷期間を半分以下に短縮できる可能性がある）。そして単純レントゲン、CT、MRI 画像や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証明できると考えた。</p>				

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

<p>被験者等の選定基準</p>	<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（髓内占拠率）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罹患骨の健常横径を超えている。</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）13歳以上65歳以下。</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。13歳から19歳までの対象者については両親あるいは親権者を代諾者としてインフォームド・コンセントを得る（被験者に対してもインフォームド・アセントを得る）。20歳以上については知的障害者、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>														
<p>臨床研究に用いるヒト幹細胞</p>															
<table border="1"> <tr> <td data-bbox="212 869 587 969">種類</td> <td data-bbox="595 869 1453 969">骨髄間葉系幹細胞</td> </tr> <tr> <td data-bbox="212 981 587 1037">由来</td> <td data-bbox="595 981 1453 1037">自己・非自己・株化細胞 生体由来 死体由来</td> </tr> <tr> <td data-bbox="212 1048 587 1182">採取、調整、移植又は投与の方法</td> <td data-bbox="595 1048 1453 1182">添付書類（以下）参照 （１）採取：自己骨髄細胞採取マニュアル （２）調整：培養骨製品標準書・骨組織培養指図記録書 （３）移植：再生人工骨移植マニュアル</td> </tr> <tr> <td data-bbox="212 1193 587 1249">調整（加工）行程</td> <td data-bbox="595 1193 1453 1249">有</td> </tr> <tr> <td data-bbox="212 1261 587 1317">非自己由来材料使用</td> <td data-bbox="595 1261 1453 1317">有 動物種（ブタ（ヘパリン））</td> </tr> <tr> <td data-bbox="212 1328 587 1384">複数機関での実施</td> <td data-bbox="595 1328 1453 1384">無</td> </tr> <tr> <td data-bbox="212 1395 587 1473">他の医療機関への授与・販売</td> <td data-bbox="595 1395 1453 1473">無</td> </tr> </table>	種類	骨髄間葉系幹細胞	由来	自己・非自己・株化細胞 生体由来 死体由来	採取、調整、移植又は投与の方法	添付書類（以下）参照 （１）採取：自己骨髄細胞採取マニュアル （２）調整：培養骨製品標準書・骨組織培養指図記録書 （３）移植：再生人工骨移植マニュアル	調整（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	
種類	骨髄間葉系幹細胞														
由来	自己・非自己・株化細胞 生体由来 死体由来														
採取、調整、移植又は投与の方法	添付書類（以下）参照 （１）採取：自己骨髄細胞採取マニュアル （２）調整：培養骨製品標準書・骨組織培養指図記録書 （３）移植：再生人工骨移植マニュアル														
調整（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														
<p>安全性についての評価</p>	<p>細胞の培養・調整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」、「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>また培養調整段階では形態観察、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（詳細は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）、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。</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</p>														

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>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>文献 7 “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）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ところで培養骨は組織学的に骨形成を生じており、さらに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やオステオカルシン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することを証明している。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。また文献 8 “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. 2004 Jun 1;69(3):454-61.）でもラットの脛骨骨欠損部への骨移植に関して、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ことが示された。さらに文献 9 “Hydroxyapatite ceramics as a carrier of gene-transduced bone marrow cells”（J Orthop Sci. 2002;7(6):677-82.）では 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系で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ている。以上より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、さらに人工骨単独の移植より早期に骨形成（骨癒合）が起きることが動物実験で証明されている。さらに文献 10 “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. 1998 Sep 15;41(4):568-73.）では HA と培養骨髄間葉系細胞を共培養したものを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 を用いてアルカリフォスファターゼ（ALP）とオステオカルシン（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。これと前述の文献 1～3 をあわせ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、また既に文献 11 “Tissue engineering approach to the treatment of bone tumors: three cases of cultured bone grafts derived from</p>