

ヒト幹細胞臨床研究実施計画について

【京都府立医科大学】

- 重症慢性虚血性心不全に対するヒト心臓幹細胞と幹細胞増幅因子 bFGF のハイブリッド自家移植療法の検討 P1

【先端医療振興財団 先端医療センター病院】

- 難治性骨折（偽関節）患者を対象とした自家末梢血 CD34 陽性細胞移植による骨・血管再生療法に関する第 I・II 相試験 P38

【東邦大学医療センター大森病院】

- 末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験 P76

【国立病院機構 千葉東病院】

- 末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験 P118

【市立函館病院】

- 末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験 P162

【青森県立中央病院】

- 末梢動脈疾患患者に対する G-CSF 動員自家末梢血単核球細胞移植治療のランダム化比較試験 P204

平成 20 年 7 月 2 日

京都府立医科大学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

京都府立医科大学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とりまとめたので報告いたします。

記

1. 重症慢性虚血性心不全に対するヒト心臓幹細胞と幹細胞増幅因子 bFGF のハイブリッド自家移植療法の検討

申請者：京都府立医科大学 学長 山岸 久一

申請日：平成 20 年 12 月 12 日

1. ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	重症慢性虚血性心不全に対するヒト心臓幹細胞と幹細胞増幅因子 bFGF のハイブリッド自家移植療法の検討
申請年月日	平成20年12月12日
実施施設及び研究責任者	実施施設：京都府立医科大学 研究責任者：松原 弘明
対象疾患	重症慢性虚血性心不全
ヒト幹細胞の種類	ヒト自家（心臓組織由来）心臓幹細胞
実施期間及び対象症例数	登録期間 2年（試験期間は登録開始～最終症例の移植後1年まで）、6症例
治療研究の概要	カテーテルにより、心臓内壁より心筋組織を約15～20mg採取し、心臓幹細胞を分離、培養する。5～8週間後、冠動脈バイパス手術の際、障害心筋組織に心臓幹細胞を直接注入すると共に、線維芽細胞増殖因子（bFGF）を含むブタ皮膚由来ゼラチンシートで注入箇所を被覆する。
その他（外国での状況等）	骨髄又は末梢血から採取した単核球もしくは内皮前駆細胞を経冠動脈的に投与する方法、大腿部骨格筋より分離した骨格筋芽細胞を直接心筋に注入、あるいはシート状にして移植する方法等による臨床研究の報告例がある。ヒト心臓前駆細胞を用いた研究については、マウスモデルによる研究が2007年に報告されているが、臨床研究の報告は今のところない。
新規性について	本研究は幹細胞（心臓組織由来心臓幹細胞）を用いている点、bFGFを含有したシートを用いる点などで新規性を有している。

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21年2月20日（金） 10:00～12:00
（第7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20年12月12日付けで京都府立医科大学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：重症慢性虚血性心不全）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）

- 切除された患者の心筋を用いた前臨床研究では、300 mgぐらいの心筋を使って 1.4×10^6 とあるが、今回採取するとされる15～20 mgで十分な心臓幹細胞が培養できるのかどうかの基礎的検討が足りないのではないか。
- そもそも15～20 mgは、被験者からの心筋バイオブシー量として適当か？
- カテーテルで心臓からたくさんの生検組織を採って、それを培養することは、リスクが高すぎるように思え、その安全性が本当に担保できるのかが危惧される。
- 自己血清を使った際の幹細胞の品質への影響についてのデータが出ていないのが若干気になります。
- 通常の培養工程では凍結操作を行わないものと理解している。余剰心臓幹細胞を凍結して保存するとされているが、この場合再度培養した後、患者への投与を行うと理解して良いか？もしそうであればその差異の基準等を明らかにして頂きたい。
- 現在まで約100名を超える培養実験を行っており、培養不能ではなく、4週以上培養継続が可能であり、心筋分化を確認されたとあるが、それがどのような疾患の患者から、バックグラウンドがどうか、またこの試験の対象になる患者からも採ってやられているのかどうかなどの、生のデータが必要。
- 基礎検討で、心筋幹細胞が心筋になるという、そのエビデンスがもう少し明確に。
- 心臓幹細胞のブタ実験について、注入した心臓幹細胞が、何%が長期的に心筋細胞に分化したか明らかにして欲しい。筋フィラメントが明らかに認められるのか。心筋細胞への分化は、虚血部でも認められるか。
- bFGFの含有のゼラチンハイドロゲルシート単独の安全性、有効性を検証が不十分ではないか。
- 外用薬bFGFをゼラチンゲルに染みこませ、除放製剤とすることの評価として、添加剤の影響、どれだけの期間除放されるのか、除放のキネティクス、安定性などのデータが不明。
- ゴアテックス ePTFE パッチ II を使用し、心筋に縫合され永久に留置することの、安全性は確保されるのか。さらに、2週間でbFGFが完全に遊離されるこ

とを考えると、生体吸収が可能なゼラチンハイドロゲルシートをフィブリン糊などで貼付する方法などは考えられないのか。

○ in vitro で bFGF を加えると心臓幹細胞の分化率が向上するか。また、心臓幹細胞の増殖作用はあっても、分化作用についての言及が不十分では。

○ 感染性因子の判定が投与後に陽性となった場合の対処を明らかにすること。

○ 出荷時の核型を確認するとしていますが、判定で異常が見出された時の対処は。また、異常が必ずしも培養工程によるものではなく、患者さんが元々異常な核型を持っていた可能性をどのように否定するのか？そして造腫瘍性の結果が陽性と出たときの対処は。

2) 第2回審議

①開催日時：平成21年6月3日(水) 17:30～19:30

(第8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、京都府立医科大学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、その結果を基に持ち回りで審議することとした。

(本審査委員会からの主な疑義・確認事項)

○ ゼラチンハイドロゲルに関する安全性評価は、非臨床試験としては十分な症例数といえるが、ヒトでの抗原性が気になります。ヒト臨床研究実施に当たって抗原性に基づく有害事象が認められないか十分なモニタリングをすること。

○ 「自家自己心臓幹細胞に関する概要書」にはヒトリコンビナント bFGF はプロメガ社の製品を使用している。研究用試薬と認識されるが、COAの添付をお願いする。また、「bFGF 含有人工心膜付きゼラチンハイドロゲルシートに関する概要書」にはヒトリコンビナント bFGF は科研製薬株式会社の製品を使用しているが、その使い分けの理由。

○ 心筋生検鉗子を用いて採取した心筋組織から培養した細胞については十分な検討がされているが、 4×10^6 以上に達しない場合とする培養中止基準は現実的な値であろうか。中止細胞数の根拠を併せて返答ください。

○ 核型検査及び造腫瘍性試験の結果が患者への投与後に判明した場合の対応について、患者へのインフォームドコンセントの中に試験結果の通知を望むか否かの記載を追加したほうがよいと思われる。

3) 第3回審議

①委員会の開催はなし

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、京都府立医科大学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会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)

- 虚血心臓病や心臓弁膜症患者から実施した心筋生検鉗子からの微小サンプル単離実験で最低細胞数であった症例は 4.0×10^6 個までの増幅が得られたため、中止基準「細胞単離後培養26日目までに 4×10^6 個に達しない場合」を設定した。
- 自家心臓幹細胞の心筋分化能力は、マウスおよびヒトの心筋分化に関する基礎的検討と、申請者からの自己心臓内幹細胞の存在と心筋分化能に関する複数の報告をエビデンスとして追加した。
- ゼラチンの抗原性に関しては、除外基準の14として「ゼラチンアレルギーの既往」を規定しており、このゼラチンアレルギーの登録前評価として詳細な既往歴の聴取、パッチテスト、ゼラチンIgEの測定を義務づけた。
- 御指摘のbFGF含有ゼラチンハイドロゲルシート単独療法の安全性、有効性の検証について、ブタを用いたランダム化前臨床試験の結果から説明した。実験的陳旧性心筋梗塞ブタに対する、Placebo投与群、bFGF含有人工心膜付きゼラチンハイドロゲルシート移植群の前向きランダム試験。“ヒト心臓幹細胞移植+bFGF含有人工心膜付きゼラチンハイドロゲルシート併用移植の安全性試験における対照群としての、bFGF含有人工心膜付きゼラチンハイドロゲルシート単独移植群”の概略を説明し、安全性と有効性を示した。
- 安全性に関してはさらに、bFGF含有人工心膜付きゼラチンハイドロゲルシート移植を施しており、安全性評価として検討可能であった。
- 前臨床試験でのbFGF含有ゼラチンハイドロゲルシートの安全性は第3者である探索医療センター検証部によっても確認された。

(患者説明文書および同意書)

- 核型検査及び造腫瘍性試験の結果の説明に関してはインフォームド・コンセントの際の核型検査及び造腫瘍性試験の内容において、陽性所見が出た場合の対応を変更した。尚、同意書には当初から結果の通知を望むか否かの記載があり、こちらは現行のままの記載とした。

4. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会の検討結果

京都府立医科大学からのヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：重症慢性虚血性心不全）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20年12月12日

厚生労働大臣 殿

研究機関	所在地	京都市上京区河原町通玄小路上る樫井町465 (郵便番号602-8566)
	名称	京都府立医科大学 075-251-5208(電話番号) 075-211-7093(Fax番号)
	研究機関の長 役職名・氏名	京都府立医科大学 学長 山岸 久一

下記のヒト幹細胞臨床研究について、別添の通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 重症慢性虚血性心不全に対するヒト 心臓幹細胞と幹細胞増幅因子bFGF のハイブリッド自家移植療法の検討	研究責任者の所属・職・氏名 京都府立医科大学医学部医学研究科 循環器内科・教授 松原 弘明
--	--

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称	重症慢性虚血性心不全に対するヒト心臓幹細胞と幹細胞増幅因子bFGFのハイブリッド自家移植療法の検討
研究機関	
名称	京都府立医科大学
所在地	〒602-8566 京都府京都市上京区河原町通広小路 upper 梶井町465
電話番号	075-251-5208
FAX番号	075-211-7093
研究機関の長	
氏名	山岸 久一
役職	学長
研究責任者	
氏名	松原 弘明
役職	京都府立医科大学大学院医学研究科 循環器内科学講座・教授
最終学歴	S57 関西医科大学 卒業
専攻科目	循環器内科学
その他の研究者	別紙1及び2参照
臨床研究の目的・意義	<p>心臓病は現在の循環器先進的医療を持ってしても国民死亡率の第二病因を占めており、その過半数が心不全死である。重症慢性虚血性心不全とは、完全冠動脈再建術を持ってしても心機能の改善が見込まれず、心臓移植以外の従来型の代替先進治療でもなお、難治性心不全を繰り返す致死率の高い予後不良な病態である。しかしながら本邦における心臓移植の実態は、そのドナー不足から上記のごとき必要不可欠な症例を救命するには充分であるとは言えず、心筋再生を機序とした革新的な治療の開発が急務である。本臨床試験の目的は、LVEF 15%以上、35%以下の重症慢性虚血性心不全という病態に対して、冠動脈形成術と体外培養にて増殖させた自家ヒト心臓幹細胞とbFGF徐放シートの移植を併用するハイブリッド治療を、探索的臨床第Ⅰ相 pilot試験として安全性及び有効性(臨床効果)を評価することである。臨床第Ⅰ相pilot試験としての本試験の性質上、安全性の評価項目を心臓疾患関連死および主要心疾患関連イベントとし、有効性の評価項目を臨床効果として治療前と治療6ヶ月後のNYHA分類による心不全症状、左室駆出率、梗塞部重量、局所壁運動の改善をもって評価を行う。重症慢性虚血性心不全は進行性で、致死率も高く心臓移植以外の代替治療では改善困難な疾患像である。障害心筋が再生することで心臓移植までのブリッジや自宅退院、社会復帰が可能となり、疾病に苦しむ国民生活の向上に対する本研究の意義は極めて高い。さらに、本臨床研究の6例の結果が優れたものであり、高度医療に相当するものと考えられた場合は、所定の審査手続きを踏まえて高度医療として申請し、本治療法の安全性・有効性を検証し標準治療化を目標として、多施設共同の臨床第Ⅱ相単盲検プラセボコントロール試験を計画している。</p>
臨床研究の対象疾患	
名称	重症慢性虚血性心不全
選定理由	<p>重症慢性虚血性心不全は完全冠動脈再建術を持ってしても心機能の改善が見込まれず、心臓移植以外の従来型の代替先進治療でもなお、難治性心不全を繰り返す致死率の高い改善困難な病態である。現在、冠動脈再建術、左心室形成術、心室再同期療法等の様々な先進的医療や、欧米で行われた骨髄細胞、骨格筋芽細胞を用いたヒト細胞移植による再生医療の臨床試験が行われているが、いずれも未だ十分な成果を上げているとは言い難い。本病態は虚血性心疾患を原因とし、臨床経過が把握され、病期分類等が確立されている疾患であることより、本試験の対象疾患として選定した。プロトコル「2.背景と根拠」を参照。</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>適格規準</p> <p>1) 年齢 : 症例登録時において年齢20歳以上80歳以下 2) 左心機能 : 前項5-2-1のLVEFにて15%以上、35%以下 3) 臨床病期(心不全分類) : stage D 4) 臨床症状(心不全重症度) : NYHA III~IV度 5) 冠動脈バイパス術適応病変 : 前項5-2-2の冠動脈造影法において主要冠動脈に有意狭窄を有し、冠動脈バイパス術の適応がある 6) viabilityのある領域 : 上記冠動脈病変に起因する障害心筋領域で、造影心MRIによる評価において以下の規準が満たされていること ① 梗塞領域が18分割心区域分類法で2領域以上存在する ② すべての梗塞領域の遅延造影濃染部が、短軸像において心筋壁に対し50%以下の場合、または遅延造影濃染部が51%以上の領域を含む場合でも、同部位が1領域以下に限定される場合 注1) 同部位に対するバイパス術の既往は問わない 注2) 冠動脈の罹患枝数は問わない 注3) 該当のviabilityのある領域が複数存在する場合は、梗塞領域の大きい方を細胞移植領域とする 7) 試験参加について文書による説明がなされ、文書同意の得られた者</p> <p>除外規準</p> <p>1) 28日以内の新規の心筋梗塞、不安定狭心症発症 2) 左室切除術もしくは弁形成術(置換術を含む)を必要とする症例 *1 3) 心筋生検禁忌の症例*2 4) 悪性新生物を有する患者及び3年以内にその既往のある患者 5) 血液透析患者 6) 肝硬変患者(ICG15分滞留率 30%以上) 7) コントロール不良の糖尿病患者(HbA1c>8.0) 8) 5cm以上の大動脈瘤(解離性含む) 9) 心原性ショック 10) 活動性感染症(サイトメガロ感染症を含む) 11) 薬物依存症(アルコール心筋疾患を含む) 12) HIV抗体陽性 13) 活動性出血性疾患(消化管出血、外傷その他) 14) ゼラチンアレルギーの既往*3</p> <p>*1 左室切除術の必要な症例とは、造影心MRIにおいて梗塞部心筋の濃染部が心筋壁に対して51%以上の領域が2領域以上にわたる症例とする。 *2 心筋生検禁忌の症例とは以下の症例とする ① 心原性ショック状態の患者 ② カテコラミン等を治療に必要とする鬱血性心不全状態の患者 ③ II度以上の房室ブロックの患者 *3 ゼラチンアレルギーについては詳細な既往歴の聴取及び、登録前にパッチテスト、ゼラチンIgEの検査において陰性であることを確認する 臨床試験プロトコル「5.診断基準と病期・病型分類」「6.適格基準」参照</p>
<p>臨床研究に用いるヒト幹細胞</p>	
<p>種類</p>	<p>ヒト自家心臓幹細胞(cardiac stem cell, CSC) 自家心臓幹細胞概要書「2.1.1 試験細胞の生物学的特徴」「3.試験細胞情報」を参照。 臨床試験プロトコル「4.1ヒト自家心臓組織由来心臓幹細胞(cardiac stem cell, CSC)」を参照。</p>
<p>採取、調製、移植又は 投与の方法</p>	<p>被験者患者右心室から、心筋生検法を用いて15~20mgの心筋組織を採取し、平成19年8月適達「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に従いGMP準拠の細胞調整施設である京都市立医科大学 再生医療・細胞治療研究センター(以下CPCと略す)において、無菌的に自家心臓幹細胞を単離、体外増幅培養を行う。被験者の400mL末梢血から採取分離した血清を用いて5-6週間の細胞培養の後、CPCにおいて生理食塩水に5×10^5個/kgに調整、懸濁する。プロトコル治療はまず冠動脈バイパス術を行い、その後、培養自家心臓幹細胞を障害心筋領域に均等に20箇所、筋肉注射する。その後、bFGF徐放シートを同部位に貼付する。自家心臓幹細胞概要書「3.2 調製方法」、臨床試験プロトコル「8 試験計画と移植スケジュール変更基準」を参照。</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

安全性についての評価	細菌試験、真菌試験、マイコプラズマ否定試験、エンドキシン試験を、培養工程における無菌性の検証を細胞調整の各工程において、細胞製剤標準書SOPに従い行う。幹細胞としての安全に関しては長期継代株における核型異常発生の有無の確認、免疫不全マウス皮下へのヒト自家心臓幹細胞の移植実験における造腫瘍性の確認を全症例において行う。有害事象発現時・中間評価の際は、本臨床研究から独立した専門家で構成される効果安全性評価委員会が研究責任者の依頼を受けて情報を評価する。自家心臓幹細胞概要書「3.3品質管理」「3.3.1細胞培養工程における無菌性の検証」、臨床試験プロトコル「13.4中間評価」「15.モニタリング」、別添「重篤な有害事象発生時の報告・対応マニュアル」を参照。
臨床研究の実施が可能であると判断した理由	ヒト細胞を用いた先行研究では、先天性心疾患患者における手術手術時の微小心筋組織材料を用いた自家心臓幹細胞の単離・増幅培養に100例以上成功し、また対象年齢の虚血性心疾患患者(5名)虚血心筋組織からの微小心筋組織患者全例において心筋分化能を有した細胞であることが確認されている。末梢からの自家血清単離及び冷凍保存、更に溶解した自己血清を用いての心臓幹細胞培養が可能であることも確認している。移植細胞の採取・培養過程において、長期継代株における核型異常発生の有無の確認、免疫不全マウス皮下へのヒト自家心臓幹細胞の移植実験(6ヶ月)における造腫瘍性の確認を行ったが染色体異常、奇形腫の発生は認めなかった。実験中止に至るような事象の発生はなく、安全に遂行できた。またブタを用いた移植実験においても最長4ヶ月間の観察期間中に細胞移植部局所の炎症、腫脹、その他特筆すべき全身症状の発生は認めらず、最終時点での剖検所見においても、移植部には異常所見は検出されなかった。併用するbFGF、人工心膜は既に医薬品として認可・使用されている。臨床試験プロトコル「2 背景と根拠」を参照。ゼラチンハイドロゲルシートの安全性、有効性についてはbFGFゼラチンハイドロゲルシート概要書「4.試験医療材料情報」を参照。
臨床研究の実施計画	患者自身の心筋組織から分離した心臓幹細胞を患者自身の心臓から採取した血清を用いて5-6週間培養する(予定細胞数 5×10^6 個/kg)。手術治療にて自家心臓幹細胞を障害心筋領域に筋肉注射し、同部位をbFGF含有ゼラチンハイドロゲルシートにて被覆する。 概略は臨床試験プロトコル「0.シェーマ」を参照。計画の詳細はプロトコル「8.試験計画」を参照。
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続	担当医師は、被験者が試験に参加する前に、説明文書を用いて十分説明し、試験への参加について自由意思による同意を本人から文書として得る。細胞の採取・移植、検査の実施については、試験参加の同意とは別にその都度、インフォームド・コンセントを行い、文書にて同意を取得する。プロトコル「15.3.説明と同意(インフォームド・コンセント)」を参照。
説明事項	「世界医師会ヘルシンキ宣言」「臨床研究に関する倫理指針」「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」で規定されている内容に準じて施行する。 臨床試験プロトコル「16.1.遵守すべき諸規則」「16.2.説明文書・同意書の作成と改訂」を「16.3.説明と同意(インフォームド・コンセント)」を参照。説明・同意文書を参照。
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	該当しない
被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法	研究責任者は下に定義する重篤な有害事象又は新たな重大情報において重大な事態の発生が予測される場合、もしくは発生した場合は、重篤な有害事象の場合は付録2「重篤な有害事象発生時の報告・対応マニュアル」の別添2「重篤な有害事象に関する報告書」を、新たな重大情報の場合は「新たな重大情報に関する報告書」を作成し、所属する研究機関の長へ提出しなければならない。所属する研究機関の長は、所属する研究機関の倫理審査委員会等の意見を聴き、研究責任者に対し試験の中止その他の必要な措置を講じるよう指示しなければならない。 なお、必要に応じ、所属する研究機関の倫理審査委員会等の意見を聴く前に、所属する研究機関の長は研究責任者に対し、試験の中止その他の暫定的な措置を講じるよう指示することができる。

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

	<p>さらに所属する研究機関の長は、所属する研究機関の倫理審査委員会等若しくは厚生労働大臣の意見を受け、又は必要に応じ、研究責任者に対して改善、試験の中止、調査の実施その他の必要な措置を講じるよう指示するものとする。なお、所属する研究機関の倫理審査委員会等から本試験を中止するべきである旨の意見を述べられたときは、その中止を指示しなければならない。</p> <p>1) 重篤な有害事象のうち、効果安全性評価委員会にて本臨床試験の継続に大きな影響を与えると判断された重篤な有害事象 2) 類似治療、その他の研究報告等から得られた新たな重大情報のうち、効果安全性評価委員会にて本臨床試験の継続に大きな影響を与えると判断された重大情報</p> <p>臨床試験プロトコル「9-1-4 重大な事態」を参照。また、臨床情報・細胞は試験終了後、臨床試験の統括報告書を厚生労働大臣に提出してから10年間保存する。</p>
臨床研究終了後の追跡調査の方法	<p>2年間の臨床研究終了後も通常の保険診療行為として被験者の追跡を、10年以上を目安として行う。被験者に病原体感染等の有害事象が生じた場合は、適切な医療措置を行うとともに、最終調製物に関する確認を行い、原因究明に努める。他の被験者の健康状態も確認し、被験者の安全性確保に努める。 プロトコル「9.5. 臨床研究終了後の追跡調査」を参照。</p>
臨床研究に伴う補償	
補償の有無	有 (無)
補償が有る場合、その内容	該当しない
個人情報保護の方法	
連結可能匿名化の方法	<p>被験者の特定には被験者識別番号、登録番号を用いる。細胞の特定には照合認識システム(メルコードシステム®)と台帳を用いて行う。 プロトコル「16.4. 個人情報の保護」を参照。プロトコル「8.1.5. 移植細胞(CSC)の調製」を参照。</p>
その他	<p>「個人情報保護の方法」 試験に係わる関係者は被験者の個人情報保護に最大限の努力ををらう。主任研究者等が試験で得られ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配慮する。「世界医師会ヘルシンキ宣言」「臨床研究に関する倫理指針「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」で規定されている内容に準じて施行する。 プロトコル「16.1. 遵守すべき諸規則」「16.4. 個人情報の保護」を参照。 「その他必要な事項」 ①当該研究に関わる研究資金の調達方法 本試験は京都府立医科大学大学院医学研究科循環器内科学講座の厚生科学研究費及び奨学寄付金で実施される 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 詳細は「臨床試験計画書 2 背景と根拠」参照 申請者らは既に行った前臨床試験により、今まで臨床研究は全く行われていない新規のヒト心筋より採取した心臓幹細胞を含む細胞群が成人ヒト血清を用いて多分化能を有したまま培養することが可能であること、心臓幹細胞とbFGF徐放シート移植を併用することでホスト心筋への生着能、実質的心筋再生が著しく促進され、慢性虚血による機能不全心であっても実質的な心筋再生による心機能改善が生じることを確認した。これまで難治性重症不全心患者に対して、心臓幹細胞を用いた細胞治療を施行した報告は世界的に一例の報告もない。また急性虚血心に対する骨髄細胞移植(冠動脈注入及びカテーテルによる心筋移植)、米国で行われた小動物への心臓幹細胞単独移植と比較しても、多くの新規性が見いだせる。以下に本研究の新規性について列挙する。 1) 新規の幹細胞群である(心臓幹細胞) 2) 体外細胞培養工程により移植細胞数を均一化することで、細胞移植効果を正確に判定できる 3) 直視下に細胞移植操作を行うことで、治療有効領域への確実な移植が可能にできる 4) bFGF徐放シート移植の併用により、心臓幹細胞の生着率を向上、心筋再生を飛躍的に改善(新規の幹細胞移植と組織再生工学のハイブリット治療) 5) 必要最小限の有効細胞数の移植により、移植後組織障害の軽減を図ることが可能であり、かつ体外細胞増幅にかかる期間の短縮は必要とされるヒト血清量の節減(患者侵襲の低減)および手術待機期間の短縮を図ることができる(有効細胞数の規定)したがって、本研究はヒト幹細胞を用いた臨床研究として、多くの新規性が認められるものと考えられる。</p>

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

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:自己心臓幹細胞に関する概要書、bFGF含有ゼラチンハイドロゲルシートに関する概要書)
- その他(資料内容:試験実施計画書(プロトコル))
- その他(資料内容:試験実施計画書(プロトコル) 臨床II相試験 試験計画)
- その他[資料内容:重篤な有害事象発生時の報告と対応マニュアル(プロトコルAPENDIX1)]

〈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〉

申請する研究は、現在提供可能な様々な先進的循環器治療によっても改善の期待しがたい、重症難治性心不全という病態に対して、自己心臓内に存在する心臓幹細胞という多種類の細胞に分化できる能力をもった細胞を使用して、心筋再生に基づいた新しい細胞移植による治療法を開発することを目的とします。

重症慢性虚血性心不全は、心筋梗塞などの虚血性疾患により心筋が十分な働き（収縮力）をすることができず、心不全を繰り返す難治性の病態と定義されています。原因となる虚血性心疾患とは冠動脈の閉塞により心筋の血流が途絶えること（心筋虚血）により心筋細胞が死滅（＝壊死）する疾患であり、この傷害された心筋は自己修復することができないため、心臓組織の20～30%の領域の心筋が収縮能力を失い、心臓がポンプとしての働きを果たせず心不全という状態に陥ります。現在、心臓病に対しては種々の治療が行われていますが、主には原因疾患に対する薬物、手術（冠動脈形成術等）などの治療がほとんどで、傷害を受け壊死した心筋そのものを治す治療方法はありません。そこで心筋細胞を作る能力をもつ細胞である心臓幹細胞を用いた治療法を計画しました。

心臓幹細胞は成人においても心臓の中に存在しており、普段は眠っていて自ら心筋細胞を再生することはありません。しかし、心臓より体外に取り出して、血清を用いた細胞培養という操作により、その数を増やすことが可能で、また薬剤を加える事で、心臓、血管、骨、軟骨、脂肪を形成する細胞に変化（＝分化）させることができます。さらに、体外で培養した心臓幹細胞を心臓に移植することで移植された心臓内で、新たな心筋細胞に分化させることができます。この心筋細胞に分化できる性質を用いて、心臓幹細胞を体外で大量に培養して、通常では治らない心臓の病気の治療に応用することが報告されています。これまで培養や移植により、治療を受けた人に大きな合併症が発生した報告はありません。

治療試験研究の具体的な手順は以下の如くです。まず治療の対象となる患者さんは今までに心筋梗塞などの虚血性心疾患に罹患した患者さんで、長年の冠動脈の閉塞や狭窄により心機能が低下し、様々な治療によっても心不全を繰り返し入院する20歳から80歳までの患者さんを対象とします。このような患者さんは通常の冠動脈バイパス術のみでは心機能の回復が思わしくなく、予後もきわめて不良です。これらの患者さんで冠動脈バイパス手術の適応がある患者さんに本治療は行われます。様々な検査から、本治療の対象となるか否かを検討し、複数の医師から対象であると判断された患者さんは、十分な説明と、自らの意志に基づいて本試験への参加を決めていただきます。本試験への参加が決まった患者さんは、試験登録患者さんとして登録されます。本試験はまず最初に、自分の心臓幹細胞を育てる（培養）するための約400ccの血液を採血します。得られた血液を遠心により血球と血清に分離し、血清を心臓幹細胞を培養する時の栄養物質として用います。次に患者さんの心臓から心筋組織を約15～20mg採取し、心臓幹細胞を取り出し、プラスチック培養皿の上で培養を行います。心臓幹細胞の培養はセルプロセッシングセンターという無菌性を保った特別の施設で行われ、移植に用いる予定の細胞数(5000万個)に達するまで培養します(5～8週間の予定です)。予定細胞数にまで増えた細胞は品質と安全性を確認した後に、心臓バイパス術を行う際に、患者さん用に調整した心臓幹細胞を心筋内に直接移植します。細胞

の移植は、心臓幹細胞を障害心筋のなかでより多く生存させるために、線維芽細胞増殖因子 (bFGF) という細胞増殖を促す薬剤を含んだブタ皮膚から作ったゼラチンシートと一緒に手術にて移植します。すなわち心臓の 20%程を占める障害心筋組織に心臓幹細胞をくまなく注射によって直接移植し、その上に bFGF のシートを被せて移植する治療法です。

この心臓幹細胞の能力を最大限引き出すことのできる bFGF という薬剤と、心筋細胞を作る能力の高い心臓幹細胞の移植を組み合わせる事で、壊死した心筋の中に新しい心筋組織を再生させる治療法で、心臓移植しか残された治療法のない重症の心不全患者さんにとって大きな利益をもたらす治療法となることが期待されます。

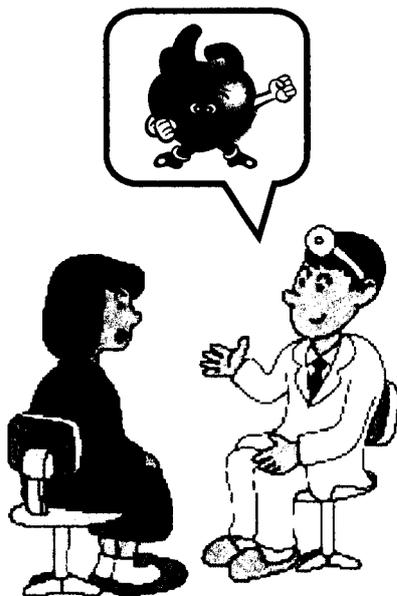
患者さんにご家族の方へ

「重症慢性虚血性心不全に対する ヒト心臓幹細胞と幹細胞増幅因子 bFGF の ハイブリッド自家移植療法の検討」 についてのご説明

京都府立医科大学医学部附属病院では、患者さん自身から得られた細胞を用いて重症慢性虚血性心不全の治療の研究をしています。

この臨床試験の説明を担当医師から聞いた上で、参加されるかどうかをあなたの自由な意思で決めてください。

たとえ参加されなくても、今後の治療に不利になることや妨げになることはありません。



京都府立医科大学医学部附属病院

1. 臨床試験とは

「新しい治療法」が一般的な治療法として認められるようになるまでには、「新しい治療法」に効き目があり安全であることを確かめる必要があります。そのために色々な試験をします。多くの場合は動物で試験を行った後に、人を対象とした試験が段階を踏んで進んでいきます。こういった試験を臨床試験といいます。



全ての京都府立医科大学医学部附属病院で行われる臨床試験は、試験に参加される方の人権や安全の保護及び科学性について問題がないかを「京都府立医科大学医学倫理審査委員会」（臨床試験の実施に関して医学的・倫理的な観点から問題がないかどうかを討議する京都府立医科大学の委員会）で検討された上で行われます。

2. ヒト幹細胞を用いる臨床試験とは

ヒトから採取された細胞で、体の外で増殖することができ、いろいろな細胞に変化することができる細胞をヒト幹細胞と呼びます。現在このヒト幹細胞を用いて様々な病気を治療する試みが進められており、今回の臨床試験で用いる細胞もヒト幹細胞の一つです。

ヒト幹細胞を用いる臨床試験は、平成 18 年 9 月 1 日に施行された「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に書かれてある規則に基づいて行われることになっており、試験の承認に関しても「京都府立医科大学医学倫理審査委員会」での審査の後、更に「中央審査」として厚生労働大臣が依頼した審査委員会において検討されることが義務づけられています。今回の臨床試験は、この二重の審査により十分に検討された上で承認され、実施される試験です。

3. あなたの病気と今行われている治療法について

あなたが現在治療を受けておられる「重症慢性虚血性心不全」は、心筋梗塞などの虚血性心疾患が原因で一部の心臓の組織の働きが悪くなり、心臓のポンプとしての働きを十分に果たせなくなった結果、肺に水がたまったりする「心不全」を繰り返し引き起こしてしまう病気です。病気の種類によっては運動療法、食餌療法、薬物療法をはじめとして、カテーテルによる治療や手術（ペースメーカーを含む）等、様々な治療が行われていますが、このような治療でも一旦働きの悪くなった心臓の組織自体を元に状態にもどす（再生させる）ことは非常に困難とされています。

これまでの「重症慢性虚血性心不全」に対する運動療法、食餌療法、薬物療法以外の治療法と、その利点および問題点は以下の通りです。

- 1) カテーテル手術（冠動脈形成術）：動脈硬化などで冠動脈が狭窄、閉塞して引き起こされる心臓の虚血による障害については、冠動脈の狭窄を広げたり、閉塞を開通させたりして血液が流れるようにするカテーテル手術が非常に有効です。しかし、これは心筋（心臓の筋肉）に血液を行き渡らせ、酸素や栄養が足りなくなって弱っている細胞を元に戻す治療としては有効ですが、壊れてしまった心筋組織を再生させることはできません。
- 2) 冠動脈バイパス術（冠動脈形成術）：これは治療を必要とする冠動脈が何本もある場合に、非常に有効性の高い治療法です。しかし、カテーテル治療と同様に心筋に血液を行き渡らせ弱っている細胞を元に戻す治療としては有効ですが、壊れてしまった心筋組織自体を再生させたりするわけではありません。
- 3) 心室再同期療法（両心室ペースメーカー療法）：心臓の機能が極端に低下すると、心筋の働きの良いところと悪いところでは収縮するタイミングがだんだんずれてきて、最後には心臓全体の動きがちぐはぐになってしまいます。そうになると、ポンプとしての働きがそれまで以上に低下してしまい心不全を繰り返すようになります。このちぐはぐな動きをペースメーカーで治療する（同期させる）のが心室再同期療法です。最新の治療法で、心臓の動きにずれのある患者さんには非常に有効ですが、ペースメーカーで

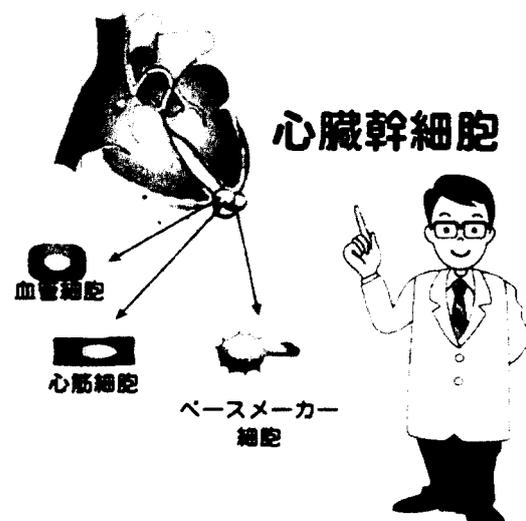
ずれているタイミングを戻しているだけなので、壊れてしまった心筋組織自体を再生させたりするわけではありません。

- 4) 心臓移植術: 心臓の働きが低下して、もう自分の力では体に送る血液を十分に送り出すことができなくなってしまった患者さんに行われる治療です。傷ついた心臓を傷のない心臓に置き換える、という意味では唯一といってよい完治療法ですが、拒絶反応が起こったり、免疫を抑える薬(免疫抑制剤: 感染に対する抵抗力も弱くなる)を飲み続けなければいけなくなったりなど、色々な問題も抱えています。また、日本では臓器移植法が制定されて10年以上経った現在でも一年で心臓移植を受けられる患者さんは7~8人に留まっており、非常に限られた人しかこの治療を受けることはできません。

このようにそれぞれ一長一短があり、また心不全の進行度(ステージとって、4段階に分類するものが用いられています)によって適切な治療法が変わります。あなたの心不全の進行度はステージDであり、上記の2)、4)の治療法が適応となる状態です。しかしながら2)の方法だけでは働きの弱ったあなたの心臓の機能を十分に回復させることは難しく、また4)の方法のような心臓移植が必要な場合であってもなかなかこの治療を受けられないのが現在の日本の医療の現状です。

4. 新しい治療法の内容とこの臨床試験の目的について

今回計画した治療法は、この問題を改善するために、心不全の進行度がステージDの「重症慢性虚血性心不全」に対して、心筋細胞を増やす能力のある細胞と細胞増殖因子bFGFを含んだ生体吸収性ゼラチンシート(移植した細胞が心臓に留まり、心筋細胞になることを助ける薬剤へ細胞増殖因子へを含んだ医療材料で、2002年より臨床研究が開始され、既に足の血管を新しく作る治療で多数の患者



さんに使用されて良好な症状の改善と安全性が確認されている材料です)を移植する治療法です。移植する細胞は、心臓幹細胞と呼ばれる細胞です。

心臓は再生しない臓器と長い間信じられてきましたが、心臓の中にも再生能力のある「心臓幹細胞」が存在することが最近明らかになりました。心臓幹細胞とは、心臓内に存在し、心臓、血管、骨、軟骨、脂肪を形成する細胞に変化(=分化)する能力をもつ細胞で、普段は心臓の中で心筋に再生せずにじっと眠っており、虚血のように心臓が障害を受ける状態になった場合でも積極的に心筋に再生しようとしなことが分かっています。しかしながら、この細胞を心臓から取り出し、再生できる状態にしてから移植すると、移植された心臓の中で増殖し、心筋細胞に変化しはじめる可能性があることが分かってきました。

また、この心臓幹細胞はごくわずか(心筋の中でも 0.01%程度)しか存在していませんので、「重症慢性虚血性心不全」の治療に用いるためには量が足りません。したがって、あらかじめあなたの心臓から極少量の心臓組織を取り出して(心筋生検)、体外で細胞培養という方法で数を増やす事が必要になります。

しかし、体外で細胞培養という方法で心臓幹細胞の数を増やして移植した場合でも、本来分化するはずだけれど分化できない細胞も非常に多いということがわかっており、細胞だけの治療では不十分だと言われていました。今回、私たちは心臓幹細胞が移植した心臓組織の中で効率よく分化するためには、ある種の薬剤が有効



であることを発見しました。それが幹細胞の増殖因子である「塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)」と呼ばれる薬剤です。これは、難治性の皮膚潰瘍の患者さんに対する治療薬として広く使用されている薬剤で、既に多くの患者さんに対して有効性と安全性が確認されています。この薬剤を心臓幹細胞移植のあと、引き続いて長期間(2週間)投与することにより、心臓幹細胞は移植された心臓の中で、新たな心筋細胞へと変化しはじめることがわかってきました。

この薬剤を効率よくそして心臓に長期間(2週間)投与し続けるには、何らかの新しい方法が必要です。その為に使用されるのが、生体吸収性ゼラチンシートです。このシートはブタの皮膚から抽出したコラーゲンから作られており、完全に無菌的な状態にした後、非常に薄いシート状に加工し、さらにしみこませた薬物がゆっくりしみだす(徐放化)ような加工をしています。このシートに bFGF をあらかじめしみこませ、心臓幹細胞を移植した後にこのシートで心臓の表面を覆うことで、bFGF は 2 週間かけて徐々にあなたの体で溶けていき、最後には完全に吸収されてしまいます。このシートはゼラチンでできているため、アレルギーやアナフィラキシーが起こらない限りは体の中で溶けてアミノ酸という栄養素に分解されてしまうので全く健康には問題ありません(ブタの皮膚はウシの医療材料と異なり、狂牛病の心配もありません)。

生体吸収ゼラチン

ハイドロゲルシート

私たちは、この治療法に用いる細胞(心臓幹細胞)と薬剤(bFGF)含有生体吸収性ゼラチンシートの有効性と安全性を確認するために、十分な予備実験を行いました。まずヒト心臓幹細胞の培養実験を行い、細胞を増殖させ保存することができ、かつ保存した細胞が心筋細胞を造る能力を維持していることを確認しました。続いて人間に近い大きさの動物(ブタ)を用いてヒトの重症慢性虚血性心不全と似た状態を作成し、心臓幹細胞を用いて治療する実験(bFGF 含有生体吸収性ゼラチンシート+心臓幹細胞移植)を行い、良好に心筋組織が再生されることを確認しました。そして治療によって再生された心筋組織により動物の心臓の機能は大きく(心機能評価のための定められた基準(駆出率)で 10%近く)も改善しました。この時、移植された動物には治療に関連した好ましくない事象(副作用)は認められませんでした。今回の臨床試験は、このような予備実験の結果に基づいて計画しました。この工夫により心筋組織再生が促進され、短期間で難治性の心不全を治療するに必要な心筋組織の再生が得られる可能性があります

もちろん、この心筋組織の再生を促す新しい治療方法はまだ研究段階であり、科学的にも有効だと認められていません。したがって、この治療法により本当に人間の体の中で心筋組織が増え、心臓の力が強くなり、心不全が治療できるかどうかについて調べるのが、この臨床試験の目的となっています。

5. 臨床試験への参加・辞退について

公平な立場で試験の内容を説明させていただくために、CRC(臨床試験コーディネーター)の同席のもと、試験についてのお話を聞いていただきます。

この臨床試験に参加することに同意された後でも、臨床試験が開始されてからでも、あなたが辞退を申し出た時はいつでも自由に辞退することができます。

辞退されてもあなたに最も適した治療を行いますし、あなたが不利な扱いを受けたりすることはありません。また、臨床試験に参加された後に新たに副作用などの情報が得られた場合は、あなたやご家族の方にお知らせします。その場合、この臨床試験を続けるかどうか、あなたの自由な意思で決めていただきます。

あなた自身が体調を崩された場合など、担当医師からあなたに移植手術の延期をお願いする場合があります。その場合は、あなたが臨床試験を継続するかどうかを担当医師が再度確認しますので、あなたの自由な意思で決めて下さい。

6. この臨床試験の対象者と臨床試験の予定期間と参加人数

この臨床試験は、京都府立医科大学医学部附属病院のみで行われ、実施予定期間は、2009年10月から2012年8月31日です。期間中に6名の患者さんに参加していただく予定です。また、治療が行われた後、最低1年間はスケジュールにしたがって検査を受けてもらうことになっております。

この臨床試験の対象となる方は、

- ・20才以上 80才以下
- ・重症の虚血性心疾患をもち、冠動脈バイパス術の適応がある
- ・慢性心不全の病期進行度がステージ D(もっとも重症)
- ・心不全症状の分類でステージ 3 もしくは 4(4 がもっとも症状が重い)
- ・術前の検査で心機能が低く、定められた基準(駆出率 15%以上、35%以下)に当てはまる方

この基準にあてはまる方でも、下のいずれかにあてはまる方は対象となりません

- ・妊娠中、授乳中および妊娠の可能性のある方
- ・新たな心筋梗塞、不安定狭心症発症後 28 日以内の方
- ・障害を受けている心筋の部位が大きく、左心室を切除する手術や心臓の人工弁手術(弁形成術や弁置換術)が必要である
- ・心筋組織を取る検査(心筋生検)をすることができない
- ・現在治療中の悪性新生物がある、もしくは 3 年以内に悪性新生物が見つかった
- ・血液透析を行っている
- ・肝硬変がある
- ・コントロールの悪い糖尿病(HbA1c>8.0)がある
- ・5cm 以上の大動脈瘤(解離性大動脈瘤を含む)がある
- ・心原性ショック状態である
- ・活動性感染症(治療を必要とする感染)がある
- ・薬物依存症(アルコールを含む)である
- ・HIV 抗体陽性である
- ・活動性出血性疾患(消化管出血、外傷その他)がある
- ・ゼラチンやゼラチンを含む薬や食品でアレルギーが起きたことがある(事前に良くお話を聞いて、皮膚でゼラチンアレルギーを確かめる検査(パッチテスト)やゼラチン IgE の検査も行って確認します。)
- ・遺伝子に核型の異常がある