

- ・基底膜上に弱く連続的に発現
- ・基底膜上に強く連続的に発現
- b)電顕的観察：VII 型コラーゲン又は XVII 型コラーゲンにより形成される基底膜部接着構造である係留線維（VII 型コラーゲン）やヘミデスモゾーム（XVII 型コラーゲン）の形成程度を電顕的に検討する。具体的には、得られた電顕画像を基に、基底膜部の単位長さあたりの係留線維数あるいはヘミデスモゾーム数を計測し、係留線維はその形成程度と併せて骨髄間葉幹細胞移植前後で比較検討する。係留線維の形成程度は以下の基準で評価する。
  - ・係留線維の形成が確認されない
  - ・幼弱な係留線維をわずかに形成
  - ・幼弱な係留線維を数多く形成
  - ・成熟した係留線維を形成
- c)VII 型コラーゲン又は XVII 型コラーゲンの定量:皮膚片から RNA を抽出し、RT-PCR 法により VII 型コラーゲン又は XVII 型コラーゲンの発現を定量し、欠損基底膜分子の発現程度を評価する。具体的には、VII 型コラーゲンまたは XVII 型コラーゲン mRNA 発現量（GAPDH 発現量に対する相対値、総 VII 型コラーゲン（または XVII 型コラーゲン） mRNA 発現量に対する父親由来および母親由来変異 mRNA 発現量の相対値）を real-time PCR により測定し、骨髄間葉系幹細胞移植前後で比較検討する。但し、遺伝子変異が同定されていない症例では GAPDH 発現量に対する相対値のみ測定する。

#### 7) 有害事象

##### (1) 観察項目

治療を開始してから研究参加終了まで、被験者に起きた有害事象を記録する。

#### 8) 併用治療

##### (1) 観察項目

臨床研究参加期間にわたって、被験者に行われた併用治療を記録する。

### 7.2.2. ドナーの観察・検査項目

#### 1) ドナー背景

##### (1) 観察時期

適格検査

##### (2) 観察項目

生年月日、性別、身長、体重、既往歴、現在罹患している疾患

#### 2) 臨床症状の観察

##### (1) 検査時期

適格検査、骨髄液採取直後、1 週後

##### (2) 方法および注意点

全身症状など非特異的変化にも留意する。

##### (3) 観察項目

###### ① バイタルサイン

a) 血圧（収縮期、拡張期）

b) 脈拍

c) 体温

###### ② 身体所見

a) 呼吸音聴診

- b) 心音聴診
- c) 腹部触診

### 3) 血液検査

- (1) 検査時期  
適格検査、骨髄液採取直後、1 週後
- (2) 方法および留意点  
原則として大阪大学医学部附属病院臨床検査部において検査を行う。
- (3) 検査項目
  - ① 血液学的検査  
赤血球数、ヘモグロビン、白血球数、血小板数、白血球分画
  - ② 遺伝学的検査  
HLA 検索 (A、B、DR ローカス) (適格検査のみ)
  - ③ 生化学的検査  
血清電解質 (Na、K、Cl)、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、AST、ALT、CRP
  - ④ 感染症検査  
梅毒、HIV、HBV、HCV、HTLV、パルボウイルス B19 (適格検査のみ)

### 4) 有害事象

- (1) 観察項目  
血清を採取してから骨髄液採取1週後の観察までに、ドナーに起きた有害事象を記録する。

### 5) 併用治療

- (1) 観察項目  
骨髄液を採取してから骨髄液採取 1 週後の観察までに、ドナーに行われた併用治療を記録する。

## 8. 被験者の安全性の確保

### 8.1. 基本的事項

被験者及びドナーの安全性を確保するために、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」の規定に基づき以下の条項を定める。

- 1) 研究期間全体及び研究終了後における安全対策
  - (1) 研究責任者又は分担者は、被験者及びドナーの選択基準及び除外基準を遵守する。
  - (2) 被験者が本研究の研究責任者と分担者以外の医師の治療を受ける場合には、本研究に参加していること及び本研究の内容を当該医師に通知するように被験者に説明する。また、研究責任者又は研究分担者は、必要時には当該医師に臨床研究に関する情報を提供する。
  - (3) 本研究終了後も出来る限り長期にわたって診察を行い、有害事象の発現の有無について注意を払う。
  - (4) 被験者が健康状態の異常を感じた場合には直ちに研究責任者又は分担者に連絡するよう指導する。
  - (5) 研究責任者又は分担者は、被験者又はドナーに有害事象が生じ、治療が必要であると認めるときは、その旨を当該被験者又はドナーに伝え、適切な医療を提供する。

## 2) 採取段階における安全対策

### (1) ドナーの安全

- ① 採取術前のドナーの全身状態を把握し、採取術による危険性を最小限にするよう努力する。危険と考えられる場合は採取術を中止又は延期するなどドナーの安全性を最優先とする。
- ② 採取後のドナーの状態を十分観察し、有害事象の有無について把握する。有害事象が生じた場合は、速やかに対処する。

### (2) 被験者の安全

- ① ドナースクリーニングにより細胞提供者としての適格性を確認する。
- ② 骨髄液の採取に当たっては、採取の過程における微生物等の汚染を防ぐために必要な措置を講じる。
- ③ 搬送容器については清浄度の保証があるもの、外部から微生物侵入の危険性のないものを選択する。

## 3) 培養段階における安全対策

- (1) ヒト幹細胞を扱う作業区域及び器材については無菌状態を確保し、定期的な保守、点検等により、その清浄度を保つように努めるとともに、その記録を作成し保存する。
- (2) 取違い又は細菌、真菌、ウイルス等の伝播の危険性を避けるため、複数の提供者からのヒト幹細胞を同時に同一区域内で扱わない。
- (3) 細菌、真菌、ウイルス等による汚染の危険性を排除する。
  - ① 提供者のスクリーニング記録の確認
  - ② 調製工程における汚染防止
  - ③ 調製の各段階での試験及び検査
  - ④ 妥当性の確認された方法による不活化及び除去の導入

## 4) 移植段階における安全対策

- (1) ドナーのスクリーニング、最終調製物の試験及び検査の結果、調製番号、ロット番号その他の情報を管理する。
- (2) 被験者について、将来新たに病原体等に感染した場合に、その原因が当該臨床研究に起因するかどうかを明らかにするため、最終調製物を適切な期間保存するとともに、当該被験者に骨髄間葉系幹細胞を移植する前後の記録を、総括報告書を提出した日から少なくとも20年間保存するものとする。
- (3) 被験者に病原体感染等の有害事象が起きた場合に当該情報を把握できるよう、また、最終調製物に問題が生じた場合に被験者の健康状態等が把握できるよう、適切な措置をとるものとする。また、この措置を実施するため、被験者から必要な情報の提供や保存について協力を受けられるよう、研究者等に対してあらかじめ指示しておくものとする。

## 8.2. 有害事象の定義

「有害事象」とは、被験者が治療を開始してから研究参加終了まで、及びドナーが骨髄液を採取してから骨髄液採取 1 週後の観察までに起きる、あらゆる好ましくない又は意図しない徴候（一般臨床検査値の異常変動を含む）、症状、または病気のことであり、プロトコル治療との因果関係の有無は問わない。プロトコル治療前に存在していた症状の臨床的に有意な悪化もまた有害事象である。頻度や程度に於いて臨床的異議がないと考えられる生理的変動は有害事象として考えない。

重篤な有害事象とは症状の程度に関わらず、以下の基準に従って、重篤か否かを判定する。

- ①死亡
- ②死亡につながる恐れのあるもの

- ③治療のために入院または入院期間の延長が必要とされるもの
- ④障害
- ⑤障害につながるおそれのあるもの
- ⑥①~⑤に準じて重篤なもの
- ⑦後世代における先天性の疾病または異常

### 8.3. 有害事象の評価

臨床研究の実施中に観察された有害事象の重症度は Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTC-AE Ver4.0 日本語版 2011 年 12 月 17 日版) に基づいて決定する。

- Grade 1 軽症；症状がない、または軽度の症状がある；臨床所見または検査所見のみ；治療を要さない
- Grade 2 中等症；最小限/局所的/非侵襲的治療を要する；年齢相応の身の回り以外の日常生活動作の制限
- Grade 3 重症または医学的に重大であるが、ただちに生命を脅かすものではない；入院または入院期間の延長を要する；活動不能/動作不能；身の回りの日常生活動作の制限
- Grade 4 生命を脅かす；緊急処置を要する
- Grade 5 有害事象による死亡

### 8.4. 有害事象発現時の対応

有害事象の発現に際しては、適切な救急処置を施し、被験者の安全の確保に留意し、必要に応じて専門医師による診断を受けることにより原因究明に努める。被験者の臨床研究参加中及びその後を通じて、臨床上問題となる臨床研究に関連した重大な有害事象に対して必要に応じて十分な医療措置を講じる。

研究責任者は症例報告書に種類、発現日、程度、重篤か否か、経過及び臨床研究との因果関係等を記載する。また、発生した有害事象、特に本研究との因果関係が否定できない事象については、可能な限り追跡調査を行う。

重篤な有害事象が認められた場合は大阪大学医学部附属病院「ヒト幹細胞を用いる臨床研究における有害事象への対応に関する手順書」（以下「有害事象手順書」と記す。）に従い病院長に報告し、当該臨床研究との因果関係や臨床研究継続の可否などの審議を受け、必要と認めた場合は臨床研究を中止する。さらに、「有害事象手順書」に従い、研究との因果関係が認められ厚生労働大臣への報告の必要があると認められた場合、病院長は厚生労働大臣に報告する。研究期間のみならず研究終了後の追跡調査において「重大な出来事」が明らかになった場合も厚生労働大臣への報告を行う。

### 8.5. 予想される有害事象とその対応

#### 8.5.1. 予想される有害事象

- 1) ドナーの予想される有害事象
  - (1) 骨髄炎（骨髄感染症）
  - (2) 血腫
  - (3) 血球減少
  - (4) 敗血症
  - (5) 穿刺針の遺留
  - (6) 穿刺部位の疼痛
  - (7) 麻酔によるアナフィラキシーショック
- 2) 被験者の予想される有害事象

- (1) 感染症
- (2) アナフィラキシーショック
- (3) 皮疹
- (4) 発熱

#### 8.5.2. 有害事象への対処

- 1) ドナーに予想される有害事象への対処
  - (1) 抗生物質の投与などにより対処する。
  - (2) 止血を確認する。万が一出血が続いている場合には透視下に塞栓術を行う。ほとんどの場合には自然吸収すると考えられるが、疼痛がある場合には疼痛管理で対処する。
  - (3) 必要に応じて輸血などを行う。
  - (4) 抗生剤、抗真菌剤投与により治療を行う。
  - (5) 皮膚切開などにより遺留針を除去する。
  - (6) 疼痛管理を行う。
- 2) 被験者に予想される有害事象への対処
  - (1) 抗生剤の投与を行う。
  - (2) 副腎皮質ステロイド、エピネフリンなどの処置を行う。また呼吸障害時には人工呼吸管理を行う場合もある。
  - (3) 副腎皮質ステロイド、抗ヒスタミン等の投与を行う。
  - (4) 適切な診断の基に解熱剤の投与などを行う。

### 9. 被験者毎の臨床研究中止の基準及び手順

#### 9.1. 基準

研究責任者又は分担者は、以下の場合には、当該被験者の研究を中止・中断する。

- 1) ドナー骨髄液の採取を 2 回行い、2 回とも何らかの理由により規格にあった骨髄間葉系幹細胞が得られなかった場合。
- 2) 1)の他に、研究実施計画書を遵守したプロトコル治療が不可能となった場合。
- 3) 被験者またはドナーより同意撤回の申し出があった場合。
- 4) 有害事象の発現を認め、研究責任者又は分担者が当該被験者の臨床研究の継続が困難と判断した場合。
- 5) プロトコル治療開始後、被験者またはドナーが適格基準を満たしていなかったことが判明した場合。
- 6) 「11.2.1 研究全体の中止の基準」により本臨床研究全体が中止または中断された場合。
- 7) 被験者またはドナーの体調の変化などにより一時的に臨床研究の継続が不可能であると判断した場合、被験者の臨床研究を中断し、回復を待って、可能であれば再開する。なお、再開する場合は、臨床研究中断後、再開までの期間が 6 カ月を超えないこと。
- 8) その他、研究責任者又は分担者が、研究の中止を適切と判断した場合。

#### 9.2. 手順

研究責任者が当該被験者の臨床研究の継続が可能かどうかを判断し、不可能な場合は中止の手続きを行う。

- 1) 研究責任者又は分担者は、研究を中止する旨を当該被験者のドナー及び当該被験者に速やかに説明し、適切な医療の提供、検査、その他必要な措置を講じる。

- 2) 症例報告書に中止の理由及び中止年月日を記載する。

## 10. 臨床研究実施計画書の遵守、逸脱又は変更

### 10.1. 臨床研究実施計画書の遵守

本臨床研究は、被験者またはドナーの緊急の危険を回避するためのものである等医療上やむを得ない場合を除き、本実施計画書を遵守して実施する。

### 10.2. 実施計画書からの逸脱又は変更

研究責任者又は分担者は、被験者またはドナーの緊急の危険を回避するためのものである等医療上やむを得ない事情があれば、本実施計画書からの逸脱を行うことができる。その際には、研究責任者は、内容及び理由を、可能な限り早急に病院長を経てヒト幹細胞臨床研究審査委員会に報告する。また、研究責任者又は分担者は、本実施計画書から逸脱した場合は理由のいかんによらずすべてこれを記録する。

また、本実施計画書の変更・改訂が適切な場合には、その案を、病院長を経てヒト幹細胞臨床研究審査委員会に提出してその承認を得る。変更の際には変更することの倫理的、科学的、及び医学的妥当性について十分検討する。逸脱・変更の際しての手続きは「ヒト幹細胞を用いる臨床研究規程」第7条、第19条に従う。

## 11. 臨床研究の終了又は中止及び中断

### 11.1. 研究の終了

目標症例の登録が予定期間内に終了した場合、登録症例の最終研究期間終了日を研究の終了とし、以下の手順をふむ。

#### 11.1.1. 手順

「ヒト幹細胞を用いる臨床研究規程」第11条及び「ヒト幹細胞を用いる臨床研究の中止、中断又は終了に関する手順書」に従う。

### 11.2. 研究全体の中断・中止の基準及び手順

#### 11.2.1. 基準

研究責任者は、以下の場合に、臨床研究全体を中止又は中断する。

- 1) 「ヒト幹細胞を用いる臨床研究規程」第5条に基づき、病院長が大阪大学医学部附属病院ヒト幹細胞臨床研究審査委員会の答申を受け、臨床研究を継続すべきでないと決定し、研究責任者に通知した場合、本臨床研究を中止する。
- 2) 重篤な有害事象等の重大な事態が発生した場合、本臨床研究を中断し、「11.2.2. 手順」に従う。
- 3) 新たな被験者もしくはドナーの安全又は本臨床研究の実施に悪影響を及ぼす可能性のある重大な情報を入手した場合、本臨床研究を中断し、「11.2.2. 手順」に従う。
- 4) その他の理由により研究責任者が本臨床研究を中止又すべきである、又は継続が不可能であると判断した場合、本臨床研究を中止する。

#### 11.2.2. 手順

「11.2.1. 基準」の1)による中止の場合、研究責任者は新たな被験者のエントリーを中止し、実施中の被験者の臨床研究を可能な時点で中止する。

2)、3)による中断の場合は、速やかに病院長に報告するとともに、実施中の被験者の臨床研究を可能な時点で中断し、必要に応じて適切な処置及び原因究明を行う。また、新たな

被験者のエントリーを中断する。なお、病院長がヒト幹細胞臨床研究審査委員会の答申を受け、継続可能であるとの決定を下した場合は再開することができるが、継続すべきでないとの決定を下した場合には、本臨床研究を中止する。

臨床研究の中止の場合はいずれの場合にも、研究責任者は速やかに病院長に中止の報告を行い、できる限り速やかに臨床研究総括報告書を病院長に提出する。病院長はさらにヒト幹細胞臨床研究審査委員会に報告するとともに、臨床研究総括報告書についてヒト幹細胞臨床研究審査委員会の意見を求める。

なお、臨床研究の中止及び中断に関わる手続きは「ヒト幹細胞を用いる臨床研究の中止、中断又は終了に関する手順書」に従う。

## 12. 同意取得

### 12.1. 同意説明文書及び同意書の作成

同意説明文書は全ての被験者、ドナー及び被験者の家族などが理解できる平易な言語と用語を用いて作成する。(添付文書「患者さんへ」「骨髄を提供される方へ」参照)

また、同意書及び同意撤回書の様式も作成されている。(添付文書「同意書」「同意撤回書」参照)

### 12.2. 同意説明文書及び同意書の改訂

同意説明文書及び同意書が改訂された場合は既に臨床研究に参加している被験者及びドナーにおいても改訂された同意説明文書により再び説明を行い、再同意を文書により取得する。なお、すでに研究が終了している被験者及びドナーにはその限りではない。

### 12.3. 同意説明及び同意取得の時期及び方法

スクリーニングを行う前に外来において同意説明を行い、被験者本人及びドナーによる同意を得る。

研究責任者又は分担者は、本研究への参加候補となる被験者本人及びドナーに対して、同意説明文書(添付文書「患者さんへ」「骨お髄を提供される方へ」参照)を提供し、口頭で十分な説明を行った後、本研究への参加の同意を文書で取得する。(「ヒト幹細胞を用いる臨床研究におけるインフォームド・コンセントに関する手順書」を参照)。

なお、本研究においては、単独で同意を取得できない者は被験者及びドナーとしない。

## 13. 登録

以下の手順に従い被験者を登録する。

### 1) 同意の取得

研究責任者又は分担者は、本研究への参加候補となる患者本人とドナーに対して、同意説明文書を提供し十分な説明を行った後、本研究への参加の同意を文書で取得する。

(「12. 同意取得」を参照)

### 2) 被験者名簿の作成

研究責任者、分担者又は研究協力者は、研究参加に文書で同意を得た患者に対して、被験者識別コードを付与し、「被験者名簿」に記載する。研究責任者は被験者名簿を保管する。

被験者識別コードは、プロジェクト承認番号を特定する6桁の英数字、被験者を特定する3桁の数字から構成される。後者の3桁は同意を取得した患者に001番から順に番号を付与する。

### 3) スクリーニング検査の実施

研究責任者又は分担者は、研究参加に文書で同意を得た患者に対して、「7. 観察・検査項目とスケジュール」に従ってスクーニングを実施する。

- 4) 症例登録票の作成  
研究責任者又は分担者は、患者背景及びスクリーニング結果に基づいて、「3. 対象疾患と適格基準」で規定する登録時の選択基準のすべての項目を満たし、除外基準のいずれの項目にも該当しないことを確認し、「症例登録票」に必要事項をすべて記載する。
- 5) 症例登録票の送付  
研究責任者、分担者又は研究協力者は、「症例登録票」を複写して診療録とともに保管し、データセンターにその原本を送付する。
- 6) 適格性の判定  
データセンターは受領した「症例登録票」の記載内容に基づいて適格性を確認する。データセンターはこの記入済み「症例登録票」を保管する。
- 7) 被験者の登録  
データセンターは、適格と判定した場合には、適格と判定された被験者に「登録番号」を付与し、登録番号を記載した「症例登録確認書」を研究責任者に送付する。この「症例登録確認書」を送付した時点で、適格と判定した患者を被験者として「登録」したものとす。不適格と判定した場合には、「登録における不適格連絡書」を研究責任者に送付する。
- 8) 治療の開始  
研究責任者又は分担者は、受領した「症例登録確認書」に登録完了の旨が記載されていることを確認して、登録後の必要な検査及び治療を開始する。  
研究責任者、分担者又は研究協力者は、「症例登録確認書」又は「登録における不適格連絡書」を保管し、「症例登録確認書」に記載された登録番号を被験者名簿に記載する。

## 14. 症例報告書

### 14.1. 症例報告書の作成

- 1) 研究責任者又は分担者は、登録した被験者およびドナーについてそれぞれ症例報告書を作成し、記名捺印又は署名の上、データセンターに提出し、その写しを保存する。
- 2) 臨床研究コーディネーターが症例報告書の作成補助を行う場合には、研究責任者又は分担者の監督のもと、医学的判断を伴わない範囲での原資料からの転記にとどめる。

### 14.2. 症例報告書の記載上の注意

- 1) 黒色のボールペン又は黒インクのペンで記載する。
- 2) □は該当するものにレ印又は×印を記載する。
- 3) 観察・検査未実施でデータがない場合には、記載欄に斜線 (/) を入れる。
- 4) 原資料との整合性を確認する。

### 14.3. 症例報告書の変更又は修正

- 1) 症例報告書の変更又は修正の際には、変更又は修正箇所を二重線 (=) で消し、変更又は修正箇所の近隣に正しい内容を記載し、変更又は修正日を併記の上、捺印又は署名する。当初の記載内容を不明瞭にしないよう修正液、砂消しゴム等は使用しない。
- 2) 重要事項 [同意、エンドポイントの評価 (有害事象名、重症度、重篤性、転帰、治療との因果関係、コメント、異常変動の判定)] に関する変更又は修正では、変更又は修正日に加えて変更又は修正の理由を記載し、捺印又は署名する。
- 3) データセンターへ提出後の症例報告書の変更又は修正は、データセンターが指定する DCF (Data Clarification Form) を介して行う。



#### 14.4. 症例報告書の確認

- 1) 分担者が症例報告書を作成した場合には、研究責任者は、症例報告書をデータセンターに提出する前に、その記載内容を点検し、問題がないことを確認した上で記名捺印又は署名し、データセンターに提出する。
- 2) 研究責任者は、データセンターに提出する症例報告書の記載内容が正確かつ完全で読みやすく、提出時期が適切であること、及び被験者の識別に被験者識別コード及び登録番号を用いていることを保証する。

#### 14.5. 症例報告書の提出

研究責任者、分担者、研究協力者は、ドナーの骨髄採取1週後観察終了後、および当該症例の4週後、12週後、24週後、48週後観察終了後それぞれ6週以内、又は臨床研究中止後6週以内に症例報告書を作成し、記名捺印又は署名した上でデータセンターへ提出する。

### 15. 統計学的考察（参考データ）

#### 15.1. 目標登録患者数の設定根拠

「5.4. 目標登録患者数の集積可能性」で示されているとおり、本研究に登録できそうな候補被験者数は少なくとも年間15例から20例である。本研究において、登録後から骨髄間葉系幹細胞移植に至るまでの脱落例が存在しないもとで同意取得割合が2割から3割程度とすると、2年の登録期間のもとで6例が集積可能と予測される。したがって本研究の目標症例数は症例集積可能性の視点から6例とした。

#### 15.2. 解析対象集団の定義

##### 15.2.1. 集団の定義

主要評価項目における解析対象集団は安全性解析対象集団とする。その他の評価項目における主たる解析対象集団は最大の解析対象集団とする。各集団の定義は以下の通りである。

- 1) 安全性解析対象集団  
骨髄間葉系幹細胞の試験移植の少なくとも一部が実施されている。
- 2) 最大の解析対象集団
  - (a) 適格基準を満たしている。
  - (b) 骨髄間葉系幹細胞の試験移植の少なくとも一部が実施されている。
  - (c) 移植を行った潰瘍部位の評価において、移植対象潰瘍部位の移植前の潰瘍面積及び移植後少なくとも1時点での潰瘍面積の測定値が得られている。

##### 15.2.2. 症例のとり扱い基準

症例のとり扱いは以下のとおりとする。

- 1) 不適格例  
「3.3.1. 選択基準」に違反する症例、「3.3.3. 除外基準」に抵触する症例を不適格例とする。
- 2) 骨髄間葉系幹細胞の試験移植前の中止・脱落例  
骨髄間葉系幹細胞の試験移植前の中止・脱落例（以下の3）を参照）は解析対象集団に含めない。
- 3) 中止・脱落例  
同意撤回、「3.3.1. 選択基準」を満たしていなかった症例、「3.3.3. 除外基準」に抵触していた症例、「9.1. 基準」で示される被験者毎の臨床研究中止の基準により中止した

症例を中止例とする。また、本研究と直接関係のない理由により、追跡不能となった症例を脱落例とする。

### 15.3. 解析項目・方法

以下に主たる集計及び解析の方法を示すが、本研究は少数例であるため、必要に応じて被験者ごとのデータを直接示すか、被験者ごとに適切な図表を用いてデータを記述する。また、「15.3.4. 主要評価項目及び副次評価項目」に関しては、必要に応じて、得られたデータに対して諸種の統計的方法を適用し、探索的な解析も行う。

#### 15.3.1. 解析対象集団

登録例数、各解析対象集団に属する例数、「15.2.2. 症例のとり扱い基準」における不適格例数、骨髄間葉系幹細胞の試験移植前の中止・脱落例数、中止・脱落例数を集計する。また、中止・脱落例についてはその理由を記述する。

#### 15.3.2. 背景情報

人口統計学的変数、患者特性について適切な要約統計量を用いて記述する。ただし、ここでの解析対象集団は安全性解析対象集団とする。

#### 15.3.3. 治療情報

骨髄間葉系幹細胞の試験移植、骨髄間葉系幹細胞移植、併用治療、支持治療、後治療の状況について適切な要約統計量を用いて記述する。ただし、ここでの解析対象集団は安全性解析対象集団とする。

#### 15.3.4. 主要評価項目及び副次評価項目

- 1) 有害事象の有無、種類、重症度、発現頻度及び発現期間  
有害事象の種類と発現頻度、各有害事象の重篤度・重症度の分布、発現期間の分布を頻度表で要約して示す。
- 2) 移植を行った潰瘍部位の評価
  - ① 潰瘍面積縮小程度  
移植対象潰瘍部位ごとに、移植前後の潰瘍面積、及び各移植後の移植前からの潰瘍面積の変化量の経時的推移をグラフで示す。  
移植前後の潰瘍面積、及び各移植後の移植前からの潰瘍面積の変化量に対して繰り返し測定値の分散分析を行い、それらの経時的変化を評価する。
  - ② 潰瘍の性状（出血の有無、か皮の有無）  
移植対象潰瘍部位ごとに、出血の有無、及びか皮の有無の経時的推移を表で示す。
  - ③ 潰瘍部位細菌検査  
被験者ごとの所見を経時的に表に記述する。必要に応じて記述統計量を算出する。
- 3) 移植を行った潰瘍部位皮膚の組織学的検討  
被験者ごとの所見の経時的に表に記述する。必要に応じて記述統計量を算出する。

## 16. 効果安全性評価委員会

### 16.1. 効果安全性評価委員会の設置

責任者は、効果安全性委員会を設置し、以下に定める 3 名以上の効果安全性評価委員を任命する。

- 1) 効果安全性評価委員は、責任者及び分担者から独立した者から選出する。
- 2) 効果安全性評価委員は、適切な学識を持った臨床研究の専門家から選出する。
- 3) 効果安全性評価委員は、当該医療領域の臨床医を少なくとも 1 名含むこととする。

## 16.2. 効果安全性評価委員会の責務

- 1) 責任者の求めに応じ、重篤な有害事象について本研究との因果関係に関する意見を述べる。
- 2) 責任者の求めに応じ、潰瘍縮小効果、投与部位の組織学的所見について意見を述べる。
- 3) 効果安全性評価委員の意見は、メールまたはFAXで責任者に提出する。
- 4) 効果安全性評価委員は、被験者に関する守秘義務及び責任者から提供される臨床研究の資料・情報に関する守秘義務を負う。大阪大学医学部附属病院以外から効果安全性評価委員を任命する場合は、機密保持に関する文書を取りかわす。

## 17. 臨床研究の品質管理

### 17.1. 品質管理

研究責任者、分担者及び協力者は、本実施計画書を遵守して研究を行う。また、研究責任者、分担者及び協力者は、臨床研究の実施に関わるそれぞれの手順書に従って研究を行う。

#### 17.1.1. モニタリング

モニターは、患者の人権、安全性及び福祉が保護されていること、臨床研究が最新の実施計画書、及び「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」を遵守して実施されていること、研究責任者又は分担者から報告されたデータなどが正確かつ完全であることを、原資料などの臨床研究関連記録に照らして確認するために「未来医療・ヒト幹細胞臨床研究モニタリング手順書」に従ってモニタリングを実施する。なお、モニタリングは、臨床研究開始前、実施中及び終了時に研究責任者、分担者、臨床研究実施部門、未来医療センター等を訪問して行う。

#### 17.1.2. データ管理

データの品質管理は、「データマネジメントに関する標準業務手順書」に従って行う。

## 18. 臨床研究の倫理的実施

本臨床研究は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則に留意し、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」及び本実施計画書を遵守して実施する。

### 18.1. ヒト幹細胞臨床研究審査委員会

ヒト幹細胞臨床研究審査委員会は、病院長の諮問を受け、臨床研究実施計画書、説明文書（「患者さんへ」「骨髄を提供される方へ」）、症例報告書の様式の記載内容にもとづき、倫理的、科学的及び医学的妥当性の観点から臨床研究の実施及び継続について審議を行う。

### 18.2. 臨床研究の進捗報告

本臨床研究の実施期間中少なくとも1年に1回以上、及び終了時には進捗状況を上記ヒト幹細胞臨床研究審査委員会に報告する。（「ヒト幹細胞を用いる臨床研究規程」を参照）

## 18.3. 被験者の人権及び個人情報の保護に関する事項

### 18.3.1. 被験者の人権

研究責任者及び分担者は、被験者の人権の保護の観点から被験者の健康状態、症状、年齢、性別、同意能力等を十分考慮し、本研究への参加を求めることの適否については慎重に検討する。また、社会的に弱い立場にある者を被験者とする場合には、特に慎重な配慮を払うこととする。

### 18.3.2. 個人情報の保護

被験者の同意取得後はデータ管理、製造管理など、症例の取り扱いにおいては全て連結可能匿名化された被験者識別コード又は登録番号により管理され、匿名化コードと氏名の対照表及び氏名記載同意書は施錠可能な書類保管庫に厳重に保管する。また、公表に際しては被験者の名前が直接公表されないことがない等、被験者の個人情報の保護については十分に配慮する。

## 19. 記録等の保存

病院長は、保存すべき記録等の保存に関して未来医療センターに委託する。臨床研究に係る文書及び記録等は、臨床研究を中止又は終了し総括報告書提出した日から少なくとも20年間保存する。本実施計画書及び症例報告書は変更・修正があった場合はその履歴を適切に保存する。

## 20. 臨床研究総括報告書の作成

研究責任者は、臨床研究の中止又は終了後、未来医療センターの協力のもと、速やかに臨床研究総括報告書を作成する。

## 21. 臨床研究終了後の追跡調査の方法

研究終了後も定期的外来診療により合併症の有無、及び有効性について評価を行い、カルテに記載するとともに追跡調査のデータとして保管する。

臨床研究終了後の追跡調査期間は研究終了後10年間以上とし、定期的な外来受診を促す。

なお、臨床研究終了後の定期的外来診療で得られた追跡調査のデータは、解析には含まない。

## 22. 臨床研究費用並びに健康被害の補償

### 22.1. 研究の資金源及び利益相反

本臨床研究における治療などにかかる費用は大阪大学医学部附属病院が負担する。

また、本臨床研究にかかる費用の一部は、厚生労働科学研究費から賄われる。

本臨床研究に関しては特定の企業などの資金提供を受けていないため、利益相反に係わる事項は生じない。

### 22.2. 臨床研究に関する費用負担

本臨床研究にかかる費用は、大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学が負担する。

### 22.3. 健康被害の補償等

本臨床研究に起因する有害事象が発生した場合、研究者は医学上最善の処置を取る事により被験者の回復に努める。この際には、日常の治療の場合と同様に、保険診療により検査及び治療を行うことになり、別途、補償制度はない。

## 23. 臨床研究成果の帰属及び研究結果の公表に関するとり決め

本臨床研究により生じる知的財産権は研究者に帰属するものとする。本臨床研究の結果は、総括報告書としてまとめることとする。また必要に応じて論文又は学会発表として公表する。本臨床研究に関し、研究終了前に公表する場合はヒト幹細胞臨床研究審査委員会に、その公表先と内容を申請し、承認を受けなければならない。

公表に際しては被験者の名前が直接公表されない等、被験者の個人情報の保護については十分に配慮する。

## 24. 臨床研究実施体制

### 1)研究責任者

氏名	機関名、部署・所属、役職、電話番号	臨床研究において果たす役割
玉井 克人	大阪大学大学院医学系研究科 病態制御医学専攻分子治療学講座 遺伝子治療学内、再生誘導医学 教授 06-6879-3901	臨床研究の総指揮

### 2)研究分担者

氏名	機関名、部署・所属、役職、電話番号	臨床研究において果たす役割
江副 幸子 (主任)	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター、特任講師 06-6879-6551	臨床研究の計画立案、実施、評価
片山 一郎	大阪大学大学院医学系研究科 情報統合医学・皮膚科学、教授 06-6879-3031	臨床研究計画及び結果の評価
John A. McGrath	University of London, The Guy's, King's College and St Thomas' Hospitals' Medical School, Department of Molecular Dermatology, Professor	臨床研究計画及び結果の評価
菊池 康	大阪大学大学院医学系研究科 遺伝子治療学、特任研究員 06-6879-3901	臨床研究の実施、評価

### 3)研究協力者

#### (1)大阪大学医学部附属病院未来医療センター協力者

氏名	機関名、部署・所属、役職、電話番号	臨床研究において果たす役割
本田 博嗣	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター 医員 06-6879-6551	プロジェクトマネジメント
名井 陽	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター 副センター長・准教授 06-6879-6551	臨床研究品質管理
大河原 弘達	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター 臨床検査技師 06-6879-6551	感染症検査 品質管理責任者 CPC 担当
長尾 杏奈	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター 特任技術職員（臨床検査技師） 06-6879-6560	感染症検査
森永 学	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター	CPC 担当

	06-6879-6551	
山地 学	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター 上級オフィサー 06-6879-6551	プロトコール作成支援
花井 達広	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター 特任技術職員 06-6879-6551	プロトコール作成支援

#### (2)臨床研究コーディネーター

氏 名	機関名、部署・所属、役職、電話番号	臨床研究において果たす役割
佐野 タ子	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター コーディネーター 06-6879-6552	コーディネート
砂山 陽子	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター コーディネーター 06-6879-6552	コーディネート
島本 知美	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター コーディネーター 06-6879-6552	コーディネート

#### (3)モニター

氏 名	機関名、部署・所属、役職、電話番号	臨床研究において果たす役割
渡邊 貴恵	大阪大学医学部附属病院 未来医療センター、モニター 06-6879-6552	モニタリング業務

#### (4)統計解析及びデータマネジメント担当者

氏 名	機関名、部署・所属、役職、電話番号	臨床研究において果たす役割
山本 紘司	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 特任講師 06-6879-5111	統計学的解析
棚原 憲子	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データマネージャー 06-6879-6560 Fax:06-6879-6536	データマネジメント 症例登録

#### 4)データセンター

名称	所在地、電話番号
大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター	大阪府吹田市山田丘 2-15 06-6879-6560 Fax:06-6879-6536 受付時間 9:00~16:00

#### 5)事務局

名称	所在地、電話番号
大阪大学医学部附属病院 未来医療センター	大阪府吹田市山田丘 2-15 06-6879-6552 irb-jimu@hp-mctr.med.osaka-u.ac.jp

#### 6)連絡先

名称	所属、代表者、所在地、電話番号
研究チーム	大阪大学大学院医学系研究科再生誘導医学 玉井克人 大阪府吹田市山田丘 2-2 06-6879-3902
大阪大学医学部附属病院 未来医療センター	大阪府吹田市山田丘 2-15 06-6879-6551 irb-jimu@hp-mctr.med.osaka-u.ac.jp

#### 7)効果安全性評価委員

氏名	機関名、部署・所属、役職、
佐野 栄紀	高知大学 医学部 皮膚科学教室 教授
森田 明理	名古屋市立大学 大学院医学研究科 感覚器・形成医学講座 加齢・環境皮膚科学分野 教授
椋島 健治	京都大学 大学院医学研究科 皮膚生命科学講座 准教授

## 25. 文献

1. Chino T., *et al.* Bone marrow cell transfer into fetal circulation can ameliorate genetic skin diseases by providing fibroblasts to the skin and inducing immune tolerance. *Am J Pathol.* 2008 Sep;173(3):803-14. Epub 2008 Aug 7.
2. Conget P., *et al.* Replenishment of type VII collagen and re-epithelialization of chronically ulcerated skin after intradermal administration of allogeneic mesenchymal stromal cells in two patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Cytherapy* 2010;12:429-431
3. Wo Y., *et al.* Concise Review: Bone marrow-derived stem cell/progenitor cells in cutaneous



- repair and regeneration. *Stem Cells* 2010 May;28(5):905-915
4. Sivamani RK. *et al.* Keratinocyte proximity and contact can play a significant role in determining mesenchymal stem cell fate in human tissue. *FASEB J.* online September 2010.
  5. Wagner JE, *et al.* Bone marrow transplantation for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *N Engl J Med* 2010;363:629-39.
  6. English K., *et al.* Mesenchymal stromal cells: Facilitators of successful transplantation? *Cell Stem Cell*, 2010; 7: 431-442

平成 24 年 11 月 28 日

承認番号：第 HM1102 号

研究課題名：『表皮水疱症患者を対象とした骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究』

文書名：実施計画書

新旧対照表

変更箇所	変更前	変更後	変更理由
概要	選択基準	選択基準 (被験者)	ドナー選択基準の記載追加に伴う修正
概要	除外基準	除外基準 (被験者)	ドナー除外基準の記載追加に伴う修正
概要		<u>選 択 基 準</u> <u>(ドナー)</u> 1) <u>20 歳以上 65 歳未満である者</u> 2) <u>被験者と性の異なる親、又は性の異なる兄弟姉妹である者</u> 3) <u>ドナー本人の文書による同意が得られている者</u>	実務での利便性を向上させるため
概要		<u>除 外 基 準</u> <u>(ドナー)</u> 1) <u>血液疾患、または出血傾向を有する者</u> 2) <u>Hb 11.0g/dL 未満、または血小板 <math>5.0 \times 10^4 / \mu L</math> 未満の者</u> 3) <u>慢性難治性の感染症を有する者</u>	実務での利便性を向上させるため

		<p>4) <u>登録前 6 ヶ月以内にアルコール中毒症又は薬物依存症の既往を有する者</u></p> <p>5) <u>悪性腫瘍を有する者（過去 5 年以内に既往がある者を含む）</u></p> <p>6) <u>感染症（梅毒、HIV、HBV、HCV、HTLV、パルボウイルス B19 のいずれか）を有する者</u></p> <p>7) <u>伝達性海綿状脳症及びその疑いのある者</u></p> <p>8) <u>その他、研究責任者が移植に適さないと判断した者</u></p>	
P8 試験物 製造方法	(4) 培養開始 <u>24 時間後</u> に、、、	(4) 培養開始 <u>3 日以内</u> に、、、	複数回のコールドランで確認した結果、培養開始 48～72 時間後の培地交換で最適結果が得られたため。
P8 試験物 製造方法	(7) <u>2回の継代の後に細胞数を計測し、必要細胞数以下であればもう一度継代を繰り返す。</u> なお、培養期間は20日±10日間とする。また、この時点でfluorescence-activated cell sorter (FACS) 解析を行い、CD105 <sup>+</sup> CD34 <sup>-</sup> 細胞が50%未満であれば培養を中止し、再度ドナーの血清及び骨髓液の採取を行い、同様の工程を経て骨髓間葉	(7) <u>継代時に細胞数を計測し、必要細胞数が得られない場合はもう一度継代を繰り返す。</u> なお、培養期間は20日±10日間とする。	複数回のコールドランで確認した結果、1回の継代で必要細胞数（1x10 <sup>7</sup> 個）が得られることが確認された。そこで、1度目の継代時に必要細胞数が得られない場合にのみ2継代目を行うこととした。また、FACS による細胞純度の確認は移植時の細胞を評価することとした。

	系幹細胞の培養を行う。		
P9 試験物 製造方法	<u>(10) 移植の当日に、試験移植のために細胞の一部（約 100 個分）を剥離し、生理食塩水 100μL に懸濁し、注射筒に充填する。</u>	全文削除	移植当日の細胞規格検査で規格が満たされなければ移植中止となるため、規格検査終了後に試験移植を実施すべきと判断したため、当該項目は規格検査の項目に挿入した。
P9 試験物 製造方法	(12) 移植当日、トリプシンにより細胞を剥離し、1/10 量を用いて細胞数、純度、細胞生存率の検査を行い、 <u>基準を満たすことを確認する。</u> この際、規格に満たない場合は培養細胞を凍結保存し、再度ドナーの血清及び骨髄液の採取を行い、同様の工程を経て骨髄間葉系幹細胞の培養を行う。	(12) 移植当日、 <u>フラスコ 1 つを取り出し、トリプシンにより細胞を剥離し、試験移植のために細胞の一部（約 100 個分）を生理食塩水 100μL に懸濁し、注射筒に充填する。</u> また細胞数、細胞生存率、 <u>純度（fluorescence-activated cell sorter (FACS) 解析）</u> の検査を行い、 <u>規格を満たすことを確認する。</u> この際、規格に満たない場合は培養細胞を凍結保存し、再度ドナーの血清及び骨髄液の採取を行い、同様の工程を経て骨髄間葉系幹細胞の培養を行う。 <u>規格を満たすことが確認された場合は試験移植を行う。尚、試験移植でアナフィラキシー反応が確認された場合は本移植を中止する。</u>	コールドランを実施した結果、細胞剥離開始から細胞規格検査および試験移植終了まで1時間程度かかることが明らかとなり、その間に移植用間葉系幹細胞にダメージが生じることの無いように、フラスコ一つの細胞で細胞規格検査および試験移植を行うこととした。また、試験移植でアナフィラキシー症状が確認された場合は本移植を中止することを明記した。
P9 試験物 製造方法	(13) トリプシンで剥離した骨髄間葉系幹細胞を、PBSで2回洗浄し、 $0.5 \times 10^6$ 個/250μLの濃度になるように、0.5%自己血清加生理食塩水に懸濁し、 <u>2mL注射筒に充填する。</u> 移植に必要な数の注射筒に充填する。	(13) <u>細胞が規格を満たし、試験移植でアナフィラキシー症状がないことを確認した上で、残りのフラスコを取り出し、トリプシンで剥離した骨髄間葉系幹細胞を、PBSで2回洗浄し、<math>0.5 \times 10^6</math>個/250μLの濃度になるように、0.5%自己血清加生理食塩水に懸濁し、1mL注射筒に充填する。</u>	細胞規格検査および試験移植で合格した場合にのみ、本移植に進むことを明記した。なお、コールドランの結果2ml注射筒よりも1ml注射筒の方が正確に移植可能であると判断し、1ml注射筒を使用することとした。