

平成 23-25 年度厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）

分担研究報告書

重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植

-インフォームドコンセント、外部評価委員会・当該臨床研究の発展に対する方策、
アンケート調査、成長発達評価

研究分担者 山口清次（島根大学医学部小児科・教授）

研究要旨

当該臨床研究を正確に理解して頂いた上で同意してもらうために、複数回説明し、かつ、同じ病気の疾患を持つご家族との話し合いの場を設けることにより、ご家族が臨床研究への参加を適切に判断できていると思われた。しかし、移植医療への説明不足と遠方での治療が臨床研究への参加を躊躇する原因となっていた。また、臨床研究に対する外部評価委員会を行うことで、現在のプロトコルを改善し適切にかつ科学的根拠に基づいた臨床研究が行うことができ、また、現在の問題点に対する方策を明らかにすることができた。現治療では根治療法になり得ない可能性が高いため、細胞治療による根治療法を確立するために、間葉系幹細胞の細胞特性を向上させた（骨への遊走能、増殖能、免疫寛容効果に優れた）間葉系幹細胞の分離培養方法の確立および最適な間葉系幹細胞移植方法（骨髄移植、髄腔内投与、臍帯血移植および臍帯由来間葉系幹細胞移植など）の樹立を行う必要がある。臨床研究に参加して頂いた家族にアンケート調査を行うことで、患者の目線からこの臨床研究を評価されることによって、真の意味で目指すべき当該臨床研究の目標が明らかとなった。遠城寺・乳幼児分析的発達検査表を用いて経時的に成長発達を評価した結果、運動精神発達は細胞治療により年齢相当ではないが徐々に伸びていることが明らかとなった。

研究協力者

大藺恵一（大阪大学大学院医学系研究科内科系臨床医学専攻情報統合医学小児科学・教授）
加藤俊一（東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学・教授）
杉本利嗣（島根大学医学部内科第一・教授）

鈴宮淳司（島根大学医学部附属病院腫瘍センター・教授）
服部耕治（甲南女子大学看護リハビリテーション学部理学療法学科・教授）
室月淳（宮城県立こども病院産科・部長）
矢田昭子（島根大学医学部看護学科臨床看護学講座小児看護学・准教授）
竹谷健（島根大学医学部附属病院輸血部・講

師)
蓼沼拓(島根大学医学部附属病院リハビリテーション部)
鳥屋尾ゆう子(島根大学医学部附属病院リハビリテーション部)

A . 研究目的

致死的で治療のない先天性疾患は、それぞれの疾患単位では頻度は少ないが、その病気を持った患者およびその家族だけでなく、医療従事者の医療的、経済的および心理的な負担は計り知れない。重症低ホスファターゼ症も、現時点では確立した治療法がなく、致死的な経過をとる疾患である。この病気に対して、我々は当該臨床研究を行っている。この臨床研究も確立した治療ではないが、インフォームドコンセントの対応によっては、患者および家族に過度の期待を与えたり、不必要な負担をかけることが予想される。したがって、患者および家族が、この臨床研究を出来る限り正確に理解して頂いた上で同意してもらうために、下記の方法でインフォームドコンセントを行った。

当該臨床研究は、確立した治療ではないため、小児医療、整形外科医療、移植医療、骨代謝、再生医療、周産期医療、致死性疾患に対する臨床研究および倫理的配慮などの多岐にわたる分野において、それぞれの専門性が求められる。当該臨床研究を進めるにあたり、それぞれの担当者を配置して体制を整えている。しかし、各専門に対する知識および対応に関しては、我々の体制だけでは十分とは言えない。したがって、それぞれの分野の専門家から当該臨床研究をより適切に行うことができるよう指導を受けるために、外部評価委員会を開催した。また、外部評価委員会からの指摘を受けて、当該臨床研究の発展させる方策を検討した。

臨床研究を行っていく過程で、治療を受けた患者さんおよびご家族が抱く、病気の理解、治療への期待度と問題点を共有することにより、さらなる臨床研究の発展が望まれる。したがって、本治療を受けたあるいは受けている患者さんのご家族の病気の理解度、この臨床研究に望むこと、問題点などを明らかにするためにアンケート調査を行った。

さらに、当該臨床研究を行うことによって救命し骨の石灰化を改善することはできたが、その後の成長発達が健康な子どもたちと同じように進んでいくことが根治療法であるし、患者および家族の最も期待することである。したがって、当該臨床研究を行った患者さんの成長発達の評価を行った。

B . 研究方法

1 . 臨床研究のインフォームドコンセント

まず、本疾患であることが判明し、当該臨床研究について参加の意思がある、あるいは内容を聞きたい旨の連絡があった場合、ホームページ

(<http://www.med.shimane-u.ac.jp/pediatrics/2-2/2-2.html>) からダウンロードして頂いた当該臨床研究の計画書ならびに患者説明書をご両親および担当の医療従事者に内容を確認頂く。内容を確認後、詳細な当該臨床研究の説明を希望された場合、患者さんの入院しておられる医療機関に出向いて、ご家族および医療従事者に直接説明をさせて頂く。その際、患者さんへの治療の説明だけでなく、この時点では不明であるが骨髄提供者に対する説明も行う。この説明の後、ご家族から参加の意思がある場合、患者さんが治療開始基準を満たしており、入院中の医療機関から島根大学医学部附属病院まで移動することが可能なことを確認した後、ご家族に島根大学医学部附属病院までお越し頂き、当該臨床研究について説明させて頂く。さらに、

この治療を受けている、あるいは受けた患者さんおよびご家族の同意が得られた場合、医療従事者がいない状態でご家族同士の話し合いの場を設ける。これらの段階を踏んだ上で、当該臨床研究への参加の同意を確認した。また、実際に骨髄移植を行う前に、再度説明して同意を確認した。なお、同意が得られ治療を開始した後、間葉系幹細胞を移植することに説明を行い、同意を得ることとした。

2. 外部評価委員会・当該臨床研究の発展に対する方策

当該臨床研究を適切かつ順調に遂行するために、また、重篤な有害事象や予期せぬトラブルが生じた場合ご助言を頂くために、それぞれの専門分野の第一人者に外部評価委員になって頂き、過外部評価委員会を開催し、これまでの臨床研究の遂行状況を説明して、ご助言、ご指摘を頂いた。外部評価委員（専門分野）として、大園恵一先生（小児医療、低ホスファターゼ症および骨代謝）、加藤俊一先生（小児医療および移植医療）、杉本利嗣先生（骨代謝）、鈴宮淳司先生（移植医療および臨床研究）、服部耕治先生（再生医療および整形外科医療）、室月淳先生（周産期医療）、矢田昭子先生（小児致死性疾患に対する倫理）、計7名の先生方に就任して頂いた。各先生方だけでなく、先生方の施設あるいは研究班、医療チームの先生方、スタッフも参加していただき、それぞれの専門的な観点からご教示頂き、当該臨床研究を改善した。また、外部評価委員会から頂いたご指導・ご助言を、当該臨床研究の発展に活かすための方策を検討した。

3. アンケート調査

これまで臨床研究に参加して頂いた2名の患者さんのご家族（述べ5名）にアンケート調査を無記名で行った。具体的な質問項

目として、低ホスファターゼ症の印象、臨床研究を受けた理由、臨床研究の利点と問題点、この治療を継続する不安などである。

4. 成長発達評価

これまで臨床研究に参加して頂いた2名の患者さんの身体発育および精神発達に関して、遠城寺・乳幼児分析的発達検査表を用いて経時的に評価した。

（倫理面への配慮）

当該臨床研究は、臨床研究に関する倫理指針に従い、島根大学医の倫理委員会の承認を得た後行っている。

C. 研究結果

1. 臨床研究のインフォームドコンセント

これまで延べ12例の患者さんのご家族へインフォームドコンセントを行った。現時点で、臨床研究に参加、不参加、検討中がそれぞれ、2例、8例、2例である。不参加あるいは検討中の10例中8例が治療開始基準を満たさなかったり、経過中に死亡した。臨床研究を開始している2例については、骨髄移植を1回、間葉系幹細胞移植を複数回（それぞれ5回、9回）行っている。そのたびに臨床研究の説明を行い、同意を得た後、治療を行っている。なお、説明の際、ご家族からの質問が多かった内容として、治療の効果のゴール、間葉系幹細胞移植を行う回数、ドナーの負担、臨床研究が終了した後の治療の予定であった。

2. 外部評価委員会・当該臨床研究の発展に対する方策

1) 外部評価委員会からの指摘による当該臨床研究の改善点

臨床研究の目的および評価が不明瞭

本臨床研究の主目的として、3年間生存す

ることとした。また、副目的として、臨床症状の改善度（呼吸機能、発育・発達、身長体重、四肢の長さなど）、骨の石灰化（血液検査、レントゲン、骨塩定量など）の改善度、有害事象の評価とした。副目的である、骨の石灰化の評価の生化学的評価に関して、ALP、骨型 ALP だけでなく、骨形成マーカー（オステオカルシン、PINP など）、骨吸収マーカー（NTX、デオキシピリノジンなど）を測定することとした。目的および評価方法を具体的に明示したことは一定の評価を受け、外部評価委員の先生方からこの臨床研究の改善点により突っ込んだご意見が頂けた。

症状が改善している客観的データがない

キメリズム解析を造血細胞だけでなく間葉系幹細胞についても行うこととした。また、骨の石灰化の評価を経時的に多くの方法（レントゲン、CT、骨塩定量、病理標本）で行った。さらに、ドナーの細胞の生着の評価として、骨生検の ALP 染色を追加すること、異性間 FISH などでドナー細胞を検出することなどを検討した。その結果、臨床症状だけでなく石灰化の改善が明らかとなっただけでなく、ドナーの細胞が生着していることが証明できたことから、ドナー由来細胞が石灰化の改善に寄与していることが明らかとなった。

間葉系幹細胞の再投与の基準が不明確

2～4 か月で臨床的および骨の石灰化の評価（上述した副目的）が改善しない場合、間葉系幹細胞を再投与することとしたところ、再投与がより客観的に行うことができるようになった。

同胞がドナーになった時の対応

臨床研究実施計画書に同胞がドナーになった時に対応を明示した。

2) 当該臨床研究の発展に対する方策

最適な間葉系幹細胞移植方法の検討

骨髄の中にも間葉系幹細胞が存在するため、骨髄移植だけでも治療効果が得られる可能性が指摘された。また、ドナーの負担が大きい。さらに、現在のドナーはすべて保因者であるため、ALP 活性が低い。保因者は正常の骨構造を有しているが、in vitro では骨の石灰化能は正常健康人よりも低い。以上のことが、根治療法となり得ない問題点として挙げられる。

骨髄移植を受けた患者の間葉系幹細胞は患者由来のままであることが報告されている。また、免疫抑制剤なしにはドナー由来間葉系幹細胞が生着することが困難であることも明らかとなっている。しかし、数%はドナー由来間葉系幹細胞が骨髄内に生着することも明らかになっている。さらに、我々は免疫抑制剤なしに同種間葉系幹細胞が生着しないことをラットの実験で明らかにした（Kotobuki, et al. 2008）。したがって、同種ラット骨髄を経静脈的に全身移植した後、異系ラット間葉系幹細胞を移植して、骨髄移植による効果を検討することとした。

また、ALP 遺伝子変異を認めず（ALP が正常）かつ HLA が一致したドナーからの造血幹細胞移植および間葉系幹細胞移植が臨床像の更なる改善に有効であると思われるため、上記条件を満たすドナーを臨床的にも倫理的にも得やすい、臍帯血移植および同一ドナーの臍帯由来間葉系幹細胞移植を検討することとした。

さらに、間葉系幹細胞を静脈内投与した場合、そのほとんどが肺の毛細血管でトラップされることが報告されている。したがって、間葉系幹細胞の homing を高めるために、骨髄内の直接投与（髄腔内投与）する方法での検討も必要である。

間葉系幹細胞の生着率向上の必要性

間葉系幹細胞の骨への遊走が悪いこと、正

常の骨構造に到達していないことから、また、現在の臨床研究では、間葉系幹細胞を移植することにドナーから骨髄を採取することになっているため、間葉系幹細胞移植の生着率を向上させる必要性を指摘された。

我々が用いている間葉系幹細胞はドナー由来の骨髄から培養・増殖させた間葉系幹細胞である。培養した間葉系幹細胞はヘテロな集団であるため、すなわち、未分化な状態を維持しているものからある程度分化したものでさまざまである。また、現在は、間葉系幹細胞移植のたびにドナーから骨髄採取を行っているため、ドナーの負担も大きい。したがって、間葉系幹細胞の遊走能、増殖能および免疫寛容効果を高めることが必須である。

生体内の間葉系幹細胞は損傷した組織や、炎症部位、がん局所に遊走し、組織修復、抗炎症作用、がん免疫などに関わっていることが証明されている。また、培養することで新鮮な間葉系幹細胞の細胞特性が失われることが報告されている。したがって、未分化能を維持して、骨への遊走能が高くかつ、増殖能に優れた間葉系幹細胞の単離培養方法の確立を目指すこととした。

また、我々は正常な ALP 遺伝子を導入した患者の間葉系幹細胞をラットに移植して、骨が再生することを明らかにしている (Katsube Y, et al. Gene Ther, 2010)。また、この疾患の iPS 細胞の樹立にも成功している。さらに、疾患モデルマウスにおいて、遺伝子改変した造血幹細胞移植の効果が示されている。したがって、遺伝子改変した患者由来間葉系幹細胞あるいは疾患特異的 iPS 細胞を遺伝子改変して誘導した間葉系幹細胞を用いて、自家遺伝子改変間葉系幹細胞移植の効果も検討することとした。

ドナーの負担軽減の取り組み

現在の臨床研究では、間葉系幹細胞を移植

することにドナーから骨髄を採取するため、ドナーの負担が大きい。これを改善するために、骨髄を培養増殖した間葉系幹細胞を凍結して、適切な時期に適切な量を投与することを検討する必要がある。しかし、骨髄からの間葉系幹細胞を継代することに、未熟性や増殖性が低下して、また、形質転換が起こることから、stemness を維持した間葉系幹細胞の培養方法を検討することとした。

ALP の機能解析

同じ遺伝子変異を有する重症の患者でも骨の石灰化の程度が異なるため、また、骨の石灰化以外の他の症状(特に、肺と中枢神経系)を認めることが明らかとなったため、ALP の機能解析を行うよう指摘を受けた。

骨の石灰化に関して、患者由来間葉系幹細胞および骨芽細胞を用いて、健康人のそれらと遺伝子発現を比較したところ、骨分化や骨の石灰化に關与する遺伝子発現の差異がみられた。それらを参考にして、drug library screening を行って、骨の石灰化が改善する small molecule を同定することとした。また、患者由来の iPS 細胞を樹立することに成功したため、骨以外の組織に分化させて、それぞれの機能をみることで明らかにすることとした。

3. アンケート調査

臨床研究に参加された理由として、「少しでも先があるならと思い決意した」、「この治療を受けることによって後々同じ疾患の親や子ども達に少しでも希望がもてるよう、治療法が確立できればと思った」、「命を失うことはありえず、可能性として生きることができるとはこれしかないと思ったから」であった。

治療を受けて良かった点として、「呼吸が楽になった」、「笑顔が見れる。家に帰ることができた」、「移植をする度に目に見えて手足

が伸び肋骨が大きくなり健康な子どもに近づいている」 「通常の子どもを育てるよりも一つ一つの事が感動に満ちあふれている」というご意見を頂いた。

治療を受けて悪かった点として、「骨髄移植の合併症(GVHD など) 原病の合併症(けいれん、気道閉塞など) 薬の副作用がつかかった」 「脳症を回避できなかった」 「長期の入院で付き添いをするため家族全員が我慢を強いられる」 「自宅から遠い」というご意見を頂いた。

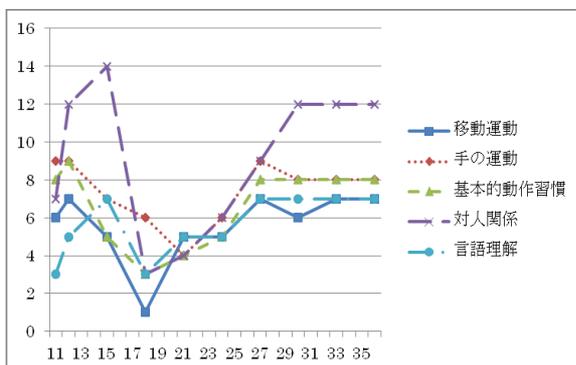
治療に期待することとして、「普通の子どものような暮らしができるようになってほしい」 「不自由なく生きていけるようになってほしい」というご意見を頂いた。

今後の不安について、「いつまで治療が続くのか」 「身体は本当に大きくなるのか。呼吸器ははずせるのか」 「どれくらい生きられるのか」というご意見を頂いた。

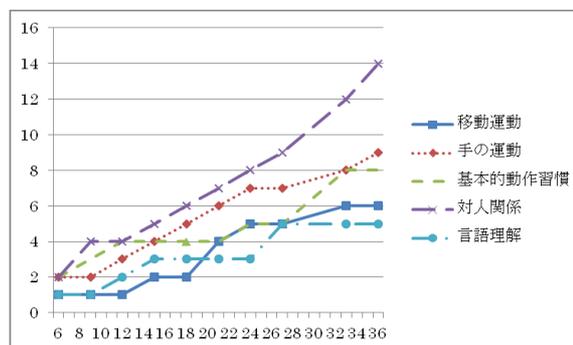
4. 成長発達評価

遠城寺・乳幼児分析的発達検査法を用いて、移動運動、手の運動、基本的動作習慣、対人関係、言語理解を 3 か月ごとに評価した。発語の評価は気管切開を行っているため未評価とした。

症例 1



症例 2



症例 1 は、原病による気管れん縮による低酸素性脳症が起こった 1 歳 6 か月にすべての評価項目で低下しているが、その後徐々に回復している。症例 2 は、移植前を状態から年齢を重ねるごとに徐々に発達指数は伸びているが、年齢相当までは到達していない。

D. 考察

1. 臨床研究のインフォームドコンセント

インフォームドコンセントにより、特に目的、効果、危険性について複数回説明することにより、また、臨床研究を行っている家族との話し合いの場を設けることにより、臨床研究に参加するかどうかを適切に判断する時の一助になっていると思われる。新規の症例への説明について、島根でしか治療を受けることができないこと、家族の、骨髄移植および間葉系幹細胞移植が負担の強い治療であるイメージが強いこと、治療期間が明らかでないこと、さらに根治療法になり得るかわからないことが、治療を受けることへの障害になっていると思われる。

2. 外部評価委員会・当該臨床研究の発展に対する方策

当該臨床研究を適切かつ順調に遂行するために、外部評価委員会を開催して、各専門分野の先生方からご助言を頂くことで、当該臨床研究を改変することにより、科学的根

拠に基づいた臨床研究を行うことができた。また、これまでの臨床研究の成果と問題点から、臨床研究の目的は果たしているが、根治療法にはなり得ない可能性が高いことが明らかとなった。したがって、細胞治療による根治療法を確立するために、最適な間葉系幹細胞移植方法の確立、間葉系幹細胞の細胞特性の向上、特に、骨への遊走能・増殖能・免疫寛容効果に優れた間葉系幹細胞の分離培養方法の確立を行う必要があると思われた。

3. アンケート調査

当該臨床研究を受けた当事者のご家族にアンケート調査を行うことによって、治療を受けた側からこの治療についての評価を頂いた。一定の評価をいただいたが、この臨床研究の目標が3年生存率であるが、元気で健康な子どもと状態まで改善したい思いが強いことが改めてわかった。したがって、臨床研究が終了しても、継続的に真摯にfollow upしていく体制を構築する必要があると思われた。

4. 成長発達評価

2症例ともに、運動精神発達は年齢相当ではないが少しずつ伸びていることが明らかとなった。年齢に見合った発達が得られない原因として、現在の臨床研究での問題点である、正常の骨構造に到達できていないことが考えられる。また、骨以外の障害、特に中枢神経系障害への効果が不十分であることが推測される。しかし、重症低ホスファターゼ症の自然歴から考慮すると、運動精神発達が見られることは細胞治療効果であると思われた。

E. 結論

致死的で治療法のない先天性疾患の治療研究を行う際のインフォームドコンセント

の対応について、患者さんおよび家族に則した、適切な判断ができる説明を行うことができることが示唆された。

臨床研究が始まった後に外部評価委員会を行うことで、現在のプロトコルを改善し適切にかつ科学的根拠に基づいた臨床研究が行うことができ、また、現在の問題点に対する方策が明らかになることができた。

アンケート調査をすることで、患者の目線からこの臨床研究を評価されることによって、真の意味で目指すべき当該臨床研究の目標が明らかとなった。

細胞治療の効果が運動精神発達面でも認められたが、正常なこどもの発達には到達できなかった。今後、この面からも、患者および家族が心から満足して幸せを感じることができる治療の確立が重要であると思われた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(巻末に別記載)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許所得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし