

201406001A

厚生労働省科学研究費補助金
再生医療実用化研究事業

表皮水疱症に対する間葉系幹細胞移植再生医療の実用化研究

平成 26 年度 総括研究報告書

研究代表者 玉井克人

平成 27 (2015) 年 5 月

目 次

I. 総括・分担研究報告書 1

『表皮水疱症に対する間葉系幹細胞移植再生医療の実用化研究』

研究代表者 玉井克人
研究分担者 金田安史
研究分担者 片山一朗
研究分担者 金田眞理
研究分担者 金倉 譲
研究分担者 出澤眞理
研究分担者 早川堯夫

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 5

III. 資 料 7

- 1) ヒト幹細胞臨床研究実施計画書等変更申請書
(平成 26 年 8 月 15 日発行)
- 2) ヒト幹細胞臨床研究実施計画書第 6 版 (案)
- 3) 新旧対照表 (平成 26 年 8 月 15 日発行)
- 4) 同意説明文書 (患者さんへ) 第 4 版
- 5) 新旧対照表 (平成 26 年 8 月 15 日発行)
- 6) 同意説明文書 (骨髄を提供される方へ) 第 4 版
- 7) 新旧対照表 (平成 26 年 8 月 15 日発行)
- 8) ヒト幹細胞臨床研究の審査依頼書 (平成 26 年 8 月 19 日発行)
- 9) ヒト幹細胞臨床研究の審査結果報告書 (平成 26 年 9 月 9 日発行)
- 10) ヒト幹細胞臨床研究に関する通知書 (平成 26 年 9 月 22 日発行)

I. 総括・分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
平成26年度総括・分担研究報告書

表皮水疱症に対する間葉系幹細胞移植再生医療の実用化研究

研究代表者 玉井克人 大阪大学大学院医学系研究科再生誘導医学寄附講座教授
研究分担者 金田安史 大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学講座教授
研究分担者 片山一朗 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科学講座教授
研究分担者 金田眞理 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科学講座講師
研究分担者 金倉 讓 大阪大学大学院医学系研究科血液内科学講座教授
研究分担者 出澤眞理 東北大学大学院医学系研究科組織学講座教授
研究分担者 早川堯夫 近畿大学薬学総合研究科薬学総合研究所長

研究要旨 我々は表皮水疱症の皮膚病態改善に骨髄由来間葉系幹細胞移植が有効である可能性を検証し、その結果を基にしてヒト幹細胞移植臨床研究「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」を申請、平成25年度から臨床研究を開始した。平成26年度は、6月10日に移植4症例目として重症劣性栄養障害型の成人男性に母親骨髄由来間葉系幹細胞移植を実施した。一方、骨髄由来細胞によるVII型コラーゲン供給メカニズム解明研究を進展し、マウス骨髄内PDGFR α 陽性間葉系細胞は骨髄内ではVII型コラーゲンを発現していないものの、表皮水疱症マウス皮膚へと動員されることによりVII型コラーゲンの発現が誘導されること、PDGFR α 陽性間葉系細胞を体外に取り出し培養するとVII型コラーゲンの発現が誘導されることを明らかにした。

A. 研究目的

これまで我々は、表皮水疱症病態で骨髄内間葉系幹細胞が剥離表皮部に集積して皮膚再生に寄与していることから骨髄間葉系幹細胞移植が表皮水疱症治療に有効である可能性を見出した。これらの研究成果を基に「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」の実施を目的として研究を進めている。

平成26年度は、劣性栄養障害型表皮水疱症4例目に対して母親由来骨髄間葉系幹細胞の移植を実施し、有効性、安全性評価を実施することを目的に研究を進めた。また、骨髄間葉系幹細胞全身性移植の表皮水疱症に対する有効性を証明する目的で、生体内における骨髄間葉系細胞からの皮膚基底膜部位へのVII型コラー

ゲン供給メカニズム解明研究を進めた。

B. 研究方法

1) 骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究
平成25年6月に承認を得た最終改訂版実施計画書の内容に従って、重症劣性栄養障害型表皮水疱症4例目の臨床研究を実施した。また、平成25年度に移植した症例について、移植半年及び1年後の安全性、有効性評価を実施した（玉井、金倉、金田（眞）、片山、早川）。

2) 骨髄間葉系幹細胞の全身性移植の妥当性評価

骨髄内間葉系細胞マーカーであるPDGFR α 陽性細胞をマウス骨髄から採取し、直接VII型コラーゲン遺伝

子発現を real-time PCR により検討した。さらに、採取した PDGFR α 陽性骨髄細胞を培養したのち、VII 型コラーゲン発現について同様に検討した。さらに、GFP トランスジェニックマウス骨髄細胞を移植した GFP-BMT マウスを作成し、その背部に VII 型コラーゲンノックアウトマウス皮膚を移植して、PDGFR α 陽性骨髄細胞の集積と VII 型コラーゲンの発現を解析した。

C. 研究結果

1) 間葉系幹細胞移植臨床研究

平成 25 年度にエントリーし、健常家族由来骨髄間葉系細胞を移植した症例の移植後評価を継続すると共に、4 症例目をエントリーし、間葉系幹細胞移植を実施した。

具体的には、平成 25 年 9 月にエントリーした 2 例目、11 月にエントリーした 3 例目について、それぞれ移植半年後および 1 年後の安全性及び有効性を評価した。その結果、2 例目については移植半年後で潰瘍は略治し、異常所見は認めなかった。しかし、その 1 ヶ月後（移植 7 ヶ月目）で水疱の再燃を認め、1 年後は一部に潰瘍形成を認めた。しかし、移植前と比較して潰瘍面の上皮化促進傾向は明確であった。一方、3 例目は移植半年後で潰瘍面は著明に縮小していたものの完全閉鎖には至らず、しかし 1 年後には略治状態となった。どちらの症例も、潰瘍部およびその周囲の紅斑および掻痒の軽減が観察された。

平成 26 年 5 月に 4 症例目として 25 歳の劣性栄養障害型表皮水疱症男性をエントリーし、母親由来間葉系幹細胞移植を実施した。その結果、移植 3 ヶ月後の来院時には著明な潰瘍面積縮小効果を確認し、さらに 4 ヶ月後には潰瘍の略治状態が得られたという情報を患者母親から私信と

して得た。半年後の来院時には水疱・潰瘍形成の再燃を認めたが、間葉系幹細胞移植前と比較して潰瘍形成後の上皮化促進効果は持続しており、潰瘍形成と上皮化を繰り返す状態にあった。

2) 全身性間葉系幹細胞移植の妥当性評価

全身性間葉系幹細胞移植後の VII 型コラーゲン供給メカニズムを解明する目的で、マウス骨髄から間葉系幹細胞マーカー PDGFR α を指標として細胞を採取し、採取直後および培養後に RNA を採取し、VII 型コラーゲンの発現を比較検討した。その結果、骨髄から採取直後の PDGFR α 陽性細胞は VII 型コラーゲンの発現は極めて低い一方、培養後には VII 型コラーゲンの発現が著明に上昇することが明らかとなった。

一方、GFP-BMT マウス背部に移植した VII 型コラーゲンノックアウトマウスの背部皮膚への骨髄由来 PDGFR α 陽性細胞集積と VII 型コラーゲン発現の関係を検討した結果、両者の間に極めて強い相関があり、PDGFR α 陽性細胞集積の阻害剤投与により VII 型コラーゲンの発現が消失することが明らかとなった。

D. 考察

平成 26 年度の研究により、表皮水疱症に対する健常家族由来骨髄間葉系幹細胞移植の安全性、有効性が確認された。エントリーしたいずれの症例も数年間閉鎖することなく持続していた潰瘍を選択したにもかかわらず、間葉系幹細胞を移植後数ヶ月～1 年で略治状態が得られたことは特筆に値すると考える。

特に 3 症例目では、1 回の移植で 1 年後に潰瘍面の完全閉鎖が得られたことから、症例によっては間葉系幹細胞移植治療の長期治療効果が得ら

れることが確認された。一方で、2 症例目、4 症例目では、それぞれ移植 6 ヶ月後、4 ヶ月後と潰瘍閉鎖までの期間は 2 症例目と比較してより早期であったものの、その後水疱・潰瘍形成の再燃を認めたため、移植した間葉系幹細胞の長期生着の可能性は低いと思われる。しかし、移植前と比較して潰瘍閉鎖後に生じた新たな潰瘍は、その後比較的早期に上皮化傾向を示していることから、骨髄間葉系幹細胞移植による難治性潰瘍組織のリモデリングにより、組織修復機転が改善したことが示唆される。

一方、マウス骨髄細胞を用いた研究により、骨髄内の PDGFR α 陽性細胞は、骨髄から採取した直後には VII 型コラーゲンを発現していない一方、培養後に VII 型コラーゲンを発現するようになること、骨髄内 PDGFR α 陽性細胞は培養後比較的速やかに PDGFR α 陽性細胞は未分化状態を維持していると予想されることから、骨髄由来間葉系幹細胞は増殖しつつ分化し、VII 型コラーゲンを発現するようになると考えられる。また、GFP-BMT マウス背部に移植した VII 型コラーゲン欠損マウス皮膚に PDGFR α 陽性細胞が集積すること、PDGFR α 陽性細胞の集積を阻害することにより VII 型コラーゲンの皮膚基底膜部への供給が消失することから、骨髄から皮膚へと動員された PDGFR α 陽性細胞は皮膚局所で増殖し、VII 型コラーゲン発現細胞へと分化していると予想される。即ち、骨髄間葉系幹細胞は培養後に VII 型コラーゲン供給細胞へと分化していると考えられ、培養骨髄間葉系幹細胞の全身移植は、移植後皮膚への集積が得られれば表皮水疱症皮膚に VII 型コラーゲンを供給し得ることが期待できる。

E. 結論

表皮水疱症患者を対象とした骨髄間葉系幹細胞移植の安全性と有効性が確認された。また、全身性間葉系幹細胞移植治療は VII 型コラーゲンを皮膚に供給し得ることが示された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表（平成 26 年度）

論文発表

1. Iinuma S, Aikawa E, Tamai K, Fujita R, Kikuchi Y, Chino T, Kikuta J, McGrath J, Ishii M, Iizuka H, Kaneda Y. Transplanted bone marrow-derived circulating PDGFR α ⁺ cells restore type VII collagen in recessive dystrophic epidermolysis bullosa mouse skin graft. *J Immunol*, 2015; 194: 000-000. doi:10.4049/jimmunol.1400914
2. Fujita R, Tamai K, Aikawa E, Kikuchi Y, Kaneda Y. Endogenous mesenchymal stromal cells in bone marrow are required to preserve muscle function in mdx mice. *Stem Cells*, 2015; 33: 962-975.
3. Matsui S, Murota H, Takahashi A, Yang L, Lee JB, Omiya K, Ohmi M, Kikuta J, Ishii M, Katayama I: Dynamic analysis of histamine-mediated attenuation of acetylcholine-induced sweating via GSK3 β activation. *J Invest Dermatol*, 2014; 134: 326-34.
4. Murota H, Itoi S, Terao M, Matsui S, Kawai H, Satou Y, Suda K, Katayama I: Topical cholesterol treatment ameliorates hapten-evoked cutaneous hypersensitivity by sustaining expression of 11 β -HSD1

- in epidermis. *Exp Dermatol*, 2014; 23(1): 68-70.
5. Nishikawa T, Tung L-Y, Kaneda Y. Systemic administration of platelets incorporating inactivated Sendai virus eradicates melanoma in mice. *Mol. Therapy*, 22(12): 2046-55, 2014.
 6. Nomura M, Ueno A, Saga K, Fukuzawa M. and Kaneda Y. Accumulation of cytosolic calcium induces necroptotic cell death in human neuroblastoma. *Cancer Res*, 74(4), 1056-1066, 2014.
 7. Morikawa T, Ninomiya K, Imura K, Yamaguchi T, Akagi Y, Yoshikawa M, Hayakawa T, Muraoka O. Hepatoprotective triterpenes from traditional Tibetan medicine *Potentilla anserina*. *Phytochemistry*. 2014 Jun; 102: 169-81. doi: 10.1016/j.phytochem.2014.03.002. Epub 2014 Mar 31.
 8. Yamauchi T, Kuroda Y, Morita T, Shichinohe H, Houkin K, Dezawa M, Kuroda S. Therapeutic effects of human multilineage-differentiating stress enduring (MUSE) cell transplantation into infarct brain of mice. *PLoS One*. 2015 Mar 6;10(3): e0116009. doi: 10.1371/journal.pone.0116009. eCollection 2015.
 9. Wakao S, Matsuse D, Dezawa M. Mesenchymal Stem Cells as a Source of Schwann Cells: Their Anticipated Use in Peripheral Nerve Regeneration. *Cells Tissues Organs*. 2015 Mar 4. [Epub ahead of print]
 10. Sata H, Shibayama H, Maeda I, Habuchi Y, Nakatani E, Fukushima K, Fujita J, Ezoe S, Tadokoro S, Maeda T, Mizuki M, Kosugi S, Nakagawa M, Ueda S, Iida M, Tokumine Y, Azenishi Y, Mitsui H, Oritani K, Kanakura Y. Quantitative polymerase chain reaction analysis with allele-specific oligonucleotide primers for individual IgH VDJ regions to evaluate tumor burden in myeloma patients. *Exp Hematol*. 2015 Jan 13. pii: S0301-472X (15) 00006-5. doi: 10.1016/j.exphem.2015.01.002. [Epub ahead of print]
 11. Yang L, Yang F, Wataya-Kaneda M, Tanemura A, Tsuruta D, Katayama I: 4-(4-Hydroxyphenyl) - 2 - butanol (rhododendrol) activates the autophagy-lysosome pathway in melanocytes: Insights into the mechanisms of rhododendrol-induced leukoderma. *J Dermatol Sci*. 2015; 77(3): 182-5.
 12. Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Yang L, Yang F, Tsuruta D, Nakamura A, Matsumoto S, Hamasaki T, Tanemura A, Katayama I: Clinical and Histologic Analysis of the Efficacy of Topical Rapamycin Therapy Against Hypomelanotic Macules in Tuberous Sclerosis Complex. *JAMA Dermatol*. 2015 in press
 13. Tanemura A, Yang L, Yang F, Nagata Y, Wataya-Kaneda M, Fukai K, Tsuruta D, Ohe R, Yamakawa M, Suzuki T, Katayama I: An immune pathological and ultrastructural skin analysis for rhododendrol-induced leukoderma patients. *J Dermatol*. 2015; 77(3): 185-8.
- H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）**
- 無し

II. 研究成果の刊行に関する一覧

研究成果の刊行に関する一覧

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Iinuma S, Aikawa E, <u>Tamai K</u> , Fujita R, Kikuchi Y, Chino T, Kikuta J, McGrath J, Ishii M, Iizuka H, <u>Kaneda Y</u>	Transplanted bone marrow-derived circulating PDGFR α ⁺ cells restore type VII collagen in recessive dystrophic epidermolysis bullosa mouse skin graft.	J Immunol	194: 000-000	doi:10.4049/ jimmunol.1 400914	2015
Fujita R, <u>Tamai K</u> , Aikawa E, Kikuchi Y, <u>Kaneda Y</u>	Endogenous mesenchymal stromal cells in bone marrow are required to preserve muscle function in mdx mice.	Stem Cells	33	962-975	2015
Nishikawa, T, Tung L-Y, <u>Kaneda Y</u>	Systemic administration of platelets incorporating inactivated Sendai virus eradicates melanoma in mice.	Mol. Therapy	22(12)	2046-2055	2014
Nomura M, Ueno A, Saga K, Fukuzawa M and <u>Kaneda Y</u>	Accumulation of cytosolic calcium induces necroptotic cell death in human neuroblastoma.	Cancer Res	74(4)	1056-1066	2014
Matsui S, Murota H, Takahashi A, Yang L, Lee JB, Omiya K, Ohmi M, Kikuta J, Ishii M, <u>Katayama I</u>	Dynamic analysis of histamine-mediated attenuation of acetylcholine-induced sweating via GSK3 β activation.	J Invest Dermatol	134	326-334	2014
Murota H, Itoi S, Terao M, Matsui S, Kawai H, Satou Y, Suda K, <u>Katayama I</u>	Topical cholesterol treatment ameliorates hapten-evoked cutaneous hypersensitivity by sustaining expression of 11 β -HSD1 in epidermis.	Exp Dermatol	23(1)	68-70	2014
Yang L, Yang F, <u>Wataya-Kaneda M</u> , Tanemura A, Tsuruta D, <u>Katayama I</u>	4-(4-Hydroxyphenyl)-2-butanol(rhododendrol) activates the autophagy-lysosome pathway in melanocytes:Insights into the mechanisms of rhododendrol-induced leukoderma.	J Dermatol Sci	77(3)	182-185	2015
<u>Wataya-Kaneda M</u> , Tanaka M, Yang L, Yang F, Tsuruta D, Nakamura A, Matsumoto S, Hamasaki T, Tanemura A, <u>Katayama I</u>	Clinical and Histologic Analysis of the Efficacy of Topical Rapamycin Therapy Against Hypomelanotic Macules in Tuberous Sclerosis Complex.	JAMA Dermatol	in press		2015

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tanemura A, Yang L, Yang F, Nagata Y, <u>Wataya-Kaneda M</u> , Fukai K, Tsuruta D, Ohe R, Yamakawa M, Suzuki T, <u>Katayama I</u>	An immune pathological and ultrastructural skin analysis for rhododenol-induced leukoderma patients.	J Dermatol	77(3)	185-188	2015
Sata H, Shibayama H, Maeda I, Habuchi Y, Nakatani E, Fukushima K, Fujita J, Ezo S, Tadokoro S, Maeda T, Mizuki M, Kosugi S, Nakagawa M, Ueda S, Iida M, Tokumine Y, Azenishi Y, Mitsui H, Oritani K, <u>Kanakura Y</u>	Quantitative polymerase chain reaction analysis with allele-specific oligonucleotide primers for individual IgH VDJ regions to evaluate tumor burden in myeloma patients.	Exp Hematol	pii: S0301-472X (15) 0006-5	doi: 10.1016/j.exphem.2015.01.002	2015
Yamauchi T, Kuroda Y, Morita T, Shichinohe H, Houkin K, <u>Dezawa M</u> , Kuroda S	Therapeutic effects of human multilineage-differentiating stress enduring (MUSE) cell transplantation into infarct brain of mice.	PLoS One	10(3)	e0116009. doi: 10.1371/journal.pone.0116009	2015
Wakao S, Matsuse D, <u>Dezawa M</u>	Mesenchymal Stem Cells as a Source of Schwann Cells: Their Anticipated Use in Peripheral Nerve Regeneration.	Cells Tissues Organs	Mar 4	[Epub ahead of print]	2015
Morikawa T, Ninomiya K, Imura K, Yamaguchi T, Akagi Y, Yoshikawa M, <u>Hayakawa T</u> , Muraoka O	Hepatoprotective triterpenes from traditional Tibetan medicine <i>Potentilla anserina</i> .	Phytochemistry	102	169-181	2014

III. 資 料

平成 26年 8月 15日

大阪大学医学部附属病院長 殿

研究責任者

所属・職名 大阪大学大学院医学系研究科

再生誘導医学寄附講座・教授

氏名 玉井 克人



ヒト幹細胞臨床研究実施計画書等変更申請書

承認番号第 HM1102 号のヒト幹細胞臨床研究の実施計画書等について、下記のとおり変更しますので申請します。なお、本研究の変更は、ヒト幹細胞臨床研究審査委員会が承認し、これに基づく病院長からの指示・決定が通知された後に実施します。

記

研究題目	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	
研究期間	-	
登録期間	2011年10月14日から3年	
変更内容 注1)	1) 研究登録期間の変更 2) 誤記訂正および記載整備 3) 実施体制の変更	
変更事項	変更前	変更後
<input checked="" type="checkbox"/> 実施計画書 <input checked="" type="checkbox"/> 同意説明文書 <input type="checkbox"/> 同意書・同意撤回書様式 <input type="checkbox"/> 試験物概要書など <input type="checkbox"/> その他の審査資料 ()	別紙参照	別紙参照
変更理由	1) 研究開始準備に時間を要したため。 2) 誤記訂正および記載整備のため。 3) 所属、役職、電話番号、住所の変更のため。	
添付資料	実施計画書第6版(案)、同意説明文書第4版、同意説明文書(ドナー)第4版、新旧対照表(実施計画書・同意説明文書・同意説明文書(ドナー))	

注1) 代表的な内容を具体的に記載(別紙参照は不可)

注2) 本様式は、実施計画書等(実施計画書、同意説明文書、同意書・同意撤回書様式、試験物概要書及びその他の審査資料)の変更用いる

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

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

研究責任者 : 玉井克人(*1)
研究分担者 (主任) : 江副幸子(*2)
所属機関名 : 大阪大学大学院医学系研究科
所属科・部署 : 再生誘導医学 (*1)
未来医療センター(*2)

第6版(案)

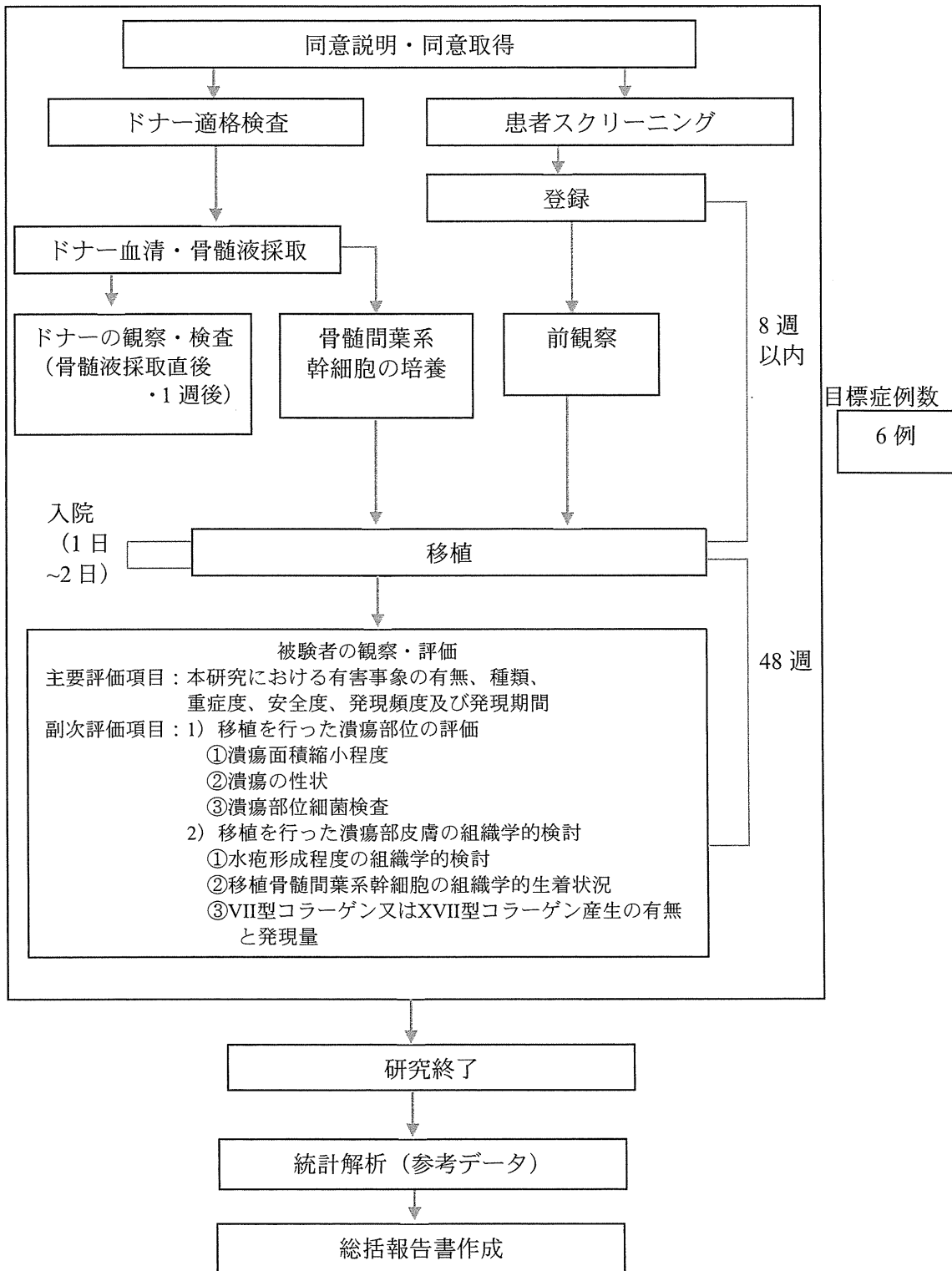
2014年**月**日 承認

概要

項目	内容
目的	表皮水疱症（接合部型および栄養障害型）患者に対する家族ドナー由来骨髄間葉系幹細胞移植術に基づく再生療法の安全性、有効性の評価
対象患者	表皮水疱症（接合部型及び栄養障害型）
選択基準（被験者）	<ol style="list-style-type: none"> 1) 表皮水疱症（接合部型又は栄養障害型）と診断された患者 2) 20 歳以上 60 歳未満の患者 3) 6 週間以上持続する難治性潰瘍を有する患者 4) ドナーの適格基準に合致し、同意の得られている異性の親、又は異性の兄弟姉妹がいる患者 5) 患者本人の文書による同意が得られている患者
除外基準（被験者）	<ol style="list-style-type: none"> 1) 重度の精神疾患を有する患者 2) アルコール中毒症を有する患者 3) 意識障害を有する患者 4) 皮膚以外の悪性腫瘍を有する患者（過去 5 年以内に既往がある患者を含む） 5) 妊娠又は妊娠している可能性のある患者 6) 糖尿病を合併している患者 7) その他、研究責任者が移植に適さないと判断した患者
選択基準（ドナー）	<ol style="list-style-type: none"> 1) 20 歳以上 70 歳未満である者 2) 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 3) ドナー本人の文書による同意が得られている者
除外基準（ドナー）	<ol style="list-style-type: none"> 1) 血液疾患、または出血傾向を有する者 2) Hb 11.0g/dL 未満、または血小板 $5.0 \times 10^4 / \mu\text{L}$ 未満の者 3) 慢性難治性の感染症を有する者 4) 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 5) 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） 6) 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 7) 伝達性海綿状脳症及びその疑いのある者 8) その他、研究責任者が移植に適さないと判断した者
被験者及びドナーの同意	<p>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。</p> <p>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）。</p> <p>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。</p>
試験物	骨髄間葉系幹細胞
研究方法 (治療スケジュール)	<ol style="list-style-type: none"> 1) 骨髄間葉系幹細胞の試験移植 <p>移植当日に骨髄間葉系幹細胞約 100 個分を生理食塩水 100μL に懸濁し、被験者の前腕非潰瘍部の皮下に試験移植する。試験移植後 1</p>

	<p>時間観察し、重篤なアレルギー症状を生じた場合は本試験を中止する。</p> <p>2) 潰瘍部皮膚への骨髄間葉系幹細胞移植 皮膚潰瘍（潰瘍部周囲の長さが20cm程度の潰瘍を移植対象基準とするが、適当なサイズの潰瘍がない場合はその大きさを問わない）を1カ所選択する。移植対象潰瘍部の周囲に、2cm間隔で、1箇所につき0.5×10^6個/250μLの培養骨髄間葉系幹細胞を皮下移植する。潰瘍周囲の長さが20cmの場合、移植細胞総数は、5×10^6個（10箇所$\times 0.5 \times 10^6$個）となる。</p>
併用禁止薬剤及び併用禁止療法	特になし
観察・検査スケジュールの概略	観察・検査スケジュール表参照
主要評価項目	本研究における有害事象の有無、種類、重症度、発現頻度及び発現期間とする。
目標症例数	6例
研究登録期間	病院長による研究実施許可日から4年間
研究実施許可日	2011年10月14日

シエーマ



観察・検査スケジュール

被験者の観察・検査スケジュール

観察・検査・ 評価日	スクリーニング	前観察	移植直後 (0日)	移植後						中止時
				1週	2週	4週	12週	24週	48週	
実施許容期間	8週以内	8週以内	+3日	±3日	±3日	±5日	±1週	±2週	±3週	
被験者背景	○									
臨床症状の観察	○	○ ^{*2}	○	○	○	○	○	○	○	○
血液検査・尿検査	○	○ ^{*2}	○	○		○			○	○
心電図		○	○						○	○
胸部 X 線検査		○	○						○	○
移植潰瘍部皮膚生検の組織学的検討 ^{*1}		○			創閉鎖時 ^{*3}	創閉鎖時 ^{*3}	創閉鎖時 ^{*3}	創閉鎖時 ^{*3}	創閉鎖時 ^{*3}	
有害事象										→
併用治療										→

*1：移植後の移植潰瘍部皮膚生検は、創が閉鎖した時点又は観察期間終了時に1回行う。但し、移植後12週に創閉鎖が見られない場合は、その時点での上皮化終了部位から生検を追加で実施する。

*2：実施許容範囲内であれば、スクリーニングの結果を代用することができる。

*3：創閉鎖時とは、潰瘍面の完全な上皮化を確認出来た時点とする。

ドナーの観察・検査スケジュール

観察・検査日	適格検査	骨髄液採取直後 (0日)	骨髄液採取 1週後
実施許容期間	被験者登録の 3週以内	+1日	±3日
ドナー背景	○		
臨床症状の観察	○	○	○
血液検査	○	○	○
有害事象			→
併用治療			→

目次

1. 研究目的	1
2. 経緯	1
3. 対象疾患と適格基準	5
4. 試験物	7
5. 臨床研究実施計画	9
6. 主要評価項目及び副次評価項目	11
7. 観察・検査項目とスケジュール	13
8. 被験者の安全性の確保	17
9. 被験者毎の臨床研究中止の基準及び手順	20
10. 臨床研究実施計画書の遵守、逸脱又は変更	20
11. 臨床研究の終了又は中止及び中断	21
12. 同意取得	22
13. 登録	22
14. 症例報告書	23
15. 統計学的考察	24
16. 効果安全性評価委員会	25
17. 臨床研究の品質管理	26
18. 臨床研究の倫理的実施	26
19. 記録等の保存	27
20. 臨床研究総括報告書の作成	27
21. 臨床研究終了後の追跡調査の方法	27
22. 臨床研究費用並びに健康被害の補償	27
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	27
24. 臨床研究実施体制	28
25. 文献	31

1. 研究目的

表皮水疱症（接合部型および栄養障害型）患者に対する家族ドナー由来骨髄間葉系幹細胞局所移植術に基づく再生療法の安全性、有効性を評価し、将来の全身性骨髄間葉系幹細胞移植術開発につなげるための基礎情報を収集する。

2. 経緯

2.1. 対象疾患

表皮水疱症（接合部型及び栄養障害型）

2.1.1. 概念・定義・病因・病態

表皮水疱症は、皮膚基底膜領域の接着関連分子の遺伝的機能不全により、日常生活の軽微な外力で水疱・潰瘍を形成する遺伝性水疱性皮膚疾患の総称である。水疱形成部位により単純型（表皮内水疱）、接合部型（表皮-基底膜間水疱）、栄養障害型（基底膜直下の真皮内水疱）の3病型に分類される。

単純型表皮水疱症は表皮基底細胞の細胞骨格タンパクであるケラチン5/14の遺伝子異常により発症し、表皮基底細胞が断裂して表皮内に水疱・びらんを形成する。生命予後は良好で、軽症型は経過と共に水疱形成部位が限局性となって軽快傾向を示すことも稀ではないが、重症型は全身皮膚の水疱形成が一生継続し、さらに手掌・足底に著明な角化を生じて著しいQOLの低下を来す。ケラチン5/14遺伝子異常による単純型は基本的に優性遺伝形式をとる。一方、表皮基底細胞底面の細胞膜上に局在し、表皮基底細胞と基底膜間の接着構造であるヘミデスモゾーム構成タンパクで、ケラチン5/14と結合するプレクチンやBP230の遺伝子異常では、極めて稀な劣性遺伝形式をとる単純型表皮水疱症を発症する。特にプレクチン遺伝子異常では、経過中に筋ジストロフィー症状を合併する。

接合部型表皮水疱症は、ヘミデスモゾーム構成膜貫通タンパクである $\alpha 6\beta 4$ インテグリン、XVII型コラーゲン（BP180）、基底膜構成タンパクであるラミニン332のいずれかの遺伝子異常により発症し、表皮-基底膜間が剥離して水疱、潰瘍を形成する。ラミニン332の欠損により発症するHerliz型は表皮水疱症の中でも最重症型であり、生後1年以内に殆どの症例が死亡する。 $\alpha 6\beta 4$ インテグリンの欠損では、全身の水疱・潰瘍形成に加えて胃の幽門閉鎖を合併し（幽門閉鎖型）、やはり致死性となることが少なくない。一方XVII型コラーゲン欠損による病型（non-Herliz型）は生命予後こそ良いものの、頭頂部脱毛、著明な歯のエナメル質形成不全を合併し、QOLは著しく低い。いずれの病型も劣性遺伝形式をとる。

栄養障害型表皮水疱症は、基底膜と真皮間の接着構造である係留線維を構成するVII型コラーゲンの遺伝子異常により発症する。基底膜直下で真皮内に水疱・潰瘍を形成し、治癒後の著明な瘢痕形成と爪甲の変形・脱落を特徴とする。優性遺伝形式と劣性遺伝形式の両者があり、優性型は比較的軽症例が多く、劣性型は遺伝子変異の種類により軽症例から重症例まで臨床症状の幅が広い。最重症例では比較的早期に手指の棍棒状癒着、著明な食道狭窄、有棘細胞癌の合併を来し、生命予後が悪い事も少なくない。

上述した病型のうち、接合部型、栄養障害型は厚生労働省の指定する特定疾患である。

2.1.2. 疫学

1994年の厚生省稀少難治性皮膚疾患調査研究班の全国調査による表皮水疱症の推定患者数は500~640人である（接合部型：7%、栄養障害型：54%）。一方米国では国家水疱症登録制度があり、約2000人が登録されている。しかし、近年新たな表皮水疱症病型の存在が報告されつつあり、また10代以降に症状が顕在化する栄養障害型の特殊病型（痒疹型）も少なからず報告されており、日米共に、登録されていない症例が多数存在すると考えられる。