

Fig 6

## 再培養後のADSCの検鏡所見

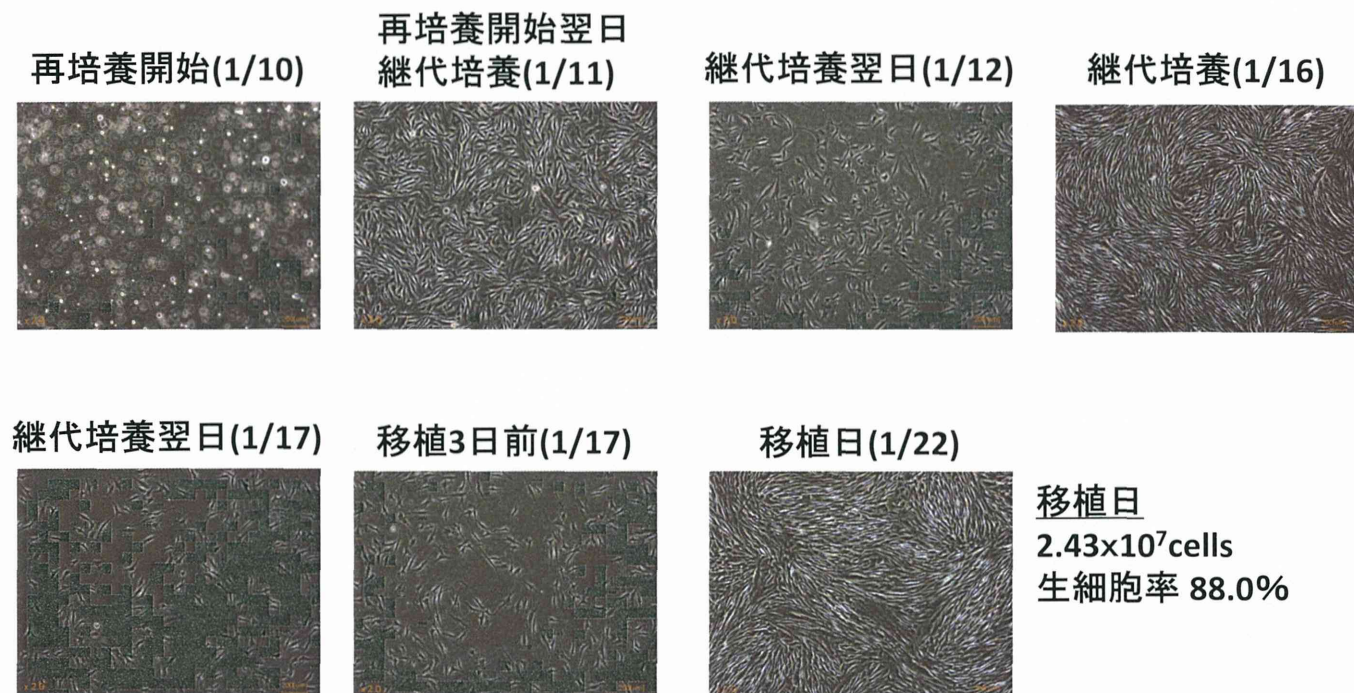


Fig 7

# ADSC移植時の純度試験

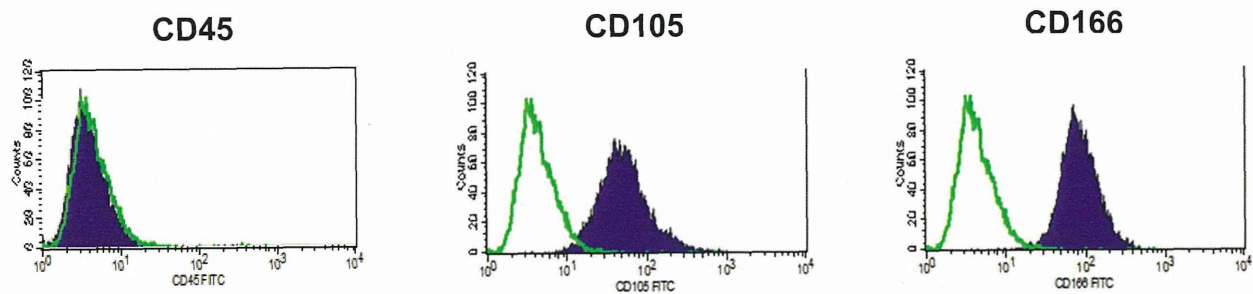


Fig 8

## ADSC移植時の術中所見

①切開、剥離



②肉芽組織の搔把



③ADSC-ボルヒール複合体



④移植



⑤縫合



⑥歯周パック



Fig 9      ADSC移植2週後の口腔内所見

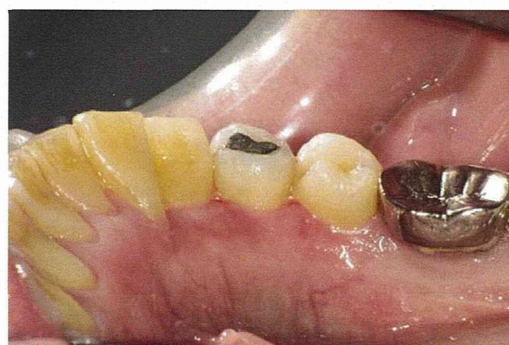
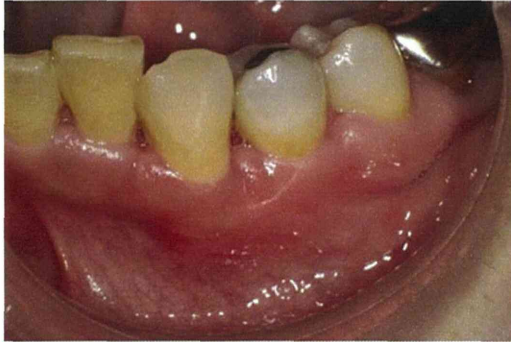


Fig 10

ADSC移植4週後の術後所見

(A) 口腔内写真



(B) X線



表1

**ADSCの洗浄回数と  
洗浄液中に残存したアルブミン量**

洗浄回数	BSA濃度 (ng/ml)
1	>32
2	18.05
3	4.1
4	2.02
5	1.03
6	0.95
7	1
8	1.11
9	0.5>
10	0.5>

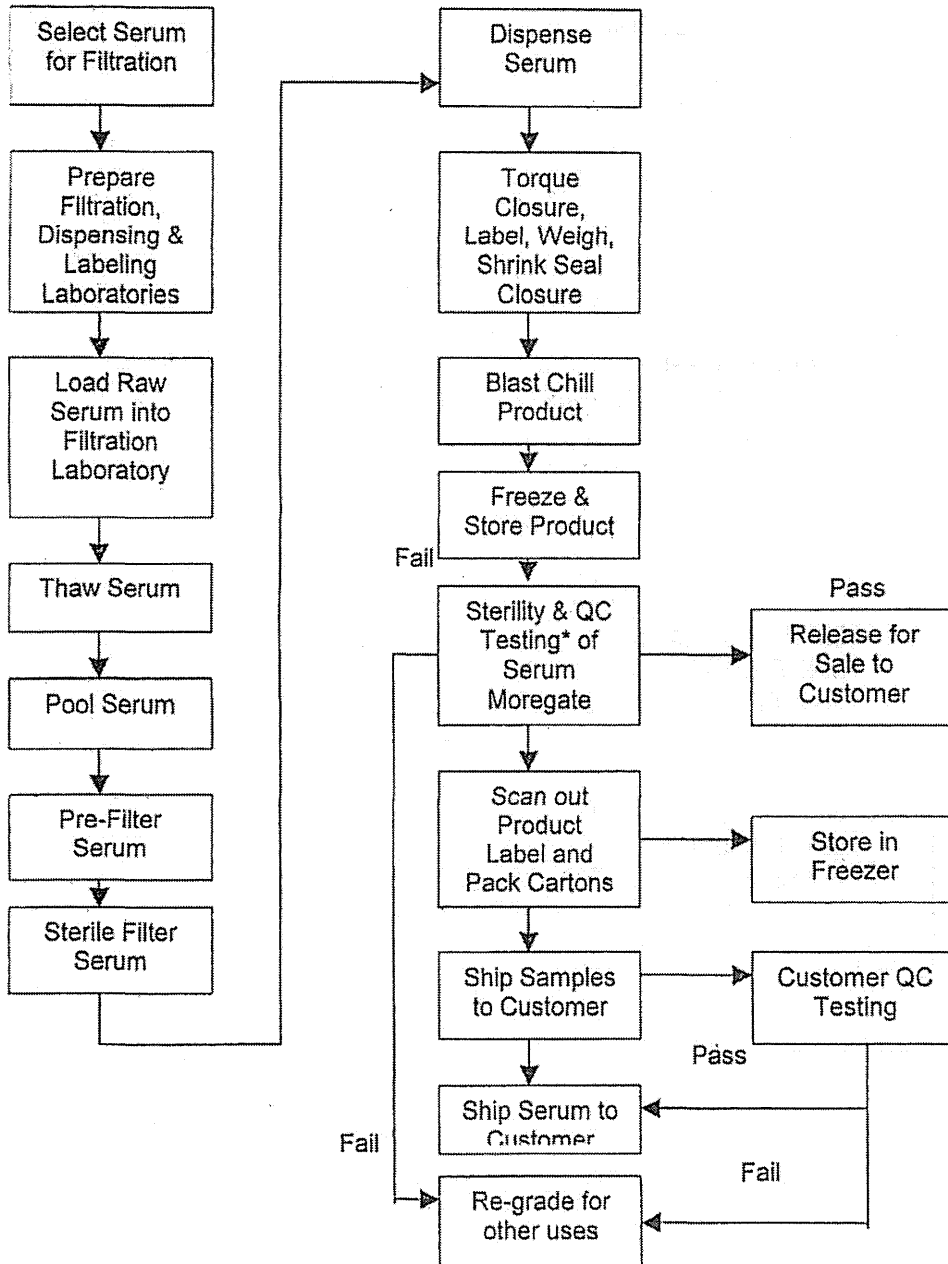
## 参 考 資 料

1. Moregate BioTech 社 FCS のカタログ
2. 研究実施計画書変更における新旧対照表
3. ヒト幹細胞臨床研究実施計画書 第6版
4. 感染症検査結果



# Moregate BioTech

## Fetal Bovine Sterile Filtration Process Flowchart



\* Testing of Moregate Serum includes, but not limited to: Endotoxin, Species ID, IgG.  
Refer to Certificate of Analysis for External tests performed.

Moregate Exports Pty Ltd  
A.C.N. 005 691 458  
Tel 61 7 3399 7000  
Fax 61 7 3399 5578

A.B.N. 71 671 857 010

Email [moregate@moregatebiotech.com](mailto:moregate@moregatebiotech.com)  
web <http://www.moregatebiotech.com>

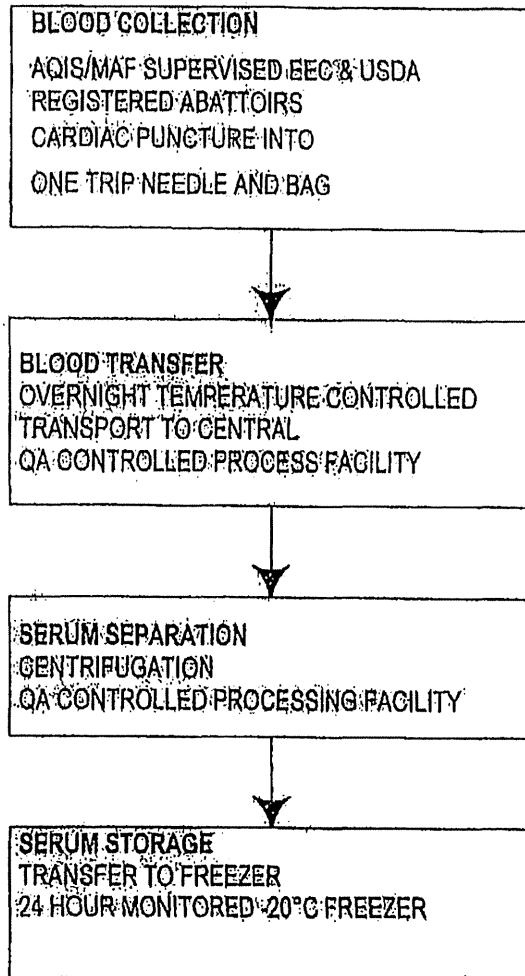
P O Box 654  
56 Banyra Street  
Bulimba Qld 4171  
Australia





# Moregate BioTech

## Fetal Bovine Raw Process Flowchart



Moregate Exports Pty Ltd  
A.C.N. 009 691 458  
Tel 61 7 3399 7000  
Fax 61 7 3399 5578

A.B.N. 71 671 857 010

Email [moregate@moregatebiotech.com](mailto:moregate@moregatebiotech.com)  
web <http://www.moregatebiotech.com>

P O Box 654  
56 Banyu Street  
Bulimba Qld 4171  
Australia

R1 18.01.06

---

**MOREGATE BIOTECH****LIST OF APPROVED TESTING LABORATORIES**

---

<b>TEST PARAMETER</b>	<b>TESTING LABORATORY</b>
Cell Growth Characteristics – FBS	TropBio c/- James Cook University
Endotoxin Test	Moregate Biotech
Haemoglobin Test	Moregate Biotech
Mycoplasma Test	NSW Agriculture, Regional Veterinary Laboratory
Osmolality Test	Queensland Health Pathology Service – Royal Brisbane Hospital
Biochemical Profile	Queensland Health Pathology Service – Royal Brisbane Hospital
Protein Electrophoresis	Queensland Health Pathology Service – Royal Brisbane Hospital
Sterility Test	Moregate Biotech
Antibody Tests	NSW Agriculture, Elizabeth Macarthur Agricultural Institute
9CFR - Title 113 – 53 (c)	American Bioresearch Laboratories Sevierville, Tennessee
EMA/CPMP/BWP/1793/02	American Bioresearch Laboratories Sevierville, Tennessee
Total Protein	Queensland Health Pathology Service – Royal Brisbane Hospital
IgG	Moregate Biotech
Specificity (Species ID)	Moregate Biotech
Bacteriophage *	TropBio c/- James Cook University
pH	Queensland Health Pathology Service – Royal Brisbane Hospital

\* On Request

承認番号：厚生労働省発医政 0830 第2号

研究課題名：自己脂肪組織由来幹細胞を用いた新しい歯周組織再生療法開発

文書名：ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

## 新旧対照表

変更箇所	変更前	変更後	変更理由
概要およびP. 8 3.2.3 除外基準	9) <u>登録前臨床検査でヘモグロビンが11.0g/dL未満又は血小板が5.0x10<sup>4</sup>/・L未満の患者。</u> 15) <u>スクリーニング時に体重が47kg未満の患者。</u>	削除	自己血清の採取を実施しないため
概要およびP. 8 3.2.3 除外基準	13) <u>HCV抗体、HBs抗原、ATLA、HIV抗体陽性の患者。</u>	12) HCV抗体、HBs抗原、ATLA抗体、HIV抗体が陽性の患者。	記載漏れのため
概要 研究方法 (治療スケジュール)	1) <u>自己血清の採取</u> <u>登録完了後（「13. 登録」参照）、自己脂肪組織採取前30日以内に大阪大学医学部附属病院輸血部において自己血採取バッグに400mLの血液を採取・遠心分離し、血清成分を大阪大学歯学部附属病院CPC（Cell Processing Center）において凍結保存する。</u>	削除	自己血清の採取を実施しないため
概要 研究方法 (治療スケジュール)	3) <u>自己脂肪組織からの幹細胞の単離および培養</u> <u>採取した脂肪組織を保存溶液に浸漬し、大阪大学歯学部附属病院Cell Processing Centerにて幹細胞を単離し、移植細胞数に達するまで、1～2週間程度の継代培養を行い凍結する。</u>	2) 自己脂肪組織からの幹細胞の単離および培養 採取した脂肪組織を保存溶液に浸漬し、大阪大学歯学部附属病院Cell Processing Centerにて幹細胞を単離し、移植細胞数に達するまで、4±2週間程度の継代培養を行い凍結する。	個人差により細胞の初期増殖に時間を要する場合があるため
概要 研究登録期間	平成23年11月18日から平成26年11月17日までの3年間	平成23年11月18日から平成29年11月17日までの6年間	12例の目標症例数が未了であるため
シエーマ	別紙1参照	別紙2参照	自己血清の採取を実施しないため
目次	臨床研究実施計画書、症例報告書及び同意説明文書改訂履歴	削除	誤記のため

P.1 2.1.2 疫学	80歳から84歳ではわずかに21.1%である	80歳から84歳ではわずかに21.1%である	誤記のため
P.6 2.3.2 予想される不利益	6.1.3.項及び8.3.1.項に挙げる有害事象	削除	誤記のため
P.8 3.2.4 除外基準の設定根拠	9) <u>自己血清採取を施行できない可能性があるため設定した。</u> 15) <u>医学部附属病院輸血部の自己血貯血実施基準を参考に安全性に配慮し設定した。</u>	削除	自己血清の採取を実施しないため
P.9 4.2. 成分・製造方法など	1) <u>自己血清の採取</u> <u>自己脂肪組織採取前30日以内に大阪大学医学部附属病院輸血部において自己血採取バッグに400mLの血液を採取・遠心分離し、血清成分を大阪大学歯学部附属病院CPC (Cell Processing Center) において凍結保存する。なお、スクリーニング検査が自己血採取の8日以上前に実施された場合には、自己血採取から遡って1週間以内にヘモグロビンが11.0g/dL以上であることを確認する。</u>	削除	自己血清の採取を実施しないため
P.9 4.2. 成分・製造方法など	3) <u>自己脂肪組織由来幹細胞の単離、培養、凍結</u> 大阪大学歯学部附属病院細胞CPC、閉鎖系細胞調製培養装置（セルプロセッシング・アイソレーター（CPI））内で脂肪組織を洗浄液にて洗浄し、脂肪組織1mLに対して0.25%コラゲナーゼ溶液2mLを加え、小型振盪器内にて37°C1時間振盪する。内容物をセルストレーナーにて濾過し、濾液を自己血清含有培地で懸濁し培養ディッシュに播種する。24~48時間の培養後、培養ディッシュ内の細胞を洗浄し、EDTA処理によって培養ディッシュよりはがれた細胞を脂肪組織由来幹細胞として、5%自己血清含Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 培地に懸濁し、fibronectin coated dishに播種する。 培養14日後（±7日）に細胞をトリプシン処理によって回収する。回収した細胞が以下の管理項目を満たさない場合は、培養細胞を全て凍結保存し、2) 自己脂肪組織の採取 から再度施行する。	2) 自己脂肪組織由来幹細胞の単離、培養、凍結 大阪大学歯学部附属病院細胞CPC、閉鎖系細胞調製培養装置（セルプロセッシング・アイソレーター（CPI））内で脂肪組織を洗浄液にて洗浄し、脂肪組織1mLに対して0.25%コラゲナーゼ溶液2mLを加え、小型振盪器内にて37°C1時間振盪する。内容物をセルストレーナーにて濾過し、濾液をウシ胎仔由来血清含有培地で懸濁し培養ディッシュに播種する。24~48時間の培養後、培養ディッシュ内の細胞を洗浄し、EDTA処理によって培養ディッシュよりはがれた細胞を脂肪組織由来幹細胞として、5%ウシ胎仔由来血清含Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 培地に懸濁し、fibronectin coated dishに播種する。 培養28日後（±14日）に細胞をトリプシン処理によって回収する。回収した細胞が以下の管理項目を満たさない場合は、培養細胞を全て凍結保存し、1) 自己脂肪組織の採取 から再度施行する。	細胞の培養に用いる血清を被験者自己血清からウシ胎仔由来血清に変更することにより安定した細胞増殖が得られるため個人差により細胞の初期増殖に時間を要する場合がありますため
P.10 4.2. 成分・製造方法など	4) <u>自己脂肪組織由来幹細胞の解凍</u> フラップ手術および移植術の10±2日前に、凍結保存された自己脂肪組織由来幹細胞を解凍し、5%自己血清含DMEM培地に懸濁し、	3) 自己脂肪組織由来幹細胞の解凍 フラップ手術および移植術の10±2日前に、凍結保存された自己脂肪組織由来幹細胞を解凍し、5%ウシ胎仔由来血清含DMEM培地に	細胞の培養に用いる血清を被験者自己血清からウシ胎仔由来

	fibronectin coated dishに播種する。 また、解凍した細胞の懸濁液より生存率を計測する。その後、10±2日間で二回の継代培養を行い、移植3日前に培養上清10mLを滅菌チューブに回収し、感染症検査を行う。規格を満たさない場合や感染症検査で陽性となった場合は、培養細胞を全て凍結保存し、2)自己脂肪組織の採取 から再度繰り返す。	懸濁し、fibronectin coated dishに播種する。 また、解凍した細胞の懸濁液より生存率を計測する。その後、10±2日間で二回の継代培養を行い、移植3日前に培養上清10mLを滅菌チューブに回収し、感染症検査を行う。規格を満たさない場合や感染症検査で陽性となった場合は、培養細胞を全て凍結保存し、1)自己脂肪組織の採取 から再度繰り返す。	血清に変更することにより安定した細胞増殖が得られるため
P.12 5.3. 目標登録患者数・患者登録期間	2) 登録期間：平成23年11月18日から平成26年11月17日までの3年間	2) 登録期間：平成23年11月18日から平成29年11月17日までの6年間	目標症例数が未了であるため
P12 5.4 目標登録患者数の集積可能性	…目標登録症例数を12例、登録期間を3年間と設定した。	…目標登録症例数を12例、登録期間を3年間と設定した。 【第6版追記】 患者登録未了のため、登録期間を6年間に延長した。	目標症例数が未了であるため
P.17 5.8 臨床研究登録期間・臨床研究実施期間	臨床研究登録期間は、平成23年11月18日から平成26年11月17日までの3年間、臨床研究実施期間は、大阪大学歯学部附属病院長の実施許可を受けたときから全ての登録症例の臨床研究が終了又は中止した時点までの期間とする。臨床研究実施期間の目標は6年間とする。	臨床研究登録期間は、平成23年11月18日から平成29年11月17日までの6年間、臨床研究実施期間は、大阪大学歯学部附属病院長の実施許可を受けたときから全ての登録症例の臨床研究が終了又は中止した時点までの期間とする。臨床研究実施期間の目標は9年間とする。	12例の目標症例数を実施するには、期間の延長が必要であるため
P.20 7.2.1 主要評価項目(安全性の評価)の観察・検査内容	1)全身所見 観察項目：全身の自覚症状(異常の有無)・他覚所見(血圧、脈拍、呼吸数、体温、 <u>体重*</u> )を診察、問診などにより調査する。 ※ <u>体重はスクリーニング時のみ。</u>	1)全身所見 観察項目：全身の自覚症状(異常の有無)・他覚所見(血圧、脈拍、呼吸数、体温)を診察、問診などにより調査する。	体重測定は自己血清の採取に際して必要であったため
P.21 7.2.2 有効性に関する測定項目	*1：前観察では移植前の欠損深さのみを測定する。 *2：前観察では臨床的アタッチメントレベルのみを測定する。 *3：前観察では辺縁歯肉の退縮量(REC)の算出は行わない。	*1：スクリーニング、前観察では移植前の欠損深さのみを測定する。 *2：スクリーニング、前観察では臨床的アタッチメントレベルのみを測定する。 *3：スクリーニング、前観察では辺縁歯肉の退縮量(REC)の算出は行わない。	記載漏れのため
P.23 9.1. 基準	6)「11.2.1. 中止又は中断の基準」により研究全体が中止又は中断された場合。	6)「11.1. 研究全体の中止・中断の基準及び手順」により研究全体が中止又は中断された場合。	誤記のため

P. 24 10.2. 実施計画書からの逸脱又は変更	2) 登録後逸脱例：登録後に本研究実施計画書の規定を違反した被験者。具体的には以下の被験者が含まれる。 a) 「5.5.治療計画」で規定したプロトコル治療を違反した被験者。 b) 「7. 観察・検査・評価項目及びスケジュール」で規定した、観察・検査・評価及びスケジュールを違反した被験者。 c) 「9. 被験者ごとの研究中止基準と手順」で規定した項目に該当しない中止例、又はこの項目に該当するにもかかわらず中止しなかった被験者。	2) 登録後逸脱例：登録後に本研究実施計画書の規定に違反した被験者。具体的には以下の被験者が含まれる。 a) 「5.5.治療計画」で規定したプロトコル治療に違反した被験者。 b) 「7. 観察・検査項目とスケジュール」で規定した、観察・検査・評価及びスケジュールに違反した被験者。 c) 「9. 被験者毎の臨床研究中止の基準及び手順」で規定した項目に該当しない中止例、又はこの項目に該当するにもかかわらず中止しなかった被験者。	誤記のため
P. 26 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、被験者本人による参加の同意を得る。さらに血清採取前、脂肪組織採取前、移植前にそれぞれ同意説明を行い、被験者本人による同意を得る。	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、被験者本人による参加の同意を得る。さらに脂肪組織採取前、移植前にそれぞれ同意説明を行い、被験者本人による同意を得る。	自己血清の採取を実施しないため
P. 34-36 24) 臨床研究実施体制 2) 研究分担者	橋川 智子	—	退職のため
	島袋 善夫	—	本臨床研究実施体制の変更のため
	梶川 哲宏	—	退職のため
	沢田 啓吾 大学院生	沢田 啓吾 医員	役職変更のため
	伊山 舜吉	—	退職のため
	粟田 敏仁 大学院生	粟田 敏仁 医員	役職変更のため
	森 健太 大学院生	森 健太 特任研究員	役職変更のため
	—	中村 友美	退職者の役割を分担するため
—	山羽 聡子	退職者の役割を分担するため	

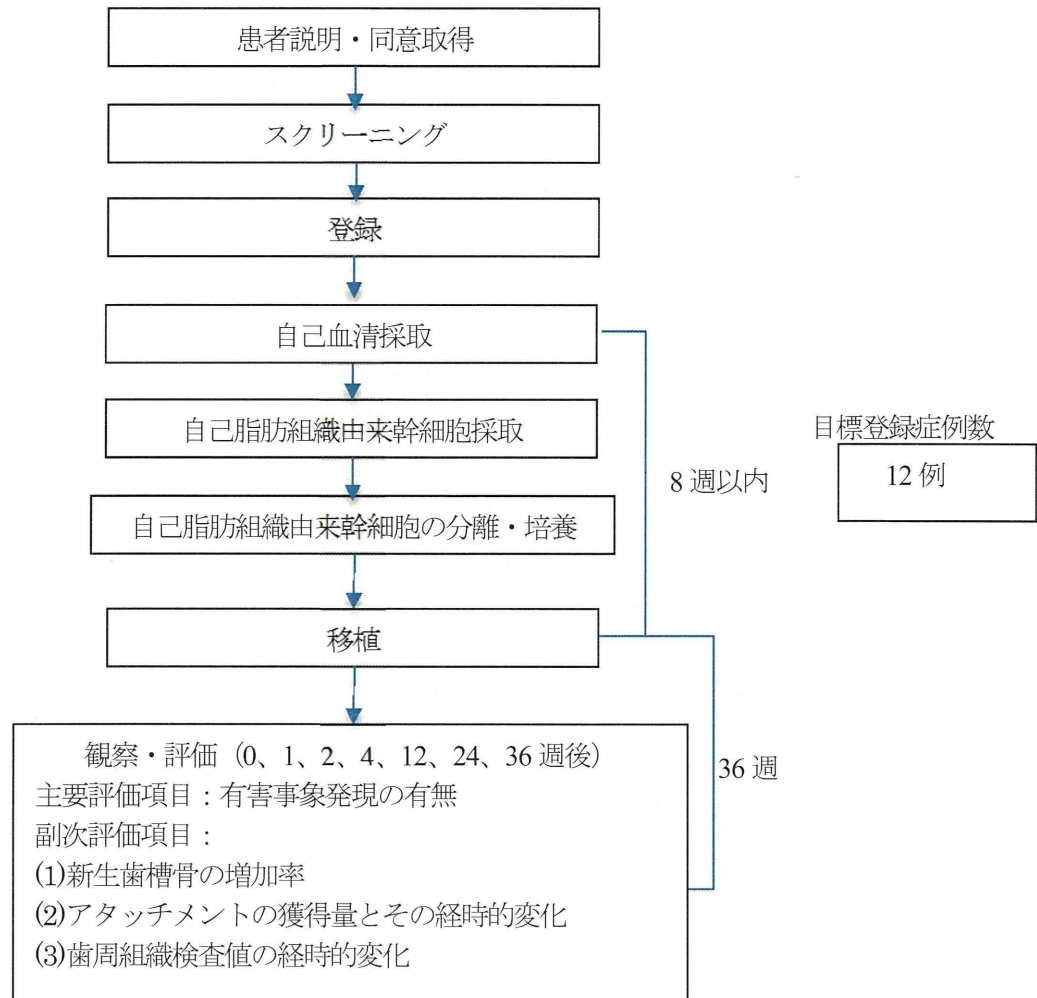
	—	久保田 実木子	退職者の役割を分担するため
	—	阪下 裕美	退職者の役割を分担するため
	—	池上 久仁子	退職者の役割を分担するため
P. 36 (1)大阪大学医学部附属病院未来医療センター協力者	大倉 華雪 財団法人 先端医療振興財団 膝島肝臓再生研究グループ 078-304-8706	大倉 華雪 独立行政法人 医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部 078-304-6177	異動のため
P. 37 (2)臨床研究コーディネーター	佐野 夕子	—	退職のため
	島本 知美	—	人事異動のため
P36-39 24) 臨床研究実施体制	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 06-6879-6552	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 06-6210-8289	移転に伴う連絡先の変更のため 同様の修正を11件実施
P39 (3)モニター	—	迫田 美香 大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター モニター 06-6210-8289 モニタリング業務	人事異動のため
	—	加藤 奈津弥 大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター モニター 06-6210-8289 モニタリング業務	人事異動のため
P38 (4)統計解析及びデータマネジメント	山本 紘司 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 特任講師	山本 紘司 大阪大学大学院医学系研究科臨床統計疫学寄附講座 寄附講座講師	異動のため

担当者	06-6879-5681	06-6210-8373	
	上坂 浩之	—	退職のため
	—	新谷 歩 大阪大学大学院医学系研究科臨床統計疫学寄附講座 寄附講座 教授 06-6210-8371 症例登録・割付グループリーダー	人事異動のため
	長尾 杏奈 06-6879-6560 FAX:06-6879-6536 症例登録主担当、データマネジメント担当	長尾 杏奈 06-6210-8318 FAX:06-6210-8320 データマネジメント担当	役割変更のため 移転に伴う連絡先の変更のため
P38 4) データセンター	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	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 2-2 大阪大学大学院医学系研究科附属 最先端医療イノベーションセンター棟 4階 06-6210-8318 FAX:06-6210-8320	移転に伴う連絡先の変更のため
P39 6) 緊急連絡先 研究チーム	大阪大学歯学部附属病院 口腔治療・歯周科 村上 伸也、北村 正博、橋川 智子、山田 聡、島袋 善夫、野崎 剛徳、柳田 学、山下 元三、竹立 匡秀、北垣 次郎太、小笹 匡雄、柏木 陽一郎、梶川 哲宏、沢田 啓吾、伊山 舜吉、粟田 敏仁、森 健太、山本 智美、森本 千晶	大阪大学歯学部附属病院 口腔治療・歯周科 村上 伸也、北村 正博、山田 聡、野崎 剛徳、柳田 学、山下 元三、竹立 匡秀、北垣 次郎太、小笹 匡雄、柏木 陽一郎、沢田 啓吾、粟田 敏仁、森 健太、中村 友美、山羽 聡子、久保田 実木子、山本 智美、阪下 裕美、池上 久仁子、森本 千晶	退職および本臨床研究実施体制の変更のため



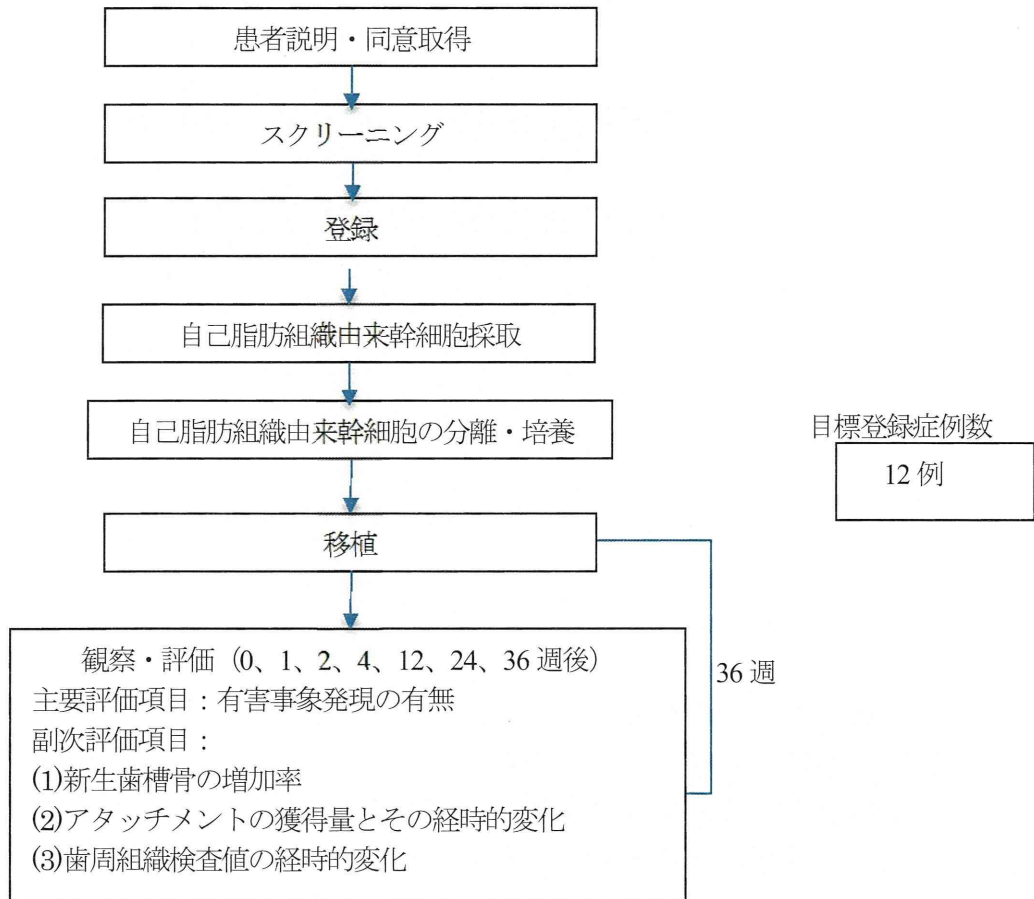
別紙1：変更前

シエーマ



別紙2：変更後

シエーマ



# ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

「自己脂肪組織由来幹細胞を用いた

新しい歯周組織再生療法開発」

研究責任者：村上伸也

研究分担者（主任）：北村正博

所属機関名：大阪大学大学院歯学研究科

所属科・部署：口腔治療・歯周科

第6版：作成年月日 2014年7月31日

大阪大学歯学部附属病院病院長

前田芳信

日付 2014年7月31日

