

非代償性肝硬変患者に対する培養自己骨髄細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法の安全性に関する研究

担当責任者 山口大学大学院医学系研究科 教授 坂井田 功

研究要旨

本研究では、非代償性肝硬変患者を対象に、局所麻酔下に採取した少量の骨髄液から肝線維化改善効果のある骨髄間葉系幹細胞を培養増殖して末梢静脈から投与する「培養自己骨髄細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法」の臨床研究を実施し、その安全性を検証する。

A. 研究目的

先進医療 B として実施している「肝硬変患者に対する自己骨髄細胞投与療法（ABMi 療法：Autologous Bone Marrow cell infusion therapy）」は、患者自身の自己骨髄細胞を採取して末梢静脈から投与することで、骨髄細胞の肝線維化改善作用により肝機能を改善させる方法であるが、全身麻酔下に骨髄液を約 400 mL 採取する必要があるため、全身麻酔可能例に適応が制限される。そこで、より重症な肝硬変症患者を救命するため、ABMi 療法をさらに低侵襲なものへと発展させ、局所麻酔下に採取した骨髄液約 30mL から肝線維化改善効果のある骨髄間葉系幹細胞を培養増殖し、末梢静脈から投与する「培養自己骨髄細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法」を開発した(6 頁 図 1)。本研究では、平成 26 年 8 月 6 日（厚生労働省発医政 0806 第 8 号）に厚生労働大臣よりその実施について許可を得た「非代償性肝硬変患者に対する培養自己骨髄細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法の安全性に関する研究」について検討することを目的とする。

B. 研究方法

本研究は、国立大学法人山口大学大学院医学系研究科における単施設、非盲検、第 Ⅰ 相試験であり、その目標症例数は 10 例である。

臨床研究実施のための環境整備

a. データセンターシステムの整備と臨床研究保険の手続き

< 担当責任者 >

山口大学大学院医学系研究科

教授 坂井田 功

山口大学大学院医学系研究科

講師 高見 太郎

山口大学医学部附属病院臨床研究センター

助教 丸本 芳雄

症例登録およびデータモニタリングは、eClinical Base(eCB)ウェブサイトを用いて第三者機関である公益財団法人先端医療興財団 臨床研究情報センターの「TRI データセンター」で実施することとし、そのための eCB ウェブサイト整備を行う。また、本臨床研究により有害事象が生じた際の補償のため臨床研究保険への加入手続きを行う。

臨床研究の実施（本年度目標症例数 2 例）

a. 対象患者の選択および登録

< 担当責任者 >

山口大学大学院医学系研究科

教授 坂井田 功

山口大学大学院医学系研究科

講師 高見 太郎

山口大学大学院医学系研究科

助教 石川 剛

山口大学医学部附属病院臨床研究センター

助教 丸本 芳雄

本研究では、原因を問わず非代償性肝硬変症に至った 20 歳から 75 歳の肝硬変患者のうち、現行の内科的な治療法では改善が見込めず、全身麻酔を施行することができない症例を対象とする。選択基準を満たす症例に対し、受診時に研究参加に関する同意書を示して研究について紹介する。その上で患者側からの希望があった場合には、改めて担当医師より詳細な説明を口頭および文書により行う。本研究への参加に同意が得られ、除外基準のいずれにも該当しない症例を登録する。

【選択基準】

- (1) 90 日以上離れた 2 点において、Child-Pugh スコア 7 点 (Child-Pugh B) 以上の状態にあり、現行の内科的治療法では改善が見込めない非代償性肝硬変症例。
- (2) 20 歳以上 75 歳以下の症例。
- (3) 総ビリルビン値が 3.0mg/dL 以上 5.0mg/dL 未満の症例、あるいは総ビリルビン値が 3.0mg/dL 未満で全身麻酔を施行することができない症例。
- (4) 文書によるインフォームドコンセントを本人から取得可能で、研究参加の同意が得られた症例。

【主な除外基準】

- (1) 活動性の悪性新生物または無病期間が1年以上の悪性新生物を有する症例。ただし、局所治療により治癒と判断される上皮内または粘膜内癌相当病変は活動性の悪性新生物に含めない。
- (2) 破裂の危険性を有する食道・胃静脈瘤を合併している症例。

- (3) 腎機能障害(血清クレアチニン値2 mg/dL以上)を合併する症例。
- (4) ヘモグロビン値が8g/dL未満、血小板数が50,000/ μ L未満、あるいはPTが40%未満の症例。
- (5) Performance Status 3あるいは4の症例。
- (6) 同種血輸血に関する同意を得られない症例。
- (7) ヒト免疫不全ウイルス感染症、成人T細胞白血病ウイルス感染症、パルボウイルスB19感染症が否定できない症例。
- (8) 妊娠の希望がある、あるいは妊娠中の女性。
- (9) 局所麻酔薬に対してアレルギーの既往がある等、局所麻酔を施行することができない症例。
- (10) 造影剤に対する重篤なアレルギーのある症例、もしくはその既往を有する症例。
- (11) 牛乳または牛肉に対する重篤なアレルギーのある症例、もしくはその既往を有する症例。
- (12) 他の細胞治療及び細胞治療の臨床研究等に参加したことがある症例。

b. 培養自己骨髄細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法の実施

< 担当責任者 >

山口大学大学院医学系研究科

教授 坂井田 功

山口大学大学院医学系研究科

講師 高見 太郎

山口大学大学院医学系研究科

助教 石川 剛

山口大学大学院医学系研究科

助教 松本 俊彦

山口大学医学部附属病院臨床研究センター

助教 丸本 芳雄

山口大学大学院医学系研究科附属再生医療教育

研究センター

助教 藤澤 浩一

山口大学医学部附属病院 再生・細胞治療センター

准教授 藤井 康彦

山口大学大学院医学系研究科
教授 野島 順三

登録された症例は、骨髄細胞の採取・培養に関する同意を得た後に治療前評価を行い、入院の上、自己骨髄細胞を採取する。局所麻酔下に両腸骨より骨髄液約 30mL を採取し、ヘパリンを添加した後に骨片等を除去する。山口大学医学部附属病院の再生・細胞治療センターで骨髄液を受け入れ、赤血球沈降促進剤 hydroxyl ethyl starch (HES) を添加し、有核球細胞分画を調製する。これに培地を加えて細胞懸濁液とした後、培養フラスコに播種して約 3 週間継代培養を行い、骨髄間葉系幹細胞を含む細胞群を回収する。この細胞に対して品質管理試験（無菌試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験等）を行い、安全性を確認する。投与する細胞数は約 2×10^7 個であり、細胞投与時は約 200mL の細胞懸濁液を約 2 時間かけてゆっくりと末梢静脈から点滴投与する（濃度は約 1×10^5 /mL）。細胞投与後は、有害事象が発生しないか等の安全性を調べることを目的に術後 1 週間は原則として入院下で厳重な観察を行い、以後定期的に経過を追跡し 24 週間の観察を行う（6 頁 図 2）。規定された時期以外でも担当医師が必要と認めた場合は調査を行う。最初の 3 例目までを 3 ヶ月観察し、因果関係の否定できない重篤な有害事象が発生していなければ、4 例目以降の登録を進める。

プロジェクトの総合推進

< 担当責任者 >

山口大学大学院医学系研究科
教授 坂井田 功

研究代表者である坂井田功が研究を統括し、臨床研究の実施は高見太郎が担当する。特に入院管理は石川剛、培養骨髄細胞の製造は再生・細胞治療センターの藤井康彦、細胞評価は藤澤浩一、松

本俊彦、野島順三が参画する。さらに、規制科学分野（データセンターシステムの整備と臨床研究保険の手続き）は医学部附属病院 臨床研究センターの丸本芳雄が担当する。

（倫理面への配慮）

本臨床研究は、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」を遵守の上立案され、山口大学医学部附属病院 医薬品等治験・臨床研究等審査委員会（山口大 IRB）、厚生労働省厚生科学審議会科学技術部会 の了承を経て、平成 26 年 8 月 6 日（厚生労働省発医政 0806 第 8 号）に厚生労働大臣よりその実施についての許可を得ている。また、この臨床研究は、ヘルシンキ宣言や山口大学の倫理規定等も遵守し実施される。さらに本臨床研究では、具体的には以下のようにインフォームドコンセントを行う。（以下、臨床研究計画書「7. 説明と同意」より転載）

研究者または補足説明者としての協力者（以下、研究者等）は、被験者が本臨床研究に参加する前に、被験者に対して説明・同意文書を用いて十分に口頭で詳しく説明し、本臨床研究の参加について自由意思による同意を被験者から文書により得るものとする。同意について、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に基づき、（1）本臨床研究の全般に係る意思を確認し、（2）細胞採取に係る意思を確認し、更に（3）採取した細胞投与に係る意思を確認するものとする。

研究者等は、同意を得る前に被験者が質問をする機会と、本臨床研究に参加するか否かを判断するのに十分な時間を与えるものとする。その際、研究者等は、全ての質問に対して被験者が理解するように答えるものとする。

同意書には、説明を行った研究者等及び被験者が各自日付を記入し、記名捺印又は署名する。なお、協力者が補足的に説明を行った場合には記名捺印又は署名し、日付を記入するものとする。その同意書は研究実施機関でカルテ等に添付して保

管するとともに、その写しを被験者へ交付する。

被験者が本臨床研究に参加している間に、同意説明文書が改訂された場合は、研究者等は、その都度当該情報を速やかに被験者に伝え本臨床研究に参加するか否かについて被験者の意思を確認するとともに、改訂された同意説明文書を用いて改めて説明し、本臨床研究の参加継続について被験者から自由意思による同意を文書により得るものとする。

本臨床研究参加中の被験者が同意の撤回を申し出た場合、研究者等並びに被験者はその旨を記載した文書（同意撤回文書）に各自日付を記入し、記名捺印又は署名する。その同意撤回書も同様に、実施研究機関でカルテ等に添付して保管するとともに、その写しを被験者へ交付する。

C. 研究結果

臨床研究実施のための環境整備

a. データセンターシステムの整備と臨床研究保険の手続き

< 担当責任者 >

山口大学大学院医学系研究科

教授 坂井田 功

山口大学大学院医学系研究科

講師 高見 太郎

山口大学医学部附属病院臨床研究センター

助教 丸本 芳雄

平成26年12月にデータモニタリングシステムの整備（先端医療振興財団 臨床研究情報センター）および臨床研究保険への加入手続を完了し、平成27年1月の山口大学医学部附属病院 再生・細胞治療センター内Cell processing centerバリデーションを経て、同年2月から症例登録および臨床研究の開始が可能となった。

臨床研究の実施（本年度目標症例数2例）

a. 対象患者の選択および登録

< 担当責任者 >

山口大学大学院医学系研究科

教授 坂井田 功

山口大学大学院医学系研究科

講師 高見 太郎

山口大学大学院医学系研究科

助教 石川 剛

山口大学医学部附属病院臨床研究センター

助教 丸本 芳雄

平成26年12月から患者を選定する基盤調査として当院通院中の肝硬変症例および以前にABM/療法の不適応と判断された症例について調査を行い、さらに、平成27年2月より山口大学医学部附属病院ホームページ (<http://www.hosp.yamaguchi-u.ac.jp>)、山口大学大学院医学系研究科 消化器病態内科学ホームページ (<http://www.ichinai-yamaguchi.jp>)、新聞紙面(読売新聞山口地方版、平成27年3月8日・3月22日)にて本臨床研究について告知を行った。

結果、選択基準を満たし、除外基準に該当しないとデータモニタリング機関である先端医療振興財団 臨床研究情報センターでも確認された50代男性 非代償性B型肝炎患者が、治療前検査を経て、平成27年3月12日に第1症例として症例登録された。

b. 培養自己骨髄細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法の実施

< 担当責任者 >

山口大学大学院医学系研究科

教授 坂井田 功

山口大学大学院医学系研究科

講師 高見 太郎

山口大学大学院医学系研究科

助教 石川 剛

山口大学大学院医学系研究科

助教 松本 俊彦

山口大学医学部附属病院臨床研究センター
助教 丸本 芳雄
山口大学大学院医学系研究科附属再生医療教育
研究センター
助教 藤澤 浩一
山口大学医学部附属病院 再生・細胞治療センター
准教授 藤井 康彦
山口大学大学院医学系研究科
教授 野島 順三

平成27年3月13日、全身麻酔は行わず、局所麻酔
下に第1症例の骨髄液採取を施行し、SOPに従って
骨髄細胞の培養を開始した。3月31日現在、骨髄液
採取を受けた第1症例および培養細胞は著変なく
経過しており、平成27年4月上旬に培養自己骨髄細
胞の投与を予定している。

プロジェクトの総合推進

<担当責任者>

山口大学大学院医学系研究科
教授 坂井田 功

研究代表者である坂井田功が、統括して実施し
た。また、寺井崇二（平成26年12月3日～同年12
月31日山口大学大学院医学系研究科准教授・研究
分担者、平成27年1月1日～同年3月31日山口大学大
学院医学系研究科非常勤講師・研究協力者）とも
連携して実施した。

D. 考察

非代償性肝硬変患者を対象にした「培養自己骨
髄細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法」の臨床研究
の第1例目を開始しており、今後もその実施を継続
する。また、SOPに従い自己骨髄細胞の培養が可能
であることが示唆された。

E. 結論

第1症例において培養自己骨髄細胞の製造過程

における安全性が示された。今後、培養自己骨髄
細胞の投与過程における安全性の評価へと進み、
さらに目標症例数10例に向けて実施症例数を重ね
る予定である。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

寺井崇二、高見太郎、坂井田功
「非代償性肝硬変症に対する再生療法」
第14回日本再生医療学会総会
（平成27年3月20日）

高見太郎、寺井崇二、藤澤浩一、山本直樹、
坂井田功
「培養骨髄間葉系幹細胞投与による肝臓再生
メカニズムの解明」
第14回日本再生医療学会総会
（平成27年3月20日）

図 1

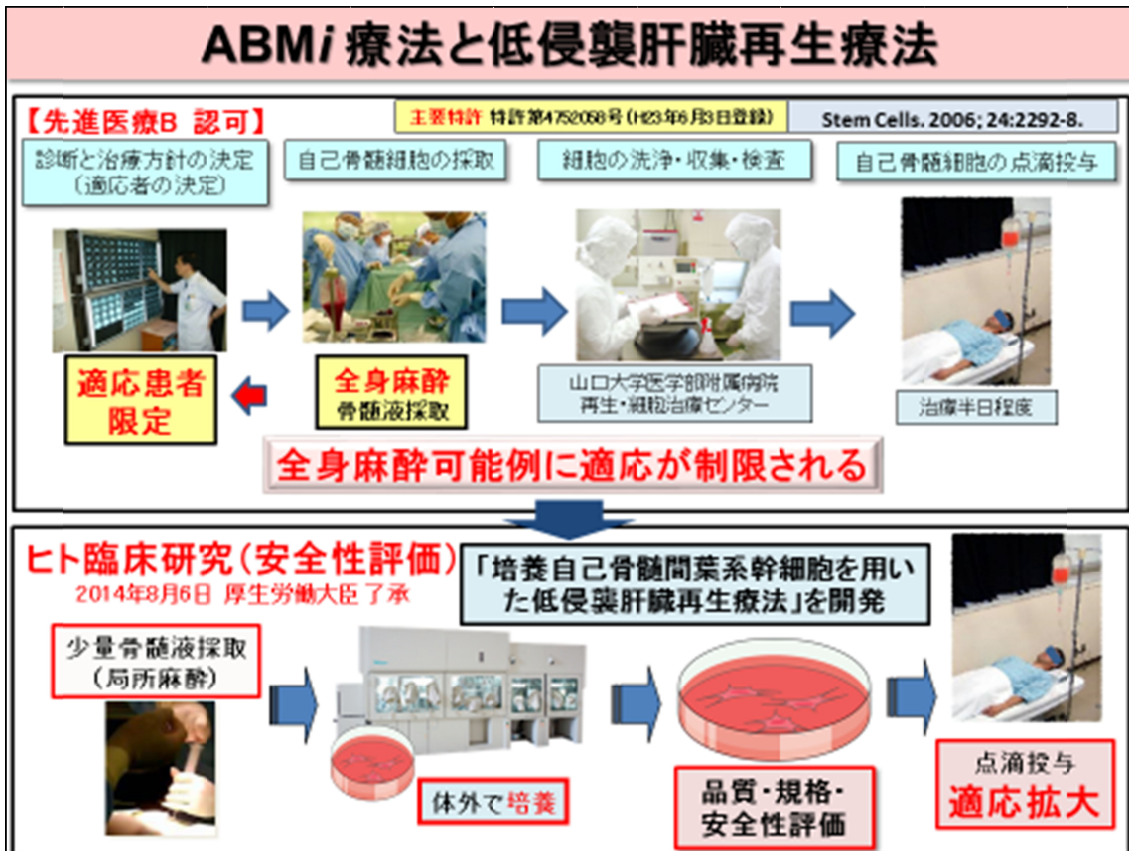


図 2

