

研究計画書

「新生児慢性肺疾患に対する臍帯由来間葉系細胞 を用いた再生医療に関する研究」

病院名・所属部署 埼玉医科大学総合医療センター・小児科

申請者氏名 難波 文彦

Version. 1 2020年2月3日

Version. 2 2021年2月22日

研究計画書

1. 研究の名称

新生児慢性肺疾患に対する臍帯由来間葉系細胞を用いた再生医療に関する研究

2. 研究組織について

基盤研究施設及び研究責任者・実施者

埼玉医科大学総合医療センター

研究責任者：難波 文彦 小児科 医師 准教授

研究実施者：宮原 直之 小児科 医師 助教

小澤 純一 小児科 医師 助教

芳賀 光洋 小児科 医師 助教

田中 広輔 小児科 医師 非常勤

連絡先：〒350-8550 埼玉県川越市鴨田 1981

電話：049-228-3727（平日 9 時～17 時・水曜日除く）

FAX：049-226-2325

E-mail：nambaf@saitama-med.ac.jp

共同研究施設及び責任者

東京大学医科学研究所附属病院 長村 登紀子（細胞提供）

東京大学医科学研究所附属病院 向井 丈雄（技術指導）

3. 研究の背景・意義と目的

新生児慢性肺疾患は、『先天性奇形を除く肺の異常により酸素投与を必要とするような呼吸窮迫症状が新生児期に始まり日齢 28 を越えて続くもの』と定義され、早産・低出生体重児にとって高頻度で重篤な合併症の一つである。近年、幼・小児期にも呼吸器合併症が引き続くことが問題であり、死亡例もみられる。現在のところ有効な治療法はない。本研究では、ヒト臍帯由来間葉系細胞の新生児慢性肺疾患に対する有効性と安全性を、新生児慢性肺疾患動物モデルを用いて明らかにすることを目的とする。

4. 研究方法

C57BL/6J マウス（♂♀各 N = 6）を日本 SLC より導入後、総合医療センター動物実験施設内で自家繁殖を行い、以下の実験に供する新生仔マウス♂♀を得る予定でいる。繁殖に関しては、実験に必要な数の作出に努力し、実験終了時には、使用しないマウスをペントバルビタールナトリウム過剰投与（100 mg/kg、i.p）により安楽死する。

新生仔♂♀マウス（出生直後）に 95%酸素（高濃度酸素群）または 21%酸素（ルームエア、コントロール群）を 96 時間暴露（Biospherix 社のチャンバー、O₂ コントローラー、CO₂ コントローラーを使用）する。酸素暴露時は、新生仔♂♀マウスは親と同居させる。暴露後は、ルームエア下で生後 8 週齢まで飼育する。1 週齢時に凍結解凍した①ヒト臍帯由来間葉系細胞（1

×10⁵ cell/ 40 μL、東京大学医科学研究所附属病院臍帯血・臍帯バンク（東大医科研臍帯血・臍帯バンク）から MTA 契約にて入手予定）、または②凍害保護液または③生理的食塩水を大腿静脈内に 40 μL 投与する。投与後、1 週齢（投与直前、N = 5）、2 週齢（N = 5）、4 週齢（N = 5）、8 週齢時（N = 5）（各群 N = 20×3 群、合計 N = 60）に、三種混合麻酔下（塩酸メドミジン 0.3 mg/kg + ミダゾラム 4 mg/kg + 酒石酸ブトルファノール 5 mg/kg、i.p）に呼吸機能測定（SCIREQ 社の flexiVent を使用）後、開胸し、左右肺を摘出し、気管支肺胞洗浄液を採取する。マウスは、ペントバルビタールナトリウム過剰投与（100 mg/kg、i.p）により安楽死する。右肺は HO-1、PCNA、p21、各種サイトカインの蛋白質・mRNA 発現量定量のため、液体窒素にて凍結後、-80°C で保存する。左肺は 10% 中性緩衝ホルマリンで定圧固定し、パラフィン標本を作製して病理組織学的解析に用いる。

申請者は、新生仔期に高濃度酸素を暴露させた新生児慢性肺疾患マウスモデルを用いて、急性期の病態の変化の解析を行い、長期的な合併症についての研究を行ってきた。本研究では、特に同動物モデルに対する臍帯由来間葉系細胞療法に注目して、間葉系細胞投与の有効性ならびに安全性について、高濃度酸素性肺傷害に関する蛋白質・RNA 解析そして病理組織学的解析を中心に行う予定でいる。

供試動物数は実験結果を解析する際の必要最小限の匹数である。万が一、全身状態の悪化（食欲廃絶、排泄困難または不能、不自然な姿勢・自傷行為）や顕著な体重減少（2～3 日で 20% 以上の体重減少）等がおきた場合は、適切な時期に人道的エンドポイントを考慮する。

5. 研究期間

倫理委員会および動物実験委員会承認後～2025 年 3 月 31 日

6. 使用する動物

使用動物	動物種	系統名	性別	匹数	微生物学的品質	入手先 (導入機関名)	備考
	(マウス)	C57BL/6J	♂	6	SPF	日本 SLC	9 週齢
		C57BL/6J	♀	6	SPF	日本 SLC	9 週齢
		新生仔マウス	♂♀	60	SPF		自家繁殖

7. ヒト臍帯を採取した対象者

東大医科研臍帯血・臍帯バンクの同種非血縁健常ドナー

NTT 東日本関東病院および山口病院にて、正期産、健常母体より帝王切開の出産を予定している妊婦に対して文書にて同意を得た後、無菌的に臍帯血・臍帯の採取を行う。

8. 動物実験実施場所

埼玉医科大学総合医療センター第一研究棟 2 階動物実験室

9. 研究の科学的合理性の根拠

新生児慢性肺疾患の新規治療法として、間葉系細胞療法が期待されている。新生児慢性肺疾患動物モデルに対して、さまざまな組織由来の間葉系細胞の有効性が、その抗炎症作用により示されてきた。今回、同疾患の新規治療法開発を目指して、疾患マウスモデルに対するヒト臍

帯由来間葉系細胞を用いた前臨床試験を行う。

10. 被験者に理解を求め同意を得る方法

① 本研究では、予め東大医科研臍帯血・臍帯バンクに、母親より書面で同意を得た臍帯由来間葉系細胞を用いる。同意を求めた説明内容及び方法は、既に東京大学医科学研究所治験審査委員会（研究用提供に関する倫理審査も含まれている）で承認されている。東大医科研で臍帯提供者に同意・協力を得る方法は以下である。

1) 説明するタイミングとその方法：

母親学級等で不特定多数を対象に紹介し、協力産婦人科の外来および病棟にパンフレットを置き、自由意思で協力を表明している母親に対して産婦人科医師が説明し、同意書を取得する。その際、父親（夫）などの家族又はそれに準ずる人からも同意を得る（任意；妊娠出産が一人ではないため）。その後、付随書類に記入してもらう。

2) 意思を確認するタイミングとその方法：

産婦人科外来または入院担当医師が、母親から提供に関する意思について分娩前に確認する。臨床上必要があると認められる場合には、分娩時に口頭同意を得て、分娩後に書面で同意を得る。

3) 同意の撤回方法

同意文書に署名され、産婦人科へ提出し、臍帯血と臍帯を採取後でも、同意の撤回は可能である。ただし、研究が開始され、提供者を特定できず、破棄できない場合があることを同意書に明記している。なお、同意を撤回された場合でも、母と児が不利益を被ることは一切ないことを説明する。同意を撤回する場合には、同意撤回文書に署名の上、東大医科研臍帯血・臍帯バンク 長村医師宛に郵送してもらうよう説明する。但し、出産時入院中の同意撤回は主治医に手渡して頂くことも可能とし、主治医は東大医科研臍帯血・臍帯バンク 長村医師宛に連絡する。

一方で、臍帯血および臍帯の提供に同意しても、諸般の事情により採取されない場合や研究用として使用できない場合にはやむなく廃棄する場合がある。お産の状況、夜間休日等により臍帯血や臍帯を使用できない場合もあることについても伝える。

② 埼玉医科大学総合医療センターで行う本研究は、疾患モデル動物を用いた前臨床試験で、東大医科研で匿名化した上で臍帯由来間葉系細胞提供を受けること、さらに東大医科研で同意を得た母親は既に退院しているため現実的に個別に同意を得ることは困難であるためオプトアウトの手法を用いる。本研究では、同意を得た母親が臍帯由来間葉系細胞提供者となることを拒否できる旨を含めて、埼玉医科大学総合医療センター倫理委員会で承認の得られた研究計画書を埼玉医科大学総合医療センターホームページに掲載することにより、情報公開を行うこととする。

11. 研究対象者に緊急かつ明白な生命の危機が生じている状況における研究の取り扱い

本研究は動物実験であり、研究対象者は存在しないため該当せず。

12. 個人情報の取扱いについて

- ① 本研究は、東大医科研において個人情報匿名化済みの臍帯由来間葉系細胞をマウスに投与する動物実験である。
- ② 東大医科研において試料・情報・同意書等における「氏名・生年月日・電話番号・住所」については、治験審査委員会承認 31-2 に従って管理する。個人情報その他の資料（試料）は、個人情報管理担当者により匿名化（対照表を有する）され、以降は健診調査等の宛名以外は I D にて運用される。これらの方法により個人情報を厳重に管理するので、その漏洩の可能性と漏洩により不利益を被る可能性は極めて少ないと考える。個人情報はすでに東大医科研において匿名化済みであり、医科研以外には、個人情報は提供されない。本研究では匿名化された試料・資料のみを用いる。
- ③ 対応表や個人情報を含む試料・情報は治験審査委員会承認 31-2 に基づき、個人情報保護管理者（長屋直子（東大医科研セルプロセッシング・輸血部学術支援職員））により管理される。対応表、同意書、問診票、家族歴調査表、健康調査票や診療情報は 臨床研究 A 棟東大医科研リソースセンター情報管理室 I の施錠されたキャビネット内に保管する。対応表や個人情報を含む資料等は、臍帯由来細胞等を治療用に使用した場合、使用后 30 年間保管する。研究使用されたもの、保存されないもの及び廃棄されたものは廃棄後 10 年間保管する。なお、準拠する法等が改正された場合には、それに従う。
- ④ 研究期間終了後の個人情報の保存／廃棄は治験審査委員会承認 31-2 に基づき、長村登紀子（東大医科研セルプロセッシング・輸血部 准教授）が引き続き管理する。研究期間終了後も得られた検査結果、診療情報に関する書類は、臨床研究 A 棟 東大医科研細胞リソースセンター情報管理室 III の施錠されたキャビネット内に保管する。また電子データは、インターネットに接続されていないコンピュータ内蔵のハードディスクドライブに保存する。コンピュータは、入室制限された東京大学医科学研究所 臨床研究 A 棟の品質管理室、バックアップファイルは情報管理室 III の施錠されたキャビネット内に保管する。臨床用にも研究用にも使用されないと判断された臍帯血・臍帯付随試料は、採取から 10 年を目処に廃棄する。
- ⑤ 当院での個人情報管理者：小児科 講師 岩本 洋一

13. 当該臨床研究に参加することにより期待される利益及び起こり得る危険並びに必然的に伴う心身に対する不快な状態

本研究は動物実験であり、研究対象者は存在しないため該当せず。

14. 試料の取扱いについて

本研究では、東大医科研臍帯血・臍帯バンク（IMSUT CORD）で凍結保管した臍帯由来間葉系細胞を輸送して実験する。（治験審査委員会承認 31-2）における保存細胞を所定の手続きに則って用いる。東大医科研では、臨床研究 A 棟東大医科研細胞リソースセンター1 階または 3 階の液体窒素タンクおよび超低温冷凍庫にて保管する。埼玉医科大学総合医療センターでは、第一研究棟 3 階の液体窒素タンクおよび超低温冷凍庫にて保管する。いずれも入室はカードキーで制限されている。

共同研究者である長村らはこれまで国内で初めて臍帯に豊富な間葉系細胞が含まれている

ことを報告し、臍帯由来間葉系細胞を臨床に応用するための製剤化に取り組んでおり、東大医科研臍帯血・臍帯バンクとして臨床用および研究用に利用可能な臍帯血・臍帯を一括管理してきた（IMSUT CORD 事業）。

臍帯由来間葉系細胞は、IMSUT CORD にて既に凍結保存された細胞の提供を受ける。

研究期間終了後、本研究に使用した細胞は原則的に廃棄する。

15. 病院長への報告内容及び方法

- ① 研究責任者は、研究の倫理的妥当性若しくは科学的合理性を損なう事実若しくは情報又は損なうおそれのある情報であって研究の継続に影響を与えると考えられるものを得た場合には、遅滞なく、病院長に対して文書にて報告し、必要に応じて、研究を停止し、若しくは中止し、又は研究計画書を変更する。
- ② 研究責任者は、研究の実施の適正性若しくは研究結果の信頼を損なう事実若しくは情報又は損なうおそれのある情報を得た場合には、速やかに病院長に文書にて報告し、必要に応じて、研究を停止し、若しくは中止し、又は研究計画書を変更する。
- ③ 研究責任者は、研究計画書に定めるところにより、研究の進捗状況及び研究の実施に伴う有害事象の発生状況を病院長に文書にて報告する。
- ④ 研究責任者は、研究を終了（中止の場合を含む。）したときは、病院長に必要な事項について文書にて報告する。

16. 利益相反について

本研究に関する研究全体及び研究者個人として申告すべき利益相反状態はない。

17. 研究に関する情報の公開の方法

本研究の研究概要及び研究結果は、埼玉医科大学総合医療センター小児科ホームページに掲載し、学会発表（PAS annual meeting 2021 (Vancouver)、日本周産期・新生児医学会（宮崎））や論文（Pediatr Res）として報告する予定である。

18. 研究対象者等及びその関係者からの相談等への対応

本研究は動物実験であり、研究対象者は存在しないため該当せず。

19. 費用負担及び謝礼について

本研究は疾患モデル動物を用いた前臨床試験であるため該当せず。

20. 健康被害や有害事象への対応

本研究は疾患モデル動物を用いた前臨床試験であるため該当せず。

21. 期待される成果、医学上の貢献の予測について

本研究において新生児慢性肺疾患に対するヒト臍帯由来間葉系細胞療法の有効性と安全性を示すことにより、科学的根拠に基づいた新しい治療薬、治療法の開発が期待される。さらに

は発症の予防、適切な薬剤の選択等により医療費用の軽減に対しても寄与するものと考えられる。本研究は新生児慢性肺疾患の病態解明、さらに予防法の開発、治療薬の選択基準の開発等を行っていくには必須であり、健康増進への貢献は多大なものになると予想される。

22. 知的財産権について

研究の結果として特許権などが生じる可能性があるが、その権利は埼玉医科大学総合医療センターに帰属し、共同研究施設及び被験者にはこの特許権は帰属しない。また、その特許権などをもととして経済的利益が生じる可能性があるが、共同研究施設及び被験者はこれについても権利がない。

23. 研究の実施に伴い、研究対象者の健康、子孫に受け継が得る遺伝的特徴等に関する重要な知見が得られる可能性がある場合には、研究対象者に係る研究結果（偶発的発見も含む。）の取り扱い

研究対象者の健康、子孫に受け継が得る遺伝的特徴等に関する重要な知見が得られる可能性はないため該当せず。

24. 研究に関する業務の一部を委託する場合には、業務内容及び委託先の監督方法

業務の委託は行わないため該当せず。

25. 研究対象者から取得された試料・情報について、研究対象者等から同意を受ける時点では特定されない将来の研究のために用いられる可能性又は他の研究機関に提供する可能性がある場合には、その旨と同意を受ける時点において想定される内容

本研究において、共同研究施設から譲渡された臍帯由来間葉系細胞は、将来の研究のために用いられる可能性又は他の研究機関に提供する可能性はない。

26. モニタリング及び監査の実施体制及び実施手順

本研究は動物実験であり、研究対象者は存在しないため該当せず。

27. 教育・研修受講（e-learningも可）状況と研究期間中の受講予定について

研究実施者は全員、臨床研究教育サイト「ICR臨床研究入門」の「臨床研究の基礎知識講座」を過去1年以内に履修している。