

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-520353
(P2021-520353A)

(43) 公表日 令和3年8月19日(2021.8.19)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 35/51 (2015.01)	A 6 1 K 35/51	4 C 0 8 7
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 42 頁)

(21) 出願番号 特願2020-554078 (P2020-554078)
 (86) (22) 出願日 平成31年4月4日 (2019.4.4)
 (85) 翻訳文提出日 令和2年12月1日 (2020.12.1)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2019/025796
 (87) 国際公開番号 W02019/195554
 (87) 国際公開日 令和1年10月10日 (2019.10.10)
 (31) 優先権主張番号 62/652,818
 (32) 優先日 平成30年4月4日 (2018.4.4)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

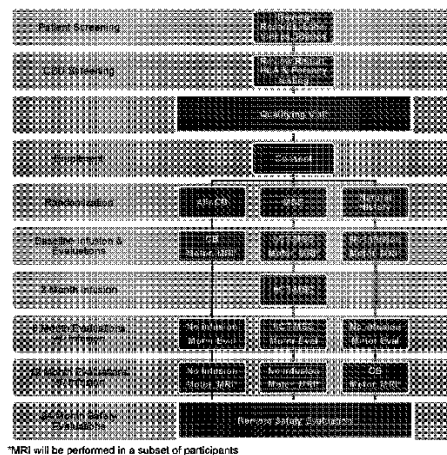
(71) 出願人 507189666
 デューク ユニバーシティ
 アメリカ合衆国 ノースカロライナ州 2
 7705, ダラム, アーウィン ロード
 2812 스위트 306
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹
 (72) 発明者 カーツバーグ, ジョアン
 アメリカ合衆国 ノースカロライナ 27
 705, ダラム, アーウィン ロ
 ド 2812, 스위트 306, デ
 ユーク ユニバーシティ

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒト臍帯組織由来の間葉系間質細胞を使用して脳性麻痺および低酸素性虚血性脳症を処置する方法

(57) 【要約】

本発明は、臍帯血組織由来の間葉系間質細胞を使用して、脳性麻痺および低酸素性虚血性脳症を処置する方法に関する。一態様では、本発明は、脳性麻痺患者を処置する方法であって、患者に、治療有効量のヒト同種異系の臍帯由来の間葉系間質細胞 (hCT-MSC) を投与することを含む方法を含む。本発明のこの態様のある特定の実施形態では、hCT-MSCは全身投与される。ある特定の実施形態では、それらは静脈内投与される。本発明のこの態様の一部の実施形態では、患者に、hCT-MSCが6カ月の期間中に3回投与される。



*MRI will be performed in a subset of participants

Figure 1.

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

脳性麻痺患者を処置する方法であって、前記患者に、治療有効量のヒト同種異系の臍帯由来の間葉系間質細胞 (hCT-MSC) を投与することを含む方法。

【請求項 2】

前記 hCT-MSC が全身投与される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 hCT-MSC が静脈内投与される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記患者に、hCT-MSC が 6 カ月の期間中に 3 回投与される、請求項 1 に記載の方法。 10

【請求項 5】

前記患者に、ベースライン時、3 カ月時および 6 カ月時に hCT-MSC が投与される、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記患者に、少なくとも約 $2 \times 10^6 / \text{kg}$ の用量で、hCT-MSC が投与される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

低酸素性虚血性脳症 (HIE) の患者を処置する方法であって、前記患者に、治療有効量のヒト同種異系の臍帯由来の間葉系間質細胞 (hCT-MSC) を投与することを含む方法。 20

【請求項 8】

前記 hCT-MSC が全身投与される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記 hCT-MSC が静脈内投与される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記患者に、hCT-MSC が 6 カ月の期間中に 3 回投与される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 11】

前記患者に、ベースライン時、3 カ月時および 6 カ月時に hCT-MSC が投与される、請求項 10 に記載の方法。 30

【請求項 12】

前記患者に、少なくとも約 $2 \times 10^6 / \text{kg}$ の用量で、hCT-MSC が投与される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 13】

前記 HIE 患者が、中等度から重度の低酸素性虚血性新生児脳症を患う、妊娠 36 週またはそれ以降の新生児である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 14】

前記患者が、出産後の最初の 48 時間のうちに、hCT-MSC を単回用量で投与される、請求項 13 に記載の方法。 40

【請求項 15】

前記患者に、第 1 の用量から概ね 2 カ月後に、hCT-MSC の第 2 の用量が投与される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記 hCT-MSC が全身投与される、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 17】

前記 hCT-MSC が静脈内投与される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記患者に、少なくとも約 $2 \times 10^6 / \text{kg}$ の用量で、hCT-MSC が投与される、請求項 13 に記載の方法。 50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

連邦政府によって支援された研究または開発に関する表明

本発明は、National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS)、National Institutes of Healthを通じた、Clinical and Translational Science Award (CTSA)プログラム、交付番号UL1TR002553の下で、政府の補助によってなされた。米国政府は、本発明にある特定の権利を有する。

10

【0002】

優先権

本出願は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、2018年4月4日に出願の米国特許仮出願第62/652,818号の権益を主張する。

【0003】

本開示は、脳性麻痺および低酸素性虚血性脳症(HIE)を処置する方法に関する。より詳細には、本開示は、脳性麻痺およびHIEを処置するために臍帯血組織由来の間葉系間質細胞を使用する方法に関する。

【背景技術】

【0004】

脳性麻痺の児童は生涯の能力障害に直面し、患者、彼らの親および社会全体への甚大な身体的、感情的および財政的な負担をもたらす。発育中の脳への子宮内または周産期の損傷によって典型的に引き起こされる脳性麻痺は、児童期の最も一般的な、および最も高コストの、慢性運動障害である。脳性麻痺処置の基礎は、完全に支持的である、無数の時間の理学療法および作業療法に依存する。能力障害を引き起こした脳傷害を修復するために利用可能な、いかなる処置も存在しない。したがって、傷害を受けた脳組織の修復を促進することができる新規療法は、社会的負担を低減し、脳性麻痺患者の生存、機能および生活の質を大いに向上させる可能性を有する。

20

【0005】

分娩時に、胎児の脳への酸素および血流の送達の障害は、出産後の最初の数時間に低酸素性虚血性脳症(HIE)と記載される、臨床的に明らかな顕著な脳損傷につながる可能性がある。中等度から重度の新生児低酸素性虚血性脳症(HIE)は、死亡または顕著な神経発達障害につながる可能性がある(Kurinczuk et al., Early Hum Dev. 2010, 86(6):329-38; Lee et al., Pediatr Res. 2013, 74(Suppl 1): 50-72)。全身冷却の臨床試験は安全性および有効性を実証し、治療的低体温(TH)はHIEの新生児のための標準になった(NICH D試験: Shankaran et al., NEJM 2005, 353(15): 1574-1584; TOBY試験: Azzopardi et al., NEJM 2009, 361(14):1349-1358; nEURO試験: Simbruner et al. Pediatrics 2010, 126(4):e771-778; ICE試験: Jacobs et al., Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine 2011, 165(8):692-700; NICH Dワークショップ要約記載: Higgins et al., J Pediatr. 2011, 159(5):851-858)。低体温にもかかわらず、中等度から重度の脳症のために低体温で処置される小児の4分の1から半分は、死ぬかまたは神経障害と共に生き延びる(Higgins et al., J Pediatr. 2011, 159(5):851-858; Shankaran et al., JAMA 2014, 312(24):2629-2639)。低体温が出産後の最初の6時間のうちに開始され、72時間継続される場合、全身低体温研究の複合的な結果は、死亡または障害のリスクの低減を示すが、その効果は不完全な神経保護である。これらの研究では、小児の44~51%が死亡したか能力障害と共に生き延び、HIEを有する乳児の24~38%は冷却され、死亡し、生存者の13~28%は、脳性麻痺と後に診断された(Shankaran et al., NEJM 2005, 353(15):1574-1584; Azzopardi et al., NEJM 2009, 361(14):1349-1358; Simbruner et al. Pediatrics 2010, 126(4):e771-778; Jacobs et al., Arch

30

40

50

ives of Pediatrics & Adolescent Medicine 2011, 165(8):692-700)。冷却は役に立つが、これらの治験の結果は、補助療法の開発のための強力な動機を提供する。

【0006】

間葉系間質細胞(MSC)は、骨髄、脂肪組織および出産組織(臍帯組織、胎盤)を含むいくつかの異なる組織から単離することができる、未分化の多能性細胞の不均一な群である。MSCは骨、軟骨および脂肪を含む中胚葉性組織型を生成することができるが、それらの主要な作用機構は免疫調節および他のパラクリン作用からもたらされると考えられる。MSCは、体液性および細胞媒介性の免疫応答に対する多数の免疫調節性作用を実証している。これらには、限定されないが、B-、T-、NK、樹状細胞およびミクログリアの増殖の阻害、炎症誘発性サイトカイン生成の減少、ならびに好中球補充のブロックが含まれる。さらに、中枢神経系の疾患のためのMSC移植を使用した多数の前臨床研究は、損傷領域の回復を促進し、さらなる傷害を予防するために、MSCが異なる神経栄養性、抗炎症性および抗アポトーシス因子の放出を通して作用することができることを示唆している(Dori et al., *Histol Histopathol.* 2017, 32(10):1041-1055; Mueller et al., *Stem Cells Dev.* 2017, 26(4):239-248; Pishiutta et al., *Crit Care Med.* 2016, 44(11):e1118-e1131; Xie et al., *Med Sci Monit.* 2016, 22:3552-3561; Cameron et al., *Mol Cell Neurosci.* 2015, 68:56-72)。免疫応答をモジュレートするそれらの能力にもかかわらず、MSC自身は低い免疫原性を有する。MSCはそれらの表面に低レベルのMHCクラスI分子を発現し、MHCクラスIIおよびいくつかの共刺激分子の発現を欠いている。このことは、ドナー-レシピエントのHLA一致の必要性無しで、HLA障壁を越えてMSCを同種異系の状況で使用することを可能にする。実際、大部分成人の1,012人の患者を含む、静脈内同種異系MSC投与の13件のヒト研究の精査では、注入毒性の報告はなく(Lalu et al., *PLoS One.* 2012, 7(10):e47559)、MSCが「免疫特権的」であり、免疫学的非自己認識を回避することができるという考えを支持している。治療用細胞として利用されるとき、MSCは栄養性シグナル伝達を通して効果を発揮する。注入の後、MSCは最高4カ月間レシピエントにおいて生き延びると推定される。MSCは、レシピエントに生着しない。

10

20

【0007】

本発明者らは、臍帯血(CB)および間葉系間質細胞(MSC)が、動物モデルにおいて低酸素脳損傷および脳卒中の臨床上およびX線撮影での影響を少なくすることを以前に示した。CBも脳において生着されて分化し、同種異系の非血縁ドナーCB移植を受ける先天性代謝異常を有する動物モデルおよびヒト患者において神経細胞修復を促進する。本発明者らは、主にパラクリン機構を通して作用する、CB細胞またはヒト臍帯組織由来のMSC(hCT-MSC)が、脳損傷を有する患者における新興の細胞療法のための媒体の役割をする可能性があると考えられる。

30

【0008】

前の研究では、本発明者らは、脳性麻痺の児童において、自家CBの安全性研究およびフェーズII無作為化二重盲検プラセボ対照治験を実行した。その研究では、細胞 2×10^7 個/kgを注入された児童は、より低い用量またはプラセボを受けた児童より大きな程度の運動改善を示した。その研究は、脳性麻痺の多くの児童はバンクされた自家臍帯血単位を有していないので小さい試料サイズによって、および予測された運動変化スコアの分析が可能でなかった1~2歳の児童の組入れによって制限された。本発明者らは、15人の脳性麻痺患者における兄弟CB注入のフェーズI安全性研究も実行し、それは、同種異系の部分的にHLAが一致したCB注入がこの患者集団において安全なことを示している。

40

HIEの新生児動物モデルでは、ヒトの体積-および赤血球が低減された有核臍帯血細胞(ヒト臍帯血(CB)細胞)の注入は、解剖学的および機能的改善をもたらす。新生児低酸素性虚血性損傷の動物モデルは、この機構がパラクリンのようであり、脳における神経栄養性および抗炎症性因子の増加を伴うことを示す(Rosenkranz K and Meier C., *Annals of Anat* 2011, 193:371-379; Tsuji et al., *Neuroscience* 2014, 26

50

3:148-158 ; Drobyshvsky et al., Dev Neurosci. 2015, 37(4-5):349-62)。前の研究では、本発明者らは、CTSI後援の自家細胞のフェーズI試験に登録された小児の転帰を報告した。その研究、およびフェーズII研究では、臍帯血が収集され、赤血球および体積が低減される。フェーズIIでは、細胞またはプラセボの2回用量が出産後の最初の48時間のうちに注入される。フェーズIでは、51人の小児が細胞を受けた。2人の小児が死亡した(退院後)。既知の転帰を有する39人の小児のうちの25人(64%)は、>85の1年発達スコアで生き延び、これは、冷却された小児の概ね50%が中等度の障害も重度の障害も無しに生き延びた低体温試験と比較して遜色がない(Higgins et al., J Pediatr. 2011, 159(5):851-858)。しかし、臨床試験の一般化の可能性、およびHIEの新生児のための自家臍帯血細胞の将来の使用の可能性への難題が明らかになった:難産での臍帯血細胞の収集。臍帯血を収集することは、ほとんどの施設ではルーチンでない。「在庫」の同種異系の細胞ベースの製品を有することは、臍帯血を収集されなかった中等度から重度のHIEの新生児のために、直ちに利用できる細胞性介入を可能にするだろう。

10

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0009】

【非特許文献1】Rosenkranz KおよびMeier C., Annals of Anat (2011) 193:371~379

【非特許文献2】Tsujiら、Neuroscience (2014) 263:148~158

20

【非特許文献3】Drobyshvskyら、Dev Neurosci. (2015) 37(4~5):349~62

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明は、同種異系のヒト臍帯組織由来の間葉系間質細胞(hCT-MSC)の投与を通して、脳性麻痺またはHIEの患者を処置する方法を提供する。本発明は、自家CB単位を有することの制限を排除する恩恵を提供する。

【0011】

一態様では、本発明は、脳性麻痺患者を処置する方法であって、患者に、治療有効量のヒト同種異系の臍帯由来の間葉系間質細胞(hCT-MSC)を投与することを含む方法を含む。本発明のこの態様のある特定の実施形態では、hCT-MSCは全身投与される。ある特定の実施形態では、それらは静脈内投与される。本発明のこの態様の一部の実施形態では、患者に、hCT-MSCが6カ月の期間中に3回投与される。ある特定の実施形態では、投与は、ベースライン時、3カ月時および6カ月時である。本発明のこの態様の他の実施形態では、患者に、少なくとも細胞約 2×10^6 個/kgの用量で、hCT-MSCが投与される。

30

【0012】

さらなる態様では、本発明は、HIE患者を処置する方法であって、患者に、治療有効量のヒト同種異系の臍帯由来の間葉系間質細胞(hCT-MSC)を投与することを含む方法を含む。本発明のこの態様のある特定の実施形態では、hCT-MSCは全身投与される。ある特定の実施形態では、それらは静脈内投与される。本発明のこの態様の一部の実施形態では、患者に、hCT-MSCが6カ月の期間中に3回投与される。ある特定の実施形態では、投与は、ベースライン時、3カ月時および6カ月時である。本発明のこの態様の他の実施形態では、患者に、少なくとも細胞約 2×10^6 個/kgの用量で、hCT-MSCが投与される。

40

【0013】

さらにさらなる態様では、本発明は、HIE患者を処置する方法であって、患者に、治療有効量のヒト同種異系の臍帯由来の間葉系間質細胞(hCT-MSC)を投与することを含む方法を含む。本発明のこの態様のある特定の実施形態では、HIE患者は、中等度から重度の低酸素性虚血性新生児脳症を患う、妊娠36週またはそれ以降の新生児である

50

。本発明のこの態様のある特定の実施形態では、hCT-MSCは全身投与される。ある特定の実施形態では、それらは静脈内投与される。本発明のこの態様の一部の実施形態では、患者は、出産後の最初の48時間のうちに、hCT-MSCを単回用量で投与される。本発明のこの態様の一部の実施形態では、患者は、hCT-MSCの2回用量を投与される。患者が2回用量を投与されるある特定の実施形態では、第1の用量は出産後の最初の48時間のうちに与えられ、第2の用量は第1の用量の概ね2カ月後に与えられる。本発明のこの態様の他の実施形態では、患者に、少なくとも細胞約 2×10^6 個/kgの用量で、hCT-MSCが投与される。本発明のこの態様のある特定の実施形態では、hCT-MSCは、治療的な低体温法と一緒に投与される。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】図1は、同種異系のCBと比較して、hCT-MSCで処置した被験体におけるGMFM-66スコアの変化の効果サイズを決定する、フェーズI/II試験を要約するフローチャートである。

【0015】

【図2】図2は、中等度または重度の低酸素性虚血性新生児脳症を有する新生児における、hCT-MSC、臍帯由来の間葉系間質細胞製品のフェーズI研究を要約するフローチャートである。

【発明を実施するための形態】

【0016】

開示されるプロセスおよび材料を記載する前に、本明細書に記載される態様は、具体的な実施形態、装置または構成に限定されず、したがって、当然ながら異なることができることを理解すべきである。本明細書で使用される用語は特定の態様を記載することだけが目的であり、本明細書で別途定義されない限り、限定するものではないことも理解すべきである。

【0017】

文脈によって別途明記されない限り、本発明の1つの態様または実施形態のために開示される実施形態は、本発明の他の態様もしくは実施形態において、および/または本発明の同じもしくは他の態様において開示される実施形態と組み合わせて、使用することも理解すべきである。したがって、そのような組合せが明示的に正確に示されていない場合でさえ、そのような組合せを本開示は含むことを意図しており、本発明はそれを含む。

定義

【0018】

本開示の原理の理解を促進するために、以下、特定の実施形態を参照し、それを記載するために具体的な言語が使用される。それにもかかわらず、本開示の範囲の限定がそれによって意図されるものでないことが理解され、本明細書に例示されるような本開示の変更およびさらなる改変は、本開示が関連する分野の当業者に通常浮かぶだろうと考えられる。

【0019】

文脈が別途要求しない限り、本明細書全体で、単語「含む (comprise)」および「含む (include)」および変異形 (例えば、「含む (comprises)」、「含んでいる (comprising)」、「含む (includes)」、「含んでいる (including)」) は、明示される構成成分、特徴、要素もしくは工程、または構成成分、特徴、要素もしくは工程の群が含まれることを暗示するが、いかなる他の完全体もしくは工程も、または完全体もしくは工程の群も除外されないことを暗示するものと理解される。

【0020】

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、文脈が明らかに別途指示しない限り、単数形「1つの (a)」、「1つの (an)」および「その (the)」は複数形を含む。

10

20

30

40

50

【0021】

「約」は、所与の値が所望の結果に影響を及ぼさずにエンドポイントの「わずかに上」または「わずかに下」であってもよいと定めることによって、数値範囲エンドポイントに柔軟性を提供するために使用される。

【0022】

本明細書で特記されない限り、本明細書での値の範囲の列挙は、単にその範囲に入る各別個の値に個々に言及する簡略な方法の役割を意図するものであり、各別個の値は、それが本明細書に個々に挙げられているかのように本明細書に組み込まれる。列挙は、列挙されるより広い範囲に入る各サブレンジを個々に指すことを意図するものでもあり、各別個のサブレンジは、それが本明細書に個々に列挙されているかのように、本明細書に組み込まれる。例えば、範囲が1%～50%であると明記される場合、2%～40%、10%～30%または1%～3%等の値、ならびに2%、10%、30%、40%および50%等の値が本明細書において明示的に列挙されることが意図される。これらは具体的に意図されるものの例に過ぎず、列挙される最低値と最高値を含めたその間の全ての可能な数および数値の組合せは、本開示で明示的に述べられているとみなすべきである。

10

【0023】

本明細書で使用される場合、「処置」、「療法」および/または「療法レジメン」は、患者が発現するかまたは患者が感受性であるだろう疾患、障害または生理的状态に応答して加えられる臨床介入を指す。処置の目的には、症状の軽減もしくは予防、疾患、障害もしくは状態の進行もしくは悪化を減速もしくは停止させること、および/または疾患、障害もしくは状態の寛解が含まれる。一部の実施形態では、疾患は、脳性麻痺を含む。他の実施形態では、疾患は、低酸素性虚血性脳症を含む。

20

【0024】

用語「有効量」または「治療有効量」は、有益であるか望ましい生物学的および/または臨床上の結果をもたらすのに十分な量を指す。

【0025】

本明細書で使用される場合、用語「被験体」および「患者」は本明細書で互換的に使用され、ヒトおよび非ヒト動物の両方を指す。本開示の用語「非ヒト動物」には、全ての脊椎動物、例えば哺乳動物および非哺乳動物、例えば非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などが含まれる。好ましくは、被験体は、脳性麻痺または低酸素性虚血性脳損傷を有するかまたは患っているヒト患者である。

30

【0026】

本明細書で使用される場合、用語「疾患」は、異常である任意の状態、例えば、被験体の一部または全体に影響を及ぼす障害または構造もしくは機能を指す。一部の実施形態では、疾患は、神経障害を含む。ある特定の実施形態では、神経障害は、脳性麻痺を含む；他の実施形態では、神経障害は、低酸素性虚血性脳損傷を含む。

【0027】

本明細書で使用される場合、用語「脳性麻痺」(CP)は、乳児期または幼児期に出現し、身体運動および筋肉協調に恒久的に影響を及ぼすが、経時的に悪化するものでない、いくつかの神経障害のいずれか1つを指す。脳性麻痺は筋肉運動に影響を及ぼすが、それは筋肉または神経の問題によって引き起こされず、むしろ、筋肉運動を制御する脳の部分の異常によって引き起こされる。脳性麻痺の大半の児童はそれと共に誕生するか、または分娩過程に関連した、もしくは新生児期における脳損傷(例えば新生児低酸素性虚血性脳症)の結果としてそれを発症するが、それは数カ月または数年後まで検出されない場合がある。脳性麻痺の早期の徴候は、通常、児童が3歳に到達する前に出現する。最も一般的なものは、随意運動を行うときの筋肉協調の欠如(運動失調症)；硬直したまたは堅い筋肉および誇張された反射(痙縮)；片方の足または脚を引きずる歩行；つま先立ちの歩行、かがんだ歩き方または「がに股」の歩き方；ならびに過度に硬直しているかまたは過度に締まりのない(floppy)筋緊張である。

40

【0028】

50

本明細書で使用される場合、用語「低酸素性虚血性脳症」(HIE)は、分娩時の間の胎児脳への酸素および血流の送達の障害からもたらされる脳損傷を指す。中等度から重度の新生児HIEは、死亡または顕著な神経発達障害につながることもある

【0029】

特に定義されない限り、本明細書で使用される全ての専門用語は、本開示が属する分野の当業者が通常理解するのと同じ意味を有する。

【0030】

脳性麻痺または低酸素性虚血性脳症の処置

本開示に照らして、本明細書に記載される方法は、所望の必要性を満たすように当業者が構成することができる。一般に、開示される材料、方法および装置は、脳性麻痺またはHIEを有する被験体を処置する方法であって、脳性麻痺またはHIEが処置されるように、被験体に、治療有効量のhCT-MSCおよび/またはその構成成分もしくは構成成分の混合物を投与することを含む、それからなる、またはそれから本質的になる方法を提供する。

10

【0031】

本明細書で使用される場合、特に明記しない限り、用語「hCT-MSC」は、具体的にそのように明記されていようがいまいが、任意のフォーマットおよび/またはその構成成分もしくは構成成分の混合物を包含するものであることを理解すべきである。

【0032】

患者は、任意のヒトまたは非ヒト動物であってもよい。一実施形態では、患者はヒトである。別の実施形態では、患者は、18歳未満の、またはこのより広い年齢範囲に入る任意の年齢範囲の中のヒト児童である。非限定的な例では、患者は、新生児、1~12カ月齢、1カ月~2歳、1歳~18歳、1歳~17歳、1歳~16歳、1歳~15歳、1歳~14歳、1歳~13歳、1歳~12歳、1歳~11歳、1歳~10歳、1歳~9歳、1歳~8歳、1歳~7歳、1歳~6歳、1歳~5歳、1歳~4歳、1歳~3歳、1歳~2歳、2歳~18歳、2歳~17歳、2歳~16歳、2歳~15歳、2歳~14歳、2歳~13歳、2歳~12歳、2歳~11歳、2歳~10歳、2歳~9歳、2歳~8歳、2歳~7歳、2歳~6歳、2歳~5歳、2歳~4歳、2歳~3歳、3歳~18歳、3歳~17歳、3歳~16歳、3歳~15歳、3歳~14歳、3歳~13歳、3歳~12歳、3歳~11歳、3歳~10歳、3歳~9歳、3歳~8歳、3歳~7歳、3歳~6歳、3歳~5歳、3歳~4歳、4歳~18歳、4歳~17歳、4歳~16歳、4歳~15歳、4歳~14歳、4歳~13歳、4歳~12歳、4歳~11歳、4歳~10歳、4歳~9歳、4歳~8歳、4歳~7歳、4歳~6歳、4歳~5歳、5歳~18歳、5歳~17歳、5歳~16歳、5歳~15歳、5歳~14歳、5歳~13歳、5歳~12歳、5歳~11歳、5歳~10歳、5歳~9歳、5歳~8歳、5歳~7歳、5歳~6歳、6歳~18歳、6歳~17歳、6歳~16歳、6歳~15歳、6歳~14歳、6歳~13歳、6歳~12歳、6歳~11歳、6歳~10歳、6歳~9歳、6歳~8歳、6歳~7歳、7歳~18歳、7歳~17歳、7歳~16歳、7歳~15歳、7歳~14歳、7歳~13歳、7歳~12歳、7歳~11歳、7歳~10歳、7歳~9歳、または7歳~8歳の小児であってもよい。

20

30

【0033】

一部の実施形態では、患者は、約45歳までの、または約1歳から約45歳までのより広い年齢範囲に入る任意の年齢範囲の中のヒトである。例えば、約18~約45歳、約20~約45歳、約25~約45歳、約30~約45歳、約35~約45歳、または約40~約45歳。ある特定の実施形態では、患者は、1~45歳の間の任意の年齢のヒトである。例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44または45歳。

40

【0034】

一部の実施形態では、患者は、約90歳までの、または約1歳から約90歳までのより

50

広い年齢範囲に入る任意の年齢範囲のヒトである。例えば、約18～約90歳、約20～約90歳、約45～約90歳または約60～約90歳。ある特定の実施形態では、患者は、本明細書に具体的に列挙されていないとしても、45～90の間の値、例えば、45、50、55、60、65、70、75、80、85または90を有する、任意の年齢のヒトである。

【0035】

ある特定の実施形態では、患者は、妊娠36週もしくはそれ以降、妊娠37週もしくはそれ以降、妊娠38週もしくはそれ以降、妊娠39週もしくはそれ以降、または妊娠40週もしくはそれ以降の新生児である。

【0036】

hCT-MSCは、局所または全身送達を含む、当技術分野で公知の任意の技術によって被験体に投与することができる。投与経路には、限定されないが、皮下、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、髄腔内、脳内、脳室内 (intraventricular)、または硬膜外の注射または埋め込み；局所投与；気管内；および鼻腔内投与が含まれる。hCT-MSCは、注入技術によって投与することができる。典型的に、注入は、hCT-MSCが静脈内または皮下に投与されることを意味する。一部の実施形態では、hCT-MSCは、全身投与される。さらなる実施形態では、hCT-MSCは、静脈内注射によって投与される。

hCT-MSCの調製

【0037】

ヒト同種異系の臍帯由来の間葉系間質細胞は、当技術分野で公知の任意の方法によって調製し、保存し、投与のために調製することができる。一部の場合には、hCT-MSCは、臍帯組織を小片に切断し、細かく切り刻み、ヒアルロニダーゼ、DNアーゼ、コラゲナーゼおよびパインで消化することによって、クリーンルームにおいて調製することができる。結果として生じた細胞懸濁物は、次に培養物中に平板培養し、集密まで成長させてP0培養物を確立し、凍結保存することができる。P1およびP2培養物は、類似した条件の下で増殖させ、培養容器 (cultureware) から取り出すことができる。最終生成物はP2培養から誘導することができ、それらは5%ヒト血清アルブミンを有するプラズマライトに採取され、洗浄され、デキストランを有する10%DMSOの最終濃度で細胞50,000,000～100,000,000個を含有するコンパートメントクライオバッグの中で凍結保存される。投与の日、1つのコンパートメントを解凍し、10～40mLのプラズマライトIV溶液に希釈し、シリンジまたはバッグに入れ、投与のためにベッドサイドに運搬することができる。

【0038】

hCT-MSCの投与

臍帯血の投与経路は、処置される疾患および所望の結果に基づいて当業者が選択することができる。したがって、ある特定の実施形態では、hCT-MSCは、末梢静脈内 (IV) 注入を通して投与される。

【0039】

一部の実施形態では、hCT-MSCは、単回用量として投与することができる。ある特定の実施形態では、hCT-MSCは、ある時間 (例えば、数日または数カ月) にわたって、複数回用量 (例えば、1処置につき2、3もしくは4またはそれより多くの単回用量) で投与することができる。一部の場合には、患者に、hCT-MSCを3回、一部の場合には、6カ月の期間中に3回投与することができる。ある特定の場合には、投与は、ベースライン時、3カ月時および6カ月時であってもよい。ある特定の場合には、投与は、ベースライン時、2カ月時および4カ月時であってもよい。当業者は、本明細書で提供される投薬プロトコルの変動を導き出すことができ、そのような変動は本発明に含まれることを理解する。

【0040】

一部の場合には、HIEの新生児患者の場合、患者にhCT-MSCを1回投与することができるか、または患者にhCT-MSCを2回投与することができる。一部の場合に

10

20

30

40

50

は、新生児にhCT-MSCを3回またはそれより多く投与することができる。ある特定の場合には、第1の用量は、出産後の最初の48時間のうちに投与される。第2の用量が投与されるある特定の場合には、第1の用量は出産後の最初の48時間に与えられ、第2の用量は第1の用量の概ね2カ月後に与えられる。当業者は、本明細書で提供される投薬プロトコールの変動を導き出すことができ、そのような変動は本発明に包含されることを理解する。

【0041】

hCT-MSCの投与の前に、患者は、例えば抗ヒスタミン剤および/またはステロイドで適宜前投薬されてもよい。

【0042】

静脈内投与される場合、hCT-MSCは、20分～約75分の範囲の時間にわたって、例えば、約20分～約60分にわたって、または約20分～約50分にわたって、または約20分～約40分にわたって、または約20分～約30分にわたって、または約25分～約70分にわたって、または約25分～約60分にわたって、または約25分～約50分にわたって、または約25分～約40分にわたって、または約30分～約70分にわたって、または約30分～約60分にわたって、または約30分～約50分にわたって、または約30分～約40分にわたって、投与することができる。一部の実施形態では、用量は、30分にわたって投与される。

【0043】

当業者は、本発明のための好適な投薬レジメンを導き出すことができる。一部の実施形態では、hCT-MSCの治療的有効用量は、患者体重1kgにつき約 1×10^6 ～約 6×10^6 細胞、例えば、細胞約 1×10^6 ～約 3×10^6 個/kg、約 1×10^6 ～約 2.5×10^6 個/kg、約 1.5×10^6 ～約 3×10^6 個/kg、または約 1.5×10^6 ～約 2.5×10^6 個/kgの用量を含む。一部の 경우에는、hCT-MSCは、患者体重1kgにつき少なくとも 2×10^6 細胞の用量で投与することができる。

【0044】

当業者は、用量の好適な体積は、所望の投与経路に基づいて選択することができることを認める。例えば、静脈内投与は、約5mL～約50mLの範囲内；例えば、約5mL～約40mL、または約5mL～約30mL、または約5mL～約20mL、または約5mL～約15mL、または約10mL～約40mL、または約10mL～約30mL、または約10mL～約20mL、または約10mL～約15mL、または約20mL～約50mL、または約20mL～約40mL、または約20mL～約30mL、または約30mL～約50mL、または約30mL～約40mL、または約40mL～約50mLの用量体積を使用することができる。

【0045】

ある特定の実施形態では、hCT-MSCは、体重1kgにつき細胞 2×10^6 個の3用量の注入によって投与され、各注入は3カ月おきに、例えばベースライン時に第1の用量、3カ月時に第2の用量および6カ月時に第3の用量が与えられる。他の実施形態では、hCT-MSCは、体重1kgにつき細胞 2×10^6 個の2用量、1つは出生時（すなわち、出産後の最初の48時間以内）および2カ月時に第2の用量の注入によって投与される。

【0046】

末梢IV投与が使用される場合、IV液は、約1.0～約2.0回の維持のときに投与することができる。例えば、IV液は、注入後の約1.0～約1.5回の維持または約1.5～約2.0回の維持のときに投与することができる。維持IV液は、hCT-MSCの注入後の約30分～約60分にわたり投与することができる。例えば、維持IV液は、注入後の例えば約30分～約60分、または約30分～約45分、または約45分～約60分にわたり投与することができる。

【0047】

hCT-MSCの注入後維持のために、任意の好適な静脈内液を使用することができる

10

20

30

40

50

。ある特定の実施形態では、維持 I V 液は、食塩溶液またはリンゲルの乳酸溶液である。ある特定の実施形態では、維持 I V 液は、0.25%生理食塩水である。ある特定の実施形態では、維持 I V 液は、0.5%生理食塩水である。

【0048】

ある特定の実施形態では、hCT-MSCの投与がHIE患者における場合、hCT-MSCは、治療的低体温法と併用して投与することができる。「と併用して」は、治療的低体温法の前、それと同時/その間または後を意味する。ある特定の実施形態では、hCT-MSCは、治療的低体温法と同時/その間に投与される。

【0049】

本開示のある特定の態様は、以下の非限定的な例を通して以下にさらに説明される。

10

【実施例】

【0050】

(実施例1)

同種異系のCBと比較して、hCT-MSCで処置した被験体におけるGMFM-66スコアの変化の効果サイズを決定するフェーズI/II治験

概要

この研究は、脳性麻痺の児童において、hCT-MSCまたは同種異系のCBで処置した被験体におけるGMFM-66スコアの変化の効果サイズを決定し、hCT-MSCの反復用量の安全性を調査するように設計された、フェーズI/IIの前向き無作為化非盲検治験である。低酸素虚血性脳症、脳卒中または脳室周囲白質軟化症による脳性麻痺を有する2~5歳の児童が、参加に適格であり得る。全ての参加者は、研究の間のある時点で、同種異系の細胞製品で最終的に処置される。参加者は、3群のうちの一つに無作為化される：(1)「AlloCB」群は、ベースライン診察で1回の同種異系のCB注入を受ける；(2)「MSC」群は、3回のhCT-MSC注入を、各々ベースライン時、3カ月時および6カ月時に1回ずつ受ける；(3)「自然経過」群は、ベースライン時に注入を受けないが、12カ月時に同種異系のCB注入を受ける。運動転帰尺度を、ベースライン時、6カ月および1年時点で調査する。安全性は、各注入時の診察のときに、および最終診察後の追加の12カ月の間に遠隔で評価する。研究参加期間は、ベースライン診察時から24カ月である。処置群への無作為化は、研究エントリー時に年齢およびGMFCSレベルによって層化される。

20

30

【0051】

一次エンドポイントは、最初の研究注入の12カ月後のGMFM-66スコアにおける、参加者の観察された変化と予想された変化との間の差である。hCT-MSC、AlloCBおよび自然経過群のために、区間推定値が別々に報告される。12カ月時の予想されるGMFM-66スコアは、公開された参照パーセントイルを使用して、研究エントリー時の参加者のベースラインの年齢、GMFCSレベルおよびGMFM-66スコアに基づいて計算される(Hanna et al., Phys Ther. 2008, 88(5):596-607)。

【0052】

目的

この研究の主要な目的は、脳性麻痺の児童において、同種異系の臍帯血(AlloCB)の単回用量または臍帯組織由来の間葉系間質細胞(hCT-MSC)の反復用量による処置の12カ月後に、運動機能の変化を推定することである。さらに、この研究は、臨床治験の実施に関連する短期間(1年未満)のCPにおける運動機能の自然経過に関する大いに必要とされるデータを臨床治験コミュニティに供与し、脳性麻痺の児童におけるAlloCBおよびhCT-MSC注入の安全性を調査する。

40

【0053】

この治験のための非血縁CB単位の供給源

Carolinas Cord Blood Bank(CCBB)は、国の最大の公立臍帯血バンクの一つである。NIHのNational Heart and Blood Instituteからの支援によって1998年に設立されたCCBBは、在庫

50

目録に30,000を超えるCB単位を有し、今日まで移植のために2,500を超えるCB単位を分配した。2012年に、CCBBは、非血縁ドナーとレシピエントとの間の移植で使用するための、臍帯血由来の幹細胞製品であるDUCORDを市販するための、そのBLA申請のための承認をFDAから受け取った。DUCORDは、遺伝した、後天性の、または骨髄破壊処置からもたらされる、造血系に影響を及ぼす障害を有する患者のために、造血幹細胞再構成で使用するために承認されている。現在、CCBBは、10の病院サイト(North Carolinaに8つ、Atlanta、GAに1つおよびBoston、MAに1つ)から収集している。それは、キット供与プログラムを通してNorth CarolinaおよびAtlantaの任意の病院で出産する母体からもCB供与を受け入れる。

10

【0054】

資格証明CB単位のための仕様

造血幹細胞移植のための同種異系CBを利用する確立された判定基準および神経学的状態のために自家CBによって600人を超える児童を処置した本発明者らの経験に基づいて、本発明者らは、細胞療法研究のためのバンクされたCB単位の資格取得のために、以下の判定基準を確立した。この現在の研究のために利用される全てのCB単位は、Carolinas Cord Blood Bankから得られる。CB単位は、以下を有しなければならない：

1. 文書化されたおよび少なくとも $12 \times 10^7 / \text{kg}$ の凍結保存前全有核細胞数(TNCC)
2. 全細胞の85%およびCD34+細胞の70%の凍結保存前生存度
3. 凍結保存前無菌培養が実行されて、陰性
4. 以下の通りの母体の感染性疾患スクリーニング：試験は、B型肝炎、C型肝炎、HIV、HTLVおよび梅毒の陰性結果を含まなければならない。地元および国の規制に基づいて、CB収集のタイミングに依存する追加のスクリーニングを実行することができる。陽性のCMV抗体スクリーニングを有する母体からの単位を使用することができる。
5. 同一性確認および効力試験のための試験試料が利用可能である
6. HLAタイピングが実行され、研究特異的パラメータを満たす
7. 解凍された試験試料でCD45+生存度40%およびCD34+生存度70%

20

【0055】

この研究のためのMSCの供給源：hCT-MSC

hCT-MSCは、培養で2継代拡大され、凍結保存され、液体窒素の気相に保管され、バンクされた、同種異系ドナー消化臍帯組織から製造された、第三者MSC製品である。臍帯組織は、書面によるインフォームドコンセントを有する、正常妊娠の後に健康な満期乳児を出産した健康な母体によって供与される。細胞は、Robertson CT2 GMP研究室(Duke University、Durham、NC)において製造され、凍結保存され、保管される。

30

【0056】

臍帯組織はドナーへの影響なしに直ちに利用でき、容易に得られるのでMSCの魅力的な供給源であり、議論の余地がなく、他の出産後の供給源からのMSCより高い増殖能力を有する(Drela et al., *Cytherapy*. 2016, 18(4):497-509)。多数の前臨床研究は、臍帯組織由来のMSCの腫瘍形成性および毒性のいかなる証拠も実証していない(Park et al. *Toxicol Res*. 2016, 32(3):251-258)。臍帯組織由来のMSCを利用した、英語で公開された初期フェーズの臨床試験では、695人の患者および臍帯組織由来のMSCの少なくとも1,416回用量を含み、3カ月から最高6年の追跡調査を有するこれらの36件の研究において、いかなる重度の有害事象も報告されなかった。様々な疾患状態における臍帯組織由来のMSCのもういくつかの臨床試験が行われている(clinicaltrials.gov)。

40

【0057】

研究の理論的根拠および仮説

50

以前の研究は、十分に投与された自家CB注入が、脳性麻痺の児童において運動機能を改善することができることを示唆している。脳性麻痺のあらゆる児童が彼らの自家CBにアクセスするのは実現不能であるので、この研究は、必要とする全ての患者に利用可能である細胞の2つの同種異系の供給源の有効性を調査する。この研究の主要な目標は、2つの同種異系の細胞供給源である同種異系のCBおよびhCT-MSCによる処置の12カ月後の運動機能における変化を調査することである。

【0058】

この研究は、将来の治験の計画の助けとなるように、これらの2つの細胞供給源および自然経過コホートの運動機能における変化の効果サイズに関して、重要なデータをもたらす。研究の、および脳性麻痺における細胞療法の潜在的恩恵の理論的根拠は、以下の仮説に基づく：

- ・本発明者らは、脳性麻痺の児童において自家CB注入の安全性および用量依存的有効性を実証した。

- ・異なる細胞型、例えば臍帯血単核細胞対臍帯組織MSCが、異なる機構によって脳連結性 (brain connectivity) に影響することができるかもしれない。

- ・細胞の複数回用量は、細胞の単回用量より優れているかもしれない。

- ・発育中の脳は著しい柔軟性を示し、若い児童を、CBを含む回復療法から最大の治療的恩恵を導き出すための理想的な候補にする。

- ・パラクリン機構を通して作用するCB細胞は、内因性修復機構を促進し、運動皮質の新しい神経連結の形成を促進することができ、顕著な臨床的改善をもたらす。

- ・脳連結性は、脳性麻痺の児童における脳損傷の病態生理、および潜在的に修復機構において、重要な役割をする。具体的には、本発明者らは、(1)脳連結性の障害が脳性麻痺の児童における運動欠陥の原因である、(2)脳連結性の増加は機能的改善に直接的影響を及ぼす、(3)CB注入を受ける脳性麻痺の児童は、プラセボ注入を受ける児童より大きな脳連結性の増加を示す、および(4)ベースライン脳連結性異常の重症度は、CB療法の恩恵の可能性を予測することを仮定する。

【0059】

研究設計

この研究は、脳性麻痺の若い児童において、hCT-MSCまたは同種異系のCBで処置した被験体におけるGMFM-66スコアの変化の効果サイズを調査し、hCT-MSCの反復用量の安全性を調査するように設計された、フェーズI/IIの前向き無作為化非盲検治験である。低酸素虚血性脳症、脳卒中または脳室周囲白質軟化症による脳性麻痺を有する2~5歳の児童が、参加に適格であり得る。全ての参加者は、研究の間のある時点で、同種異系の細胞製品で最終的に処置される。参加者は、3群のうちの1つに無作為化される：(1)「All CB」群は、ベースライン診察で1回の同種異系のCB注入を受ける；(2)「MSC」群は、3回のhCT-MSC注入を、各々ベースライン時、3カ月時および6カ月時に1回ずつ受ける；(3)「自然経過」群は、ベースライン時に注入を受けないが、12カ月時に同種異系のCB注入を受ける。脳性麻痺の診断を検証し、分類し、適格性を決定するために、全ての参加者は最初の臨床評価を受ける。彼らは、研究診察のために、さらに2回 (All CBおよび自然経過群) または3回 (MSC群) 再訪する。転帰尺度を、ベースライン時、6カ月および1年時点で調査する。最終対面診察から12カ月の間、追加の安全性エンドポイントを遠隔で調査する。

【0060】

研究目的

主目的：同種異系CBの細胞 10×10^7 個/kgの単回用量またはhCT-MSCの細胞 2×10^6 個/kgの3回用量で処置した脳性麻痺の児童において、GMFM-66スコアの変化の効果サイズを決定すること。

【0061】

二次目的：脳性麻痺の児童においてhCT-MSCの反復用量の安全性を調査すること。

10

20

30

40

50

【0062】

探索的目的：(1)同種異系のCBまたはhCT-MSCで処置した児童において、6および12カ月時のPeabody Developmental Motorスケール-2(PDMS-2)スコアにおける変化を決定すること。(2)ベースラインから12カ月までのDTIによる脳MRIによって測定した、正規化全脳連結性における変化を分析すること。(3)6および12カ月時の機能的および生活の質の尺度の変化を調査すること。

【0063】

研究設計 - 一般設計

この研究は、脳性麻痺の児童において、hCT-MSCまたは同種異系のCBで処置した被験体におけるGMFM-66スコアの変化の効果サイズを決定し、hCT-MSCの反復用量の安全性を調査するように設計された、フェーズI/IIの前向き無作為化非盲検治療である。低酸素虚血性脳症、脳卒中または脳室周囲白質軟化症による脳性麻痺を有する2~5歳の児童が、参加に適格であり得る。

10

【0064】

全ての参加者は、研究の間のある時点で、同種異系の細胞製品で最終的に処置される。参加者は、3群のうちの一つに無作為化される：(1)「AlloCB」群は、ベースライン診察で1回の同種異系のCB注入を受ける；(2)「MSC」群は、3回のhCT-MSC注入を、各々ベースライン時、3カ月時および6カ月時に1回ずつ受ける；(3)「自然経過」群は、ベースライン時に注入を受けないが、12カ月時に同種異系のCB注入を受ける。運動転帰尺度を、ベースライン時、6カ月および1年時点で調査する。安全性は、各注入時の診察のときに、および最終診察後の追加の12カ月の間に遠隔で評価する。研究参加期間は、ベースライン診察時から24カ月である。処置群への無作為化は、研究エントリー時に年齢およびGMFCSレベルによって層化される。

20

【0065】

研究フローチャートを、図1に提供する。

【0066】

研究設計 - 研究エンドポイント

一次エンドポイント：一次エンドポイントは、最初の研究注入の12カ月後のGMFM-66スコアにおける、参加者の観察された変化と予想された変化との間の差である。hCT-MSC、AlloCBおよび自然経過群のために、区間推定値が別々に報告される。12カ月時の予想されるGMFM-66スコアは、公開された参照パーセントイルを使用して、研究エントリー時の参加者のベースラインの年齢、GMFCSレベルおよびGMFM-66スコアに基づいて計算される(Hanna et al. Phys Ther. 2008, 88(5): 596-607)。

30

【0067】

二次エンドポイント：二次エンドポイントは、hCT-MSCまたはAlloCBによる注入の後の12カ月間にわたって起こる有害事象の数である。

【0068】

探索的分析：

- ・ベースライン時、6および12カ月時の観察されるGMFM-66スコア
- ・6および12カ月時のPeabody Developmental Motorスケール-2(PDMS-2)スコアにおける変化。
- ・ベースラインから12カ月までのDTIによる脳MRIによって測定した、正規化全脳連結性における変化。
- ・6および12カ月時の機能的および生活の質の尺度の変化。

40

【0069】

リサーチ参加者の選択および撤回 - 研究集団

痙攣性脳性麻痺を有する2~5歳の90人の児童。

【0070】

50

リサーチ参加者の選択および撤回 - 組入基準

1. 登録時に 24カ月齢および 60カ月齢の調整年齢。患者が妊娠37週未満で生まれた場合、患者年齢を早産に関して調整する。
2. 診断：子宮内または周産期の脳卒中/出血、低酸素虚血性脳症（新生児仮死を限定せずを含む）、および/または脳室周囲白質軟化症に続発する片側性または両側性の痙攣性脳性麻痺。
3. パフォーマンスステータス：粗大運動機能分類スコアレベルI～IV
4. 脳イメージング（研究エントリーの前の標準治療として得られる）の精査は、遺伝子の状態も脳奇形も示唆しない。
5. 法的権限を有する代表者の同意。

10

【0071】

リサーチ参加者の選択および撤回 - 除外基準

1. 利用可能な適格な自家臍帯血単位。
2. 痙縮無しの低張性または失調性の脳性麻痺。
3. 運動能力障害無しの自閉症および自閉性スペクトラム障害。
4. ヒプサルスマア。
5. てんかん性脳症を引き起こす難治性の発作。
6. 進行性の神経疾患の証拠。
7. 活動的な無制御の全身感染症またはHIV+状態の記録を有する。
8. 既知の遺伝性疾患または検診による遺伝性疾患の表現型証拠。
9. 将来の同種異系の幹細胞移植を必要とするかもしれない同時の遺伝性または後天性の疾患または共存症（複数可）。
10. ホームベンチレータ、CPAP、BiPAPまたは補助酸素を含む換気補助を必要とする。
11. 既知のジルベール病の患者を除く、血清クレアチニン $>1.5\text{ mg/dL}$ および/または総ビリルビン $>1.3\text{ mg/dL}$ によって決定される腎臓または肝臓機能障害。
12. 異常なT細胞サブセットを伴うWBC細胞 $<3,000$ 個/mLまたは絶対リンパ球数(ALC) <1500 で規定される可能な免疫抑制。
13. 患者の医学的状态は、安全な旅行を許さない。
14. 任意の形態の細胞療法を以前に受けている。

20

30

【0072】

リサーチ参加者の選択および撤回 - リサーチ参加者の募集およびスクリーニング

患者は、CBバンクのウェブサイト、親が支援するウェブサイト、NMDPウェブサイト上の研究のためのIRB承認広報、選択された脳性麻痺社会、地方の医療提供者を通して、および、以前の研究のための質問の記録（脳損傷データベースを通して募集することができる。任意の広告のために、別個のIRB承認が得られる。

【0073】

この研究のためのスクリーニングは、別個のIRB承認スクリーニングプロトコール(Pro00063563)の下で実行される。このプロトコールの下で、書面によるインフォームドコンセントが親/保護者から得られた後、患者の医療記録、ビデオおよび脳イメージングの結果が得られ、精査される。いずれかの除外基準の存在を同定するために、医学的精査が小児科の看護師、看護実務者および医師のチームによって実行される。いかなる除外基準も同定されないならば、スクリーニング検査が実行され、好適に一致したCB単位を同定するための検索を実行することができる。

40

【0074】

研究製品 - 同種異系の臍帯血

この治験のために利用される同種異系の非血縁ドナーCB単位は、Duke University Medical CenterのFDA認可の公立臍帯血バンクである、Carolinas Cord Blood Bankから得られる。CBドナーは、同種異系の使用のための公立臍帯血バンクへの供与のために適格でなければならない。質問

50

表を通したドナー適格性スクリーニングは、CFR 1271.75に従って実行され、感染性疾患試験は、CFR 1271.80および1271.85に従って実行される。単位は、適切な程度のHLA一致も有しなればならず、下に詳述される製品仕様も満たさなければならぬ。

【0075】

全ての潜在的な研究参加者は、血液または口内スワブを通したHLA-A、BおよびHLA-DRB1での高分解能HLAタイピングを受ける。同種異系のCBを受ける患者は、確認のために2つの別個の試料でHLAタイピングが実行される。潜在的に一致する同種異系の単位は、Carolinascordbloodbankの検索から最初に同定される。HLAクラスIIおよびBでの中間レベルの一致ならびにHLAクラスII、DRB1での高分解能・対立遺伝子レベルの一致を使用した最良の利用可能なHLA一致(4/6)、凍結保存前有核細胞用量 細胞 1.2×10^7 個/kgによるCB単位が選択される。単位が選択されると、元のHLAタイピングを確認し、最良の一致単位を選択するために、HLAタイピングが使用される。可能な場合、各HLA遺伝子座で少なくとも1つの一致が優先される。CB単位は、患者と少なくとも4/6HLA一致でなければならない。

10

【0076】

レシピエントのABO/Rh血液型決定が、得られる。CB単位は、ABOタイピングに基づいて選択されない。しかし、若い女性におけるRh感作を回避するために、Rh陰性の女性参加者のためにRh陰性のCB単位が選択される。

20

【0077】

臍帯血バンクでの最初の試験結果は、凍結保存前のTNCC、生存度および無菌培養を含まなければならない。凍結保存前のTNCCは、解凍後の細胞 1.0×10^7 個/kgの投与を目標にするために細胞 1.2×10^7 個/kgでなければならない。無菌培養は陰性でなければならない。全生存度は85%でなければならない。CD34+細胞生存度は70%でなければならない。

【0078】

効力試験および確証的HLAタイピングのために、各CB単位から試験バイアルまたはセグメントが利用可能でなければならない。セグメントは候補単位から切り離され、DukeのCCBBにおいてStandard Operating Proceduresにより効力および同一性(HLA確証的タイピング)について試験される。CD45細胞集団の生存度が40%であり、CD34細胞集団の生存度が70%であるならば、単位は治験のために受け入れ可能であると考えられる。CFU増殖、アルデヒドヒドロゲナーゼおよびCD34の発現が記載されるが、研究登録のための仕様にならない。

30

【0079】

患者の到着の前に、彼らの指定されたCB単位がCarolinascordbloodbankから同じ建物内のDukeSTCLに移され、そこで、それは注入の日まで液体窒素フリーザーに保存される。注入日に、CBは解凍され、デキストラン/アルブミンで洗浄され、SOP STCL-PROC-036による標準の様式での患者への投与のためにレシピエントの体重に基づく適切な体積で再懸濁される(Rubinstein et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 1995, 92(22):10119-10122)。解凍時に、掲載される標準の研究(表1を参照)が実行される。TNCCだけが、リリースのために利用される。シリンジまたはバッグでの注入のために 1.0×10^7 TNCC/kgの最大用量が調製され、2~25分にわたって注入される。

40

【表 1】

表1:解凍後臍帯血単位試験

試験	仕様
全有核細胞数(TNCC)	報告書;最終用量を計算するために使用
生存度	報告書
CD34+集団の生存度*	≥70%
CD45+集団の生存度	≥40%
無菌性**	増殖無し
コロニー形成単位(CFU)増殖	報告書
CD45+細胞のパーセンテージとしての ALDH ^{br}	報告書

*解凍後のCD34+細胞の生存度は以前にセグメントで試験され、≥70%の仕様を満たす必要があった。したがって、臨床製品のために、本発明者らは解凍後生存度を報告するが、リリース判定基準として使用しない。

**製品投与の後に陽性の培養が得られるならば、臨床および研究チームに通知し、指示されれば患者を処置するための計画が実行される。

【0080】

研究製品 - ヒト臍帯組織由来の間葉系間質細胞 (hCT-MS C)

hCT-MS CはクリーンルームISO7施設の中でcGMPの下で製造されるものであり、培養において拡大され、凍結保存され、バンクされる、消化された臍帯組織から製造される同種異系細胞の製品である。hCT-MS Cは、Duke CT2 GMP細胞製造ラボにおいて、正常期出産からの胎盤から採取された臍帯組織から製造され、ここで、乳児の臍帯血は、ドナー乳児の母親からの書面によるインフォームドコンセントの後に、Duke University Medical CenterのFDAに認可されたFACT公認の公立の臍帯血バンクである、Carolinas Cord Blood Bankに供与された。臍帯組織は、正常な満期妊娠の後の待機的C切開によって出産された男の乳児の胎盤から採取される。ドナースクリーニング質問表が母体ドナーによって記入され、母体の血液は、Charlotte、NCにあるAmerican Red CrossのCLIA認定ドナースクリーニング検査によって伝染性疾患に関して検査される。ドナーは、同種異系の使用のための公立の臍帯血バンクへの供与のために適格でなければならない。胎盤および臍帯の分娩の後、臍帯血は胎盤から無菌的に排液させる。次に、臍帯を乾燥させ、クロロプレップで清浄にし、胎盤の基部から分離し、プラズマライトAを含有する無菌のボトルに入れ、検証された容器に入れて、室温でRobertson Clinical and Translational Cell Therapy CT2 GMP細胞プロセッシング研究室に運搬する。

【0081】

クリーンルーム製造スイートの、生物学的安全性キャビネットの中で、臍帯組織を培地から取り出し、無菌シャーレに置き、小片に切断し、次に細かく切り刻み、Miltenyi Biotec GentleMacs Octo Dissociatorの中でGMPグレードの酵素、ヒアルロニダーゼ、DNアーゼ、コラゲナーゼ、パパイニンによって消化する。結果として生じた細胞懸濁物を1%血小板溶解物入りのPrime XV MSC Expansion XSFM (Irvine Scientific)培地の中の培養に置き、集密まで増殖させて(約7~14日)P0培養物を確立する。マスター細胞バンクを確立するために、P0を採取し、Cryostor10培地(BioLife)入りのクリオバイアルに凍結保存し、液体窒素の気相に保管する。P1およびP2培養物は、投与のための作業用細胞バンクおよび製品をそれぞれ作製するために、必要に応じて、血小板溶解物無しのHYPERFlasksまたはHYPERStacksの中で類似した条件の下で増殖させる。P1およびP2からの細胞は、TrypLE (Gibco)を使用してプラスチック培養容器から取り出す。最終生成物はP2培養物から誘導され、それらは5%ヒト血清アルブミンを有するプラズマライトに採取され、洗浄され、デ

10

20

30

40

50

キストランを有する10% DMSO (Akron Scientific)の最終濃度で細胞50,000,000~100,000,000個を含有するコンパートメントクライオバッグの中で凍結保存される。投与の日、1つのコンパートメントを解凍し、10~40mLのプラズマライトIV溶液に希釈し、シリンジまたはバッグに入れ、30~60分間の投与のためにベッドサイドに運ぶ。

【0082】

各継代で、細胞製品は、マイクログリア活性化のT細胞増殖および器官型モデルを通したフローサイトメトリーおよび機能的アッセイにより細胞表面表現型を調査することによって特徴付けられる。各ロットは、P2の凍結保存の前に、無菌性、エンドトキシンおよびマイコプラズマについても試験され、これらの試験は仕様を満たさなければならない。投薬のために、解凍および希釈後のリリース試験は、セロメーターを通したTNCCおよび生存度を含む。解凍後の数に基づきhCT-MS C2×10⁶個/kgが、患者に投与される。

10

【0083】

プロセスおよび最終製剤

hCT-MS Cは、マスター細胞バンク、作業用細胞バンクおよび研究製品を作製する一連の3工程で、単一の臍帯組織から製造される。各工程の生成物は、制御されたレートのフリーザーに凍結保存され、液体窒素の気相に保管される。P2では、そのロットの製品による任意の患者の処置の前に、代表的なクライオバッグを解凍し、資格を与える。製品リリースのための試験は、全有核細胞数、生存度、表現型、機能的アッセイ、エンドトキシン、マイコプラズマ、グラム染色および無菌性を含む。細胞の各ロットは、凍結保存の前に外膜ウイルスについても試験される。

20

【0084】

処置の日に、細胞はSOP STCL AOP-028 JA2により解凍され、次に、10~40mLのプラズマライトA+5%ヒト血清アルブミン(HSA)に希釈される。細胞数、生存度および無菌培養のために、アリコートを取り出す。細胞が70%生存可能である場合、最終生成物の体積は、研究被験体に細胞2×10⁶個/kgを送達するように調整される。細胞は、プラズマライトA、5%HSAおよび残留性DMSOを含有するシリンジの中に入れてベッドサイドに届けられる。取り出されたいずれの細胞懸濁物も、無菌性試験のために好気性および嫌気性培養ボトルに接種される。細胞は、解凍後、室温で4時間の有効期限を有する。

30

【0085】

解凍後の細胞数および生存度を試験した後に、hCT-MS C最終製品は、患者への投与のために条件つきでリリースされる。最終リリースは、研究製品のための14日の無菌性培養期間の後に行う。無菌性培養が製品の投与の後に陽性に転じる場合には、生物体が同定され、抗生物質感受性試験が実行される。患者の家族が症候的である(すなわち、発熱または感染症の他の徴候)かどうか決定するために、彼らに接触する。無症状の患者は観察されるが、抗生物質で処置されない。症候的な患者は評価され、それに応じて、適宜血液培養および抗生物質によって処置される。製品を受け、以降の無菌性試験が陽性である全ての患者は、陽性の無菌性試験に気が付いてから14日間、研究看護師による毎日の接触で追跡される。

40

【0086】

さらなる製造および試験の詳細は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、2018年4月4日出願された米国特許仮出願S/N62/652,722に見出すことができる。

【0087】

研究製品-CBおよびhCT-MS Cについてのドナースクリーニング

21CFRパート1271の全ての必要条件を満たすために、ドナースクリーニングおよび試験を、Carolina's Cord Blood Bankの標準操作手順により実行する。スクリーニングおよび試験は推奨通りであり、生物学的認可番号1870の

50

下でFDAによって承認されている。臍帯血の母体ドナーは、HIV-1、HIV-2、HIV-O、B型肝炎ウイルス(HBV、表面抗原およびコア抗体)、C型肝炎ウイルス(HCV)抗体、Treponema pallidum(梅毒)、クロイツフェルト-ヤコブ病(CJD、スクリーニングのみ)、シャガス病、ヒトTリンパ球向性ウイルス1型および2型(HTLV-1、HTLV-2)ならびにCMVに対する全抗体に関してスクリーニングされ、試験される。HIV-1/2/O、HBV、西ナイルウイルスおよびHCVのための核酸試験も、母体血液で実行される。ジカウイルスのためのスクリーニングを実行することもできる。

【0088】

この研究のために使用する臍帯組織は、Carolinas Cord Blood Bankへの臍帯血供与に同意したドナーから得られるので、彼らはCarolinas Cord Blood Bank標準操作手順によるドナースクリーニングおよび感染性疾患試験を受ける。臍帯血関連の母体試料および臍帯組織MSC試料は、この研究の一環として将来の試験のための参照試料として保持される。

10

【0089】

研究製品 - 研究製品のパッケージング

全ての細胞製品は、製品完全性を確実にし、加工流通過程の管理を維持するために、一意の識別番号(ISBT Demand 128バーコード)を受ける。臨床サイトまたは臍帯血バンクは、CB単位またはhCT-MSC製品にISBT Demand 128バーコード標識を割り当て、それは製品バッグ/シリンジに直接的にまたは結束タグを通して置かれる。製品は、検証されたクーラーの中で、訓練された運搬人によってSTCLから注入サイトに輸送される。

20

【0090】

研究製品 - 研究製品の投与

患者は、彼らの予定された注入の午前中に診療所に到着する。末梢IVが、麻酔医、臨床スタッフまたは研究スタッフによって置かれ、1用量につきベナドリル0.5mg/kg IVおよびソルメドロール0.5~1mg/kg IVによる前投薬が投与される。同種異系のCB製品は、医師の直接監視の下で5~25分にわたって静脈内投与される。hCT-MSC製品は、直接監視の下で30~60分にわたって静脈内投与される。診療所に到着後、および臨床的に示されるとき、生命徴候(心拍数、血圧、体温、呼吸数)をチェックする。注入の間中、および注入後の少なくとも5分間、パルスオキシメトリーを連続的にモニタリングする。患者は、許容されるとき標準の静脈内液で水分補給され、注入後の少なくとも1時間観察される。

30

【0091】

研究計画 - 概要

本発明者らのプログラムに以前に接触し、この研究のための適格基準を満たすことができる児童を有する親/保護者は、この研究が利用可能であることを通知される。最初の接触の後、潜在的な研究参加者の親/保護者は、研究を説明し、基本的適格基準を検証し、参加への彼らの関心を確認するために、研究人員との最初の電話インタビューを受ける。次に、参加者の適格性は、医療記録、ビデオ、実験室検査およびイメージングの精査を通して、別個のスクリーニングプロトコルの下でスクリーニングされる。

40

【0092】

全てのスクリーニングが終了し、患者が研究判定基準を満たすようならば、好適な非血縁ドナーCB単位がCarolinas Cord Blood Bankで同定される。CB単位は、セクション6に記載の通りにスクリーニングされる。参加者は、次に最初の診察のためにDukeに移動する。1日目に、書面によるインフォームドコンセントが得られる。患者適格性は、身体観察ならびに脳性麻痺診断およびGMFCSレベルの検証によって確認される。いかなる除外基準も認識されないならば、参加者は処置群に無作為化される。彼らの最初の診察の間、全ての参加者は身体的療法評価を受け、患者のサブセットは脳MRIを受ける。参加者は、彼らの割り当てられた処置群によって決定される研

50

究注入を受ける（ベースライン時はA l l o C B だけ；12カ月時は自然経過だけ；ベースライン時、3および6カ月時はM S C）。

【0093】

参加者は各注入の翌日に評価され、親に、各注入の約2週後に電話による経過観察のために接触する。全ての参加者は、ベースライン診察の6カ月後（運動調査）および12カ月後（運動調査および脳MRI）にD u k e を再訪する。M S C 群の参加者は、h C T - M S C 注入のために3カ月時にも再来訪する。遠隔安全性調査は、注入の24カ月後に電話または電子メールを通して実行される。

【0094】

研究計画 - 患者スクリーニング

別個のプロトコールの下でインフォームドコンセントにより最初の患者スクリーニングが実行され、医療記録、ビデオおよび最初の実験室検査の精査が含まれる。いかなる除外基準も確認されないならば、電話でインフォームドコンセントが得られ、患者は処置群に無作為化される。指示される場合（A l l o C B および自然経過群）、非血縁ドナーのC B 単位がC a r o l i n a s C o r d B l o o d B a n k で同定される。参加者は、最初の評価のためにD u k e に移動する。評価および処置は、外来患者の設定で実行される。適格性を確認するために検診およびベースラインG M F C S 調査が実行され、参加者は研究評価の残りを受ける。

10

【0095】

研究計画 - C B 単位選択

A l l o C B および自然経過群に無作為化された患者の場合、同種異系非血縁ドナーのC B 単位がC a r o l i n a s C o r d B l o o d B a n k で同定される。H L A タイピングが患者で得られ、凍結保存前の有核細胞用量 細胞 12×10^7 個 / k g を有する最良の利用可能なH L A 一致C B 単位が選択される。可能な場合、各H L A 遺伝子座で少なくとも1つの一致が優先される。若い女性におけるR h 感作を回避するために、R h 陰性の女性参加者のためにR h 陰性のC B 単位が選択される。

20

【0096】

好適な同種異系のC B 単位が許容できる一致とみなされたならば、そのC B 単位の試料がD u k e S T C L における効力について試験される。これらの試験の結果が満足である場合、C B 単位は凍結状態でD u k e S T C L に送られる。

30

【0097】

研究計画 - 研究製品注入

注入の日、C B 細胞またはh C T - M S C 製品がS T C L によって調製され、研究チームおよびP e d i a t r i c B l o o d a n d M a r r o w T r a n s p l a n t P r o g r a m スタッフの監視の下での外来診療所における患者の注入のために提供される。末梢I V が、臨床スタッフ、麻酔、または研究チームのメンバーによって置かれる。研究注入の前に、前投薬（ベナドリルおよびソルメドロール）が投与される。C B 細胞は、解凍後、室温で4時間の有効期限を有する。

【0098】

A l l o C B 注入は、標準実施法を使用して概ね5～25分にわたって、およびh C T - M S C 注入は30～60分にわたって与えられる。児童は下記のように1～1.5倍の維持I V 液を受け、注入後の最低1時間診療所において観察される。全ての生命徴候が彼らのベースラインレベルにあり、彼らが毒性の証拠もなく覚醒し、無症状であるならば、患者は少なくとも1時間後に診療所から解放される。注入関連の有害反応または合併症があれば調査するために、注入の翌日、患者は研究スタッフによって評価される。注入の安全性を調査するための研究スタッフによる親/保護者への電話は、注入の2週後に実施される。

40

【表 7】

維持IV液のレート(Harriet Lane HandbookからのHolliday-Segar法)

体重	1日あたりのmL/kg	
第1の10kg	100	24時間/日で割る
第2の10kg	50	24時間/日で割る
追加1kgごと	20	24時間/日で割る

【0099】

10

注入予定日に、患者が、発熱 > 38.5 、嘔吐、下痢または呼吸窮迫を非限定的に含む病気の証拠を有するならば、注入は延期される。

【0100】

研究計画 - 予想外の事象の間の医療

患者がCB注入の間に、じんま疹、呼吸困難、咳、喘鳴または嘔吐を含むアナフィラキシーの徴候または症状を起こす場合には、注入は終了され、適切な医学療法が開始される。

【0101】

研究計画 - 運動調査

粗大運動機能測定 - 66 (GMFM-66) : GMFM-66は、脳性麻痺の児童において粗大運動機能の変化を経時的に測定するように設計され、検証された、標準化された観察手段である。予想される進行の発達曲線が、2~12歳の児童のために公開されており (Hanna et al. Phys Ther. 2008, 88(5):596-607; Rosenbaum et al. Jama. 2002, 288(11):1357-1363)、ベースライン年齢、GMFCSレベルおよびGMFM-66スコアに基づいた将来の予想されるスコアの計算を可能にする。GMFM-66は66項目からなり、5つのカテゴリーに分けられる：横になるおよび転がる、座る、這うおよび跪く、立つ、ならびに歩く、走るおよびジャンプする。

20

【0102】

各項目は、四点リカートスケールでスコア化される。GMFM-66は、主に横になるおよび転がるカテゴリーにおける追加の22項目を含有する、GMFM-88のサブセットである。両方の尺度は、5カ月齢から16歳までの脳性麻痺の児童において検証されている。運動能力障害無しの5歳児が、最大スコアに到達することができる (Russell et al. Gross Motor Function Measure (GMFM-66 & GMFM-88) User's Manual. London: Mac Keith Press; 2013)。コンピュータープログラムであるGross Motor Ability Estimatorが、GMFM-66の全スコアを計算するために使用される。この研究の一次エンドポイントは、最初の研究注入の12カ月後のGMFM-66スコアにおける、児童の実際の変化と予想された変化との間の差である。対照 (プラセボ) および処置患者が比較される。

30

【0103】

可能な場合、GMFM-88全体が実行され、サブセットは探索的エンドポイントとして分析することができる。

40

【0104】

Peabody Developmental Motor Scales (PDMS-2) : PDMS-IIは、粗大および精密運動スキルを評価する幼児期の運動発達の標準化された調査である。それは、出産から5歳までの児童のために設計されている。この調査は、生涯の初期に発達する相互に関係した運動能力 (すなわち、反射、静止、移動、物体操作、握ることおよび視覚-運動統合) を測定する、6つのサブテストで構成される。粗大運動指数 (Gross Motor Quotient)、精密運動指数 (Fine Motor Quotient) および全運動指数 (Total Motor Quotient) の合成スコアが得られる。この研究については、粗大運動指数を得、二次

50

エンドポイントとして分析する。

【0105】

研究計画 - 機能的および生活の質の調査

Pediatric Evaluation of Disability Inventory - Computer Adaptive Test (PEDI-CAT): PEDI-CATは、3つの機能的ドメインにおける能力を測定する: 毎日の活動、運動性および社会/認知。コンピューター化された適応バージョンは、前の項目への応答に基づいて各ドメインの中でどの項目が調査されるかを決定するために、項目応答理論統計的モデルを利用することによって効率を増加させ、応答負担を低減しつつ、児童の能力の正確で確かな調査を提供することを意図するものである。

10

【0106】

Pediatric Quality of Life Inventory 4.0、Generic Core Scale and Cerebral Palsy Module (PedsQL) (Varni et al. Developmental medicine and child neurology. 2006, 48(6):442-449)。PedsQL General Core ScalesおよびCerebral Palsy Moduleは、並行児童自己報告および親代理報告フォーマットで構成される。35項目PedsQL Cerebral Palsy Moduleは、7つのスケールを包含し、標準スコアを生成する: (1) 毎日の活動(9項目)、(2) 学校活動(4項目)、(3) 動作およびバランス(5項目)、(4) 疼痛および苦痛(hurt)(4項目)、(5) 疲労(4項目)、(6) 摂食活動(5項目)、および(7) 会話およびコミュニケーション(4項目)。

20

【0107】

研究計画 - イメージング調査

脳MRIで正確な解剖学的像分割の可能性があるかどうか決定するために、標準治療として以前に得られた参加者の脳イメージングは、Brain Imaging Analysis Center (BIAC) チームのメンバーによって精査される。使用可能なデータが得られる可能性がある参加者(適格な参加者のうち概ね3分の2と推定される)は、拡散テンソルイメージング(DTI)による脳MRIを受ける。拡散強調画像は、3テスラGESキャナ(Waukesha, WI)で取得される。T1強調画像は、反転調製3D急速減衰勾配想起(inversion-prepared 3D fast spoiled-gradient recalled) (FSPGR) パルスシーケンスで得られる。全脳連結性の尺度を得るために、これらの画像が分析される。

30

【0108】

統計的考慮事項 - 研究設計

この研究は、AlloCBおよびhCT-MSCによる処置の後の運動機能における12カ月の変化の区間推定値を提供し、臨床治験の実施に関連する短期間(1年未満)のCPにおける運動機能の自然経過に関する追加のデータを臨床治験コミュニティに提供し、脳性麻痺の児童におけるhCTMSCの反復用量およびAlloCBの単回用量の安全性を調査するように設計された、フェーズI/IIの前向き無作為化非盲検治験である。

40

【0109】

低酸素虚血性脳症、脳卒中または脳室周囲白質軟化症による脳性麻痺を有する2~5歳の児童が、参加に適格である。全ての参加者は、研究の間のある時点で、同種異系の細胞製品で最終的に処置される。参加者は、3群のうちの一つに無作為化される(1:1:1): (1) 「AlloCB」群は、ベースライン診察で1回の同種異系のCB注入を受ける; (2) 「MSC」群は、3回のhCT-MSC注入を、各々ベースライン時、3カ月時および6カ月時に1回ずつ受ける; 「自然経過」群は、ベースライン時に注入を受けないが、12カ月時に同種異系のCB注入を受ける。有害事象の発生は、全ての参加者において無作為化の3、6、12および24カ月後に評価される。全ての参加者において、運動機能転帰尺度を、ベースライン時、6カ月および1年時点で調査する。研究参加期間は、ベースライン診察時から24カ月である。無作為化は、年齢(2~3歳対4~5歳)お

50

よびGMFCSレベル(I/IIまたはIII/IV)によって層化される。

【0110】

統計的考慮事項 - 増加

最高8～12人のリサーチ参加者が毎月登録され、90人の参加者を登録するのに概ね12～15カ月分の増加が必要になると推定される。

【0111】

統計的考慮事項 - 研究期間

研究における各被験体の参加は24カ月であり、診療所での診察は最初の12カ月に起こり、遠隔安全性調査は24カ月時に行う。増加が最高15カ月を要すると想定すると、遠隔安全性調査は研究開始から39カ月(3.25年)後に最後の患者で実行されると推定される。

10

【0112】

統計的考慮事項 - 一次および二次エンドポイント

この研究の一次エンドポイントは、最初の研究注入の12カ月後のGMFM-66スコアにおける、児童の観察された変化と予想された変化との間の差である。この研究は、12カ月時のhC-MSC、AlloCBおよび自然経過群に割り当てられた患者における、この転帰尺度の平均の別個の区間推定値を提供する。この研究の二次エンドポイントは、hCT-MSCまたはAlloCBによる処置の後の12カ月間にわたって起こる有害事象の数である。

【0113】

統計的考慮事項 - 試料サイズおよび検定力計算

この研究のための試料サイズは、研究群の各々におけるGMFM-66の観察された12カ月変化から予想されたものを引いたものの平均を推定するための高レベルの精度を提供するように、およびAlloCBまたはhCT-MSCによる注入の後の一般的に起こる有害事象を検出する高い確率を提供するように選択された。

20

【0114】

下の表2に示すように、1群あたり30人の患者の試料サイズは、注入(hCT-MSCまたはAlloCBによる)の10%で起こる一般的な有害事象を検出する確率95.8%を提供する。この試料サイズは、注入の5%で起こる事象を観察する確率78.5%、および注入の1%で起こる稀な事象を観察する確率26.0%も提供する。

30

【表2】

表2:様々な試料サイズによって1つまたは複数の事象を観察する確率*

	確率(%)*			
	N=20	N=30	N=40	N=50
事象の真の確率(%)				
1	18.25	26.0	33.1	39.5
5	64.2	78.5	87.1	92.3
10	87.8	95.8	98.5	99.5
20	98.8	99.9	100.0	100.0
50	100.0	100.0	100.0	100.0

*1つまたは複数の独立した事象の2項確率。

40

【0115】

この研究のための試料サイズは、MSC、AUCBによる介入の12カ月後、および自然経過群における、観察されたGMFM-66変化スコアから予想されたものを引いたものの平均の推定も支持しなければならない。したがって、以下の通りにt分布を使用して

50

3つの区間推定値が構築される。

【数1】

$$\left(\bar{x} - t_{\alpha/2} * \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2} * \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

【0116】

誤差Eのマージンは、信頼区間半値幅である：

【数2】

$$E = t_{\alpha/2} * \frac{s}{\sqrt{n}}$$

10

【0117】

この研究のための誤差のマージンは、95%の信頼度レベルで2ポイントとして選択された。各処置群のための試料サイズを得るために、以下の式を反復して解いた。

【数3】

$$N = \left(\frac{t_{\alpha/2} * s}{E} \right)^2$$

20

【0118】

標準偏差sは、本研究のための年齢およびGMFCS組入基準を満たしたCP-A C治療の36人の参加者を使用して推定された：5.16（95%CI：4.18、6.13）。20の試料サイズから開始し、5.16の標準偏差を仮定して、28の最終群試料サイズに到達するために、下の表3に示すように、合計3つの反復が必要だった。

【表3】

表3:

反復数	開始時の数	自由度	$t_{\alpha/2}$	終了時の数
1	20	19	2.093	29
2	29	28	2.048	28
3	28	27	2.052	27

30

【0119】

したがって、患者28人の群サイズは、2以下の誤差のマージンにより、研究群（自然経過、MSCまたはAUCB）のうちの1つにおいて、12カ月の観察されたGMFM-66変化スコアから予想されたものを引いたものの平均の推定において、95%の信頼度を可能にする。この試料サイズは、上記のような一般的に起こる有害事象を検出する相応の確率のために必要とされるもの（N=30）とも一致する。最後に、二次転帰尺度の標準偏差が、CP-A C研究からの95%信頼区間の上限（6.13ポイント）によって示されるのと同じくらい高いならば、患者126人の試料は、3つの区間推定値の各々において、約2.5ポイント以下の誤差のマージンを可能にする。

40

【0120】

したがって、この研究のための全体の試料サイズは、90人の患者（1群につき30人）に設定される。

【0121】

統計的考慮事項 - 分析計画

分析集団：以下の集団は、一次および二次エンドポイントの分析を支持するように規定される。

50

処置意図集団

この集団は、登録され、割り当てられた処置によって無作為化された全ての参加者を含む。この集団において、一次エンドポイントが評価される。

安全性集団

安全性集団は、二次エンドポイントが評価される患者を規定し、少なくとも1回の注入を受けた全ての被験体を含む。安全性集団の分析は、処置された通りのアプローチを使用して実行され、それは、彼らが割り当てられた処置ではなく、実際に受けた処置に従って各患者を考慮する。

【0122】

分析のタイミング

一次および二次転帰尺度の分析は、最後の患者が12カ月診察に到達するときに実行される。最後の患者が24カ月診察に到達するときに、安全性分析が更新される。

【0123】

人口統計、ベースライン特徴および素因

人口統計およびベースライン特徴が全てのリサーチ参加者のために、および無作為化された割当てによって別々に要約される。調べられる特徴には、年齢、性別、人種/民族性、ベースラインGMFM-66スコア、GMFCSレベルおよびCPの病因が含まれる。研究に登録され、完了する参加者の数は、CONSORTガイドラインを使用して図解される。

【0124】

一次および二次エンドポイントの分析

安全性集団における有害事象の発生は、全ての被験体について、および受けた処置によって別々に、表および図で説明的に要約される。12カ月時の観察されたGMFM-66変化スコアから予想されたものを引いたものの平均の推定値は、上記の95%信頼区間と一緒に処置意図集団で報告される。

【0125】

(実施例2)

中等度または重度の低酸素性虚血性新生児脳症を有する新生児における、hCT-MS C、臍帯由来の間葉系間質細胞製品のフェーズI研究

目的

このフェーズI研究の目的は、ヒト臍帯組織由来の間葉系間質細胞(hCT-MS C)の1回および2回の静脈内注入の安全性を調査することであり、中等度から重度の新生児低酸素性虚血性脳症(HIE)を有する満期およびほとんど満期の産児において、1回目は出産後の最初の48時間以内に投与され、2回目は出産後の2カ月齢のときに投与される。最初の3人の登録小児は、第1の早期の用量だけを受ける。第2の3人の登録小児は、両方の用量を受ける。

【0126】

研究の理論的根拠および仮説

この系列の調査の機構的根拠および包括的理論は、hCT-MS Cはパラクリンおよびアロクリン機構を通して作用し、脳における進行中の炎症および/または免疫病理をモジュレートし、おそらくニューロンをさらなる損傷から保護できるというものである。このフェーズI臨床試験の仮説は、細胞の1回用量または2回用量でのhCT-MS Cの投与は、中等度から重度の低酸素性虚血性新生児脳症を患う、妊娠36週またはそれ以降に生まれた新生児において安全であるというものである。

【0127】

多くの文脈では、MSCは、免疫学的および炎症性の応答を増強するのではなく弱める。文書化された機構には、エフェクターT細胞におけるシフト、例えば、調節性T細胞集団の生成、および抗炎症性サイトカインにつながる単球/樹状細胞サイトカイン生成の変化が含まれる。したがって、MSCの集団を免疫学的および/または抗炎症性の作用物質として考えることは、信頼できそうである。新生児HIEの動物モデルは、増加するミク

10

20

30

40

50

ログリア活性化の証拠を明らかにした。さらに、中枢神経系の脈管系に、好中球が蓄積する。骨髄性細胞、T細胞およびナチュラルキラー細胞は、回復期の間脳損傷領域に浸潤し、免疫および/または炎症媒介性の脳損傷が、上記の通りASDの病因に一役を担うことを示唆する(Hagberg 2015)。したがって、hCT-MSCは、MSCの免疫調節活性があるので、HIEのための候補療法である可能性がある。さらに、複数の投薬レジメンは、応答の全体的率および期間を改善することができる。

【0128】

研究目的

HIEの新生児におけるhCT-MSCの単回および反復静脈内用量の安全性を決定すること。

10

【0129】

リスクおよび恩恵

hCT-MSCの注入に関連した潜在的リスクには、製品への反応(発疹、息切れ、喘鳴、呼吸困難、血圧低下、口、咽喉または目の周囲の膨潤、心頻拍、発汗)、感染症の伝染およびHLA感作が含まれる。考慮されなければならないが、ヒトにおいてMSC投与に関連付けられていない理論的なリスクには、免疫抑制および異所性組織形成の可能性が含まれる。hCT-MSCの製造で使用されるドナー臍帯組織で収集される臍帯血は、感染症についてスクリーニングされ、製品は注入の前にリリース判定基準を満たさなければならない(下に記載)。出産後の最初の日々におけるhCT-MSC用量の前のヒドロコルチゾンの単回用量、またはhCT-MSCの第2の注入より前のメチルプレドニゾロンおよびジフェンヒドラミン以外に、参加者は、hCT-MSC細胞の注入の前後に免疫抑制療法を受けない。

20

【0130】

この介入の潜在的恩恵には、hCT-MSCが、直接的または間接的な機構を通して、参加者のHIE関連の病理の低減、ならびに低酸素性虚血性損傷が影響を及ぼした能力、特に運動および/または認知機能の改善をもたらす変化を誘導することができる可能性が含まれる。

【0131】

研究設計 - 一般設計

この研究は、治療的低体温法のレシピエントである、中等度から重度のHIEの新生児における、hCT-MSCの1回または2回の静脈内用量の安全性を調査するように設計された、フェーズIの前向き非盲検試験である。中等度から重度の低酸素性虚血性脳症を有し、治療的低体温法を受けている、妊娠36 0/7週またはそれ以後に生まれた児童が、参加に適格である。全ての参加者は、hCT-MSCの静脈内注入(複数可)を受ける。3人の患者の第1のコホートは、出産後の最初の48時間以内に単回用量を受ける。安全性の懸念がないならば、3人の患者の第2のコホートは2回用量を受け、第1の用量は出産後の最初の48時間に与えられ、第2の用量は第1の用量の概ね2カ月後に与えられる。全ての参加者は、長年のDuke Intensive Care Nursery判定基準に示される通り、Eunice Kennedy Shriver NICHD Neonatal Research Network's Optimizing Hypothermia多施設臨床試験において使用される判定基準に基づいて、中等度から重度の新生児脳症のための低体温法を受ける(Shankaran et al., JAMA 2014, 312(24):2629-2639)。主要エンドポイントは安全性であり、そのために、急性注入反応および感染症の発生率が調査される。下に記載されるHIE特異的転帰尺度は、ベースライン時とベースラインから6カ月および1年後に調査され、結果が記載される。

30

40

【0132】

研究フローチャートが、図2に提供される。

【0133】

研究設計 - 研究エンドポイント

この研究の一次エンドポイントは安全性であり、それは、急性注入反応および感染症の

50

発生率を調査することを含む。

【0134】

さらに、製品投与の後の状態のいかなる変化も記載するために、HIEおよびHIE関連の合併症が調査される。死亡または中等度～重度の障害が、二次転帰として収集される。これは、全ての3つのドメインにおいてBayley IIIスコアで決定される。本発明者らは全ての登録小児のための全てのスコアを報告し、どれだけ多くの乳児が85またはそれより多い全ての3つのBayley IIIドメインスコアで生き延びたかも報告する。NICU転帰は、死亡、発作、肺高血圧、一酸化窒素の必要性およびECMOの必要性、退院時のGチューブ栄養補給の必要性、ならびに抗てんかん薬による退院を含む二次転帰ともみなされる。

10

【0135】

一次安全性エンドポイント：以下によって調査される：

1．注入反応の発生率：この研究において、注入反応は、皮膚発疹、気管支痙攣、血管性水腫、心筋梗塞、不整脈および急性肺損傷を含む臨床徴候を伴う、アナフィラキシー反応またはアナフィラキシー様反応と規定される

2．感染症の発生率：この研究において、安全性エンドポイントとして記録される感染症は、hCT-MSCの投与から2週間以内に培養または分子的方法によって同定される、細菌、ウイルスまたは真菌感染症と規定される。

【0136】

二次／探索的エンドポイント：

安全性尺度に加えて、以下のHIE特異的エンドポイントが調査される：

1．最初の入院からの退院より前の死亡

2．家への退院時の抗てんかん薬の必要性

3．家への退院時のgチューブまたは他の非経口栄養補給の必要性

4．肺高血圧（hCT-MSC注入の後に開始される、臨床医による一酸化窒素吸入の使用によって規定される）

5．hCT-MSC注入の後の任意の理由による体外膜型酸素供給（ECMO）の必要性。

6．認知、言葉および運動の発達における1年（出産後の12～16カ月）のBayley III調査。

20

30

【0137】

リサーチ参加者の選択および撤回 - 研究集団

HIEのために治療的低体温法を受ける中等度から重度のHIEを有する6人の新生児。

【0138】

リサーチ参加者の選択および撤回 - 組入基準

1．出産時に妊娠36～40週またはそれ以降。

2．出産後の最初の48時間にhCT-MSCの1回用量を受けることができ、3人の小児の第2のコホートの場合、第1の注入の2カ月後に細胞の第2の注入が可能である（この時点で一部の小児は外来患者であってもよい）。

3．1年の調査のために再訪する意欲。

4．Network's Optimizing Hypothermia Studyにおいて使用される2ステップ（AおよびB）アプローチを利用して、生後6時間のうちに脳症の徴候があり、治療的低体温法のための適格性を決定するために臨床的に使用される検査によって決定される、中等度または重度の低酸素性虚血性脳症のために治療的低体温法を開始するという臨床医の決定がある（Shankaran et al., JAMA 2014, 312(24):2629-2639）。低体温法の使用を決定するために使用されるDukeでの検査は、Network's Optimizing Cooling試験において訓練され、認定されたNNPもしくはMDによって実行されるか、または訓練された検査員によって議論され、精査される。検査は、Duke Electronic Health Reco

40

50

r dの中の「スマートフレーズ」を使用して文書化される。

【0139】

治療的低体温法のための詳細な適格基準：

・小児は、2ステップで評価される；臨床および生化学的判定基準による評価（利用可能な情報および血液ガス異常の重症度によってA1またはA2である、ステップA）と、続く神経学的検査（ステップB）

・小児がA1またはA2を満たすと、神経学的検査に進む。（パートBを参照）

○発作と規定される中等度/重度の脳症（「2」または「3」）の存在、または下の表の6つのカテゴリーのうち3つの徴候の存在。原始的反射などの1つより多い項目を有するカテゴリーでは、最も高いスコアを有する項目（SUCK、MORO）が、そのカテゴリーのために割り当てられる脳症のレベルを決定する

○神経学的検査は、医師検査員、または治療的低体温法の使用について決定する臨床医と共に資格認定検査を精査した非医師検査員によって実行される。

10

【0140】

ステップA1およびA2。全ての小児は、以下について評価される：

1．乳児は、妊娠 36週であるか？

2．急性の周産期事象（常位胎盤早期剥離、臍帯脱出、重度のFHR異常：変動一過性徐脈または晩発性徐脈）の病歴があるか？

3．10分でのアプガースコアが<5であるか、または、出生時に開始されて少なくとも10分間継続される換気の必要性が継続してあるか？

20

4．臍帯pHまたは出産から<1時間の最初の血液ガスpHは？

5．臍帯ガスまたは出産から<1時間の最初の血液ガスの塩基欠乏は？

【0141】

小児が判定基準A1またはA2（下の表4および5を参照）および判定基準Bを満たし、除外基準を満たさないならば、小児は適格であり、したがって研究登録に適格である。

【表4】

表4:

血液ガスが利用可能である場合:	血液ガスが利用可能でないか、 pHが7.0~7.15の間であるか、 または 塩基欠乏が10~15.9mEq/Lである場合
A1	A2
#1への答えが「YES」であり <input type="checkbox"/> 臍帯pHまたは出産から1時間以内の最初の血液ガスがpH<7.0(#4)であるか または <input type="checkbox"/> 臍帯ガスまたは出産から1時間以内の最初の血液ガスの塩基欠乏が>16mEq/L(#5)である	#1への答えが「Yes」であり <input type="checkbox"/> 急性の周産期事象(#2)、および <input type="checkbox"/> 10分でのアプガースコア<5(#3) または <input type="checkbox"/> 出生時に開始されて少なくとも10分間継続される換気の必要性が継続してある(#3)

30

40

【表5】

表5:パートB:神経学的調査

カテゴリー	各レベルのHIEの徴候		
	正常/軽度のHIE	中等度のHIE	重度のHIE
1.意識レベル	1	2 =嗜眠	3 =昏迷/昏睡
2.自発的活動	1	2 =活動低下	3 =活動なし
3.姿勢	1	2 =遠位屈曲、完全な伸長	3 =除脳
4.緊張	1	2a =緊張低下(局所または全身) 2b =緊張亢進	3a =弛緩 3b =硬直
5.原始的反射			
吸引	1	2 =弱い、または嘔む	3 =無し
モロ-	1	2 =不完全	3 =無し
6.自律神経系			
瞳孔	1	2 =収縮	3 =偏位/拡大/光に反応しない
心拍数	1	2 =徐脈	3 =変動性HR
呼吸	1	2 =定期的な呼吸	3 =無呼吸またはベンチレータを必要とする 3a=自発的呼吸があるがベントを使用 3b=自発的呼吸がなくベントを使用

10

20

【0142】

リサーチ参加者の選択および撤回 - 除外基準

1. 重大な先天的または染色体異常
2. 重度の成長制限 (出生時体重 < 1800g)
3. 研究は臨床処置または被験体の安全性に干渉する可能性があるとの新生児専門主治医による意見
4. さらなる処置が予定されない瀕死の新生児
5. 母体がB型肝炎またはHIVの未知の血清学を有する小児
6. HIV、B型肝炎、C型肝炎であることがわかっているか、または妊娠中に活動性梅毒もしくはCMV感染症を有する母親から生まれた小児
7. 抗し難い敗血症が疑われる小児
8. 生後最初の48時間以内にECMOが開始されるか、その可能性がある
9. 最初の60分以内に実行される全ての血液ガス(臍帯および出産後)が、pH > 7.15および塩基欠乏 < 10meq/Lを有している(供給源は動脈、静脈または毛細管であってもよい)
10. この妊娠の間に文書化されたジカ感染症を有する母体
11. 自家の体積および赤血球低減臍帯血細胞の無作為化治験において収集され、使用可能な自家臍帯血の利用可能性 (clinicaltrials.gov 識別子 NCT02612155)

40

【0143】

他の状態が起こり、先天性の状態(遺伝したか後天性の)が第2の注入の前に明らかになる可能性が認められる場合、以下の除外基準が、上に掲載した11個の判定基準に加えられ、第2の注入に適用される。

1. 感染性:
 - a. 公知の活動的なCNS感染症

50

- b . 記録または臨床調査に基づく制御されていない感染症の証拠
 c . 既知のH I V 陽性
- 2 . 医療 :
- a . 既知の代謝障害
 b . 既知の異常な甲状腺機能 (正常なT S Hを有する処置された甲状腺機能低下症の患者は含まれてもよい)
 c . 既知のミトコンドリア機能不全
 d . 不安定てんかんまたは制御されていない発作障害、幼児の痙攣、レノックスガストー症候群、ドラベ症候群または他の類似した慢性発作障害の病歴
 e . 化学療法で処置された活動的な悪性疾患または以前の悪性疾患 10
 f . 原発性免疫不全障害の病歴
 g . 自己免疫性血球減少 (すなわち、I T P、A I H A) の病歴
 h . 児童の研究手順の合併症の危険を増加させるだろう共存する医学的状态
 i . 将来の幹細胞移植を必要とするかもしれない同時の遺伝性または後天性の疾患または共存症 (複数可)
 j . 既知の顕著な感覚 (例えば、失明、聴覚障害、無修正の聴力障害) または運動障害
 k . 既知のジルベール病の患者を除く、血清クレアチニン > 1 . 5 m g / d L または総ビリルビン > 1 . 3 m g / d L によって決定される腎臓または肝臓機能障害
 l . ヘモグロビン < 1 0 . 0 g / d L、W B C 細胞 < 3 , 0 0 0 個 / m L、A L C < 1 0 0 0 / μ L、血小板 < 1 5 0 × 1 0 e 9 / μ L で規定される顕著な血液学的異常 20
 m . P I、または神経発達の状態に関連した異形症の特徴の同定の訓練を受けた医学的遺伝学者および精神科医を含む他の試験担当医によって調査される遺伝性症候群を示す、臨床的に関連した身体的異常形態の証拠。
- 3 . 現在 / 以前の療法 :
- a . 以前の細胞療法の履歴
 b . I V I G、またはN S A I D 以外の他の抗炎症性医薬品の現在または以前の使用
 c . 現在または以前の免疫抑制療法
 d . 2 週間を超えて持続した全身ステロイド療法はない ; 局所および吸入ステロイドは許可される。 30
- 【 0 1 4 4 】
 リサーチ参加者の選択および撤回 - リサーチ参加者の募集およびスクリーニング
 本発明者らは、妊娠 > 3 5 6 / 7 週であり、臨床チームが中等度から重度の新生児低酸素性虚血性脳症に対して治療的低体温法を提供することを決定し、出産後の最初の6時間以内に冷却が開始されたか開始される、D u k e I n t e n s i v e C a r e N u r s e r y に入院する全ての小児をスクリーニングする。
- 【 0 1 4 5 】
 新生児H I E のために自家臍帯血細胞の現在登録している無作為化試験のために臍帯血が収集されなかったならば (上の除外基準を参照)、臨床医療チームのメンバーは、同種異系のh C T - M S C のこのフェーズI 研究の基礎概念を適格新生児の家族に紹介する。 40
 家族がより多くを学習することに興味を持っている場合、臨床チームのメンバーはリサーチチームと接触する。次に、研究を詳細に議論し、研究への小児の参加のための同意を議論するために、リサーチチームのメンバーは、潜在的に適格な小児の家族に連絡する。
- 【 0 1 4 6 】
 リサーチ参加者の選択および撤回 - リサーチ参加者の初期の撤回
 プロトコル療法からの離脱のための判定基準 :
 1 . 評価または研究の間の遺伝性または感染性の疾患の診断。
 2 . 研究参加を妨げる医学的状态の変化。
- 【 0 1 4 7 】
 プロトコル療法を出た患者は、彼らが研究除外基準 (下を参照) を満たすまで追跡さ 50

れる。同意が撤回されない限り、経過観察データがプロトコル外の参加者で得られる。hCT-MSCの第1の注入の前、または、第2のコホートの場合は、第2の注入の前に研究から外された被験体は、評価が可能であるとみなされず、別の被験体と置き換えることができる。

【0148】

研究除外基準：

- 1．死亡。
- 2．追跡不能。
- 3．いかなるさらなるデータ収集に対する同意の撤回。
- 4．最終研究診察の完了。

10

【0149】

研究製品 - ヒト臍帯組織由来の間葉系間質細胞 (hCT-MSC)

hCT-MSCは、培養において拡大され、凍結保存され、バンクされる、消化された臍帯組織から製造される同種異系細胞の製品である。hCT-MSCは、乳児の母親からの書面によるインフォームドコンセントの後に、Duke University Medical CenterのFDAに認可されたFACT公認の公立の臍帯血バンクである、Carolinas Cord Blood Bankに供与された臍帯組織から製造される。臍帯組織は、正常な満期妊娠の後の待機的C切開によって出産された男の乳児の胎盤から採取される。ドナースクリーニング質問表が母親ドナーによって記入され、母体の血液は、Charlotte、NCにあるAmerican Red CrossのCLIA認定ドナースクリーニング研究室によって伝染性疾患に関して検査される。ドナーは、同種異系の使用のための公立臍帯血バンクへの供与のために適格でなければならない。胎盤および臍帯の分娩の後、臍帯血は胎盤から無菌的に排液させる。次に、臍帯を乾燥させ、クロロプレップで清浄にし、胎盤の基部から分離し、プラズマライトAを含有する無菌のボトルに入れ、検証された容器に入れて、室温でMarcus Center for Cellular Cures (MC3) GMP細胞プロセッシング研究室に運搬する。

20

【0150】

クリーンルーム製造スイートの、生物学的安全性キャビネットの中で、臍帯組織を培地から取り出し、無菌シャーレに置き、小片に切断し、次に細かく切り刻み、Miltenyi Biotec GentleMacs Octo Dissociatorの中でGMPグレードの酵素、ヒアルロニダーゼ、DNアーゼ、コラゲナーゼ、パパインによって消化する。結果として生じた細胞懸濁物を1%血小板溶解物入りのPrime XV MSC Expansion XSFM (Irvine Scientific) 培地中の培養に置き、集密まで増殖させて(約7~14日)P0培養物を確立する。マスター細胞バンクを確立するために、P0を採取し、Cryostor10培地(BioLife)入りのクリオバイアルに凍結保存し、液体窒素の気相に保管する。P1およびP2培養物は、投与のための作業用細胞バンクおよび製品をそれぞれ作製するために、必要に応じて、血小板溶解物無しのhyperflasksまたはhyperstacksの中で類似した条件の下で増殖させる。P1およびP2からの細胞は、TrypLE (Gibco)を使用してプラスチック培養容器から取り出す。最終生成物はP2培養物から誘導され、それらは5%ヒト血清アルブミンを有するプラズマライトに採取され、洗浄され、デキストランを有する10%DMSO (Akron Scientific)の最終濃度で細胞50,000,000~100,000,000個を含有する5mL中で、5個のコンパートメントクライオバッグ(Syngen)の中で凍結保存される。投与の日、1つのコンパートメントを解凍し、6~9mlのプラズマライトA+5%HSA IV溶液に希釈し、シリンジまたはバッグに入れ、30~60分間の投与のためにベッドサイドに運ぶ。

30

40

【0151】

各継代で、細胞生成物は、ミクログリア活性化のT細胞増殖および器官型モデルを通し

50

たフローサイトメトリーおよび機能的アッセイにより細胞表面表現型を調査することによって特徴付けられる。各ロットは、P2の凍結保存の前に、無菌性、エンドトキシンおよびマイコプラズマについても試験され、これらの試験は仕様を満たさなければならない。投薬のために、解凍および希釈後のリリース試験は、セロメーターを通したTNC C、生存度、グラム染色およびエンドトキシンを含む。解凍後の数に基づきhCT-MS C 2 × 10⁶個/kgが、参加者に投与される。

【0152】

この臨床試験のために、hCT-MS Cの1ロットが選択される。下の表6により、ロットは各用量レベルで1~2名の患者で試験される。合計6人の参加者が、2つの投薬レジメンで処置される。2回用量を受ける予定である3人の参加者については、各用量はhCT-MS C 2 × 10⁶個/kgからなり、用量は2カ月離して与えられる。

10

【表6】

表6

患者番号	用量の数	hCT-MS C ロット番号
1-1	1	1
	2	1
	3	1
1-2	4	2
	5	2
	6	2

20

【0153】

研究製品 - ドナースクリーニングおよび試験

この研究のために使用する臍帯組織は、Carolin as Cord Blood Bankへの臍帯血供与に同意したドナーから得られるので、彼らはCarolin as Cord Blood Bank標準操作手順によるドナースクリーニングおよび感染性疾患試験を受ける。臍帯血関連の母体試料および臍帯組織MS C試料は、この研究の一環として将来の試験のための参照試料として保持される。

30

【0154】

21CFRパート1271の全ての必要条件を満たすために、ドナースクリーニングおよび試験を、Carolin as Cord Blood Bankの標準操作手順により実行する。スクリーニングおよび試験は推奨通りであり、生物学的認可番号1870の下でFDAによって承認されている。臍帯血の母体ドナーは、HIV-1、HIV-2、B型肝炎ウイルス(HBV、表面およびコア抗原)、C型肝炎ウイルス(HCV)、Treponema pallidum(梅毒)、CJD(スクリーニングのみ)、シャガス病、ヒトTリンパ球向性ウイルス1型および2型(HTLV-1、HTLV-2)ならびにCMVに関してスクリーニングされ、試験される。HIV-1/2/O、HBV、WNVおよびHCVのための核酸試験も、母体血液で実行される。ジカウイルスのための母体ドナーのスクリーニングおよび試験も、実行される。

40

【0155】

研究製品 - プロセスおよび最終製剤

hCT-MS Cは、マスター細胞バンク、作業用細胞バンクおよび研究製品を作製する一連の3工程で、単一の臍帯組織から製造される。各工程の生成物は冷凍されて、液体窒素フリーザー内の気相の中で保存される。P2では、そのロットの製品による研究参加者における注入の前に、代表的なクライオバッグを解凍し、資格を与える。試験は、細胞数、生存度、表現型、機能的アッセイ、エンドトキシン、マイコプラズマ、グラム染色および無菌性を含む。

【0156】

注入の日、SOP CT2-MS C-006により細胞を解凍し、10~40mlのプ

50

ラズマライト - A + 5 % H S A に希釈し、細胞数、生存度および無菌性培養のためにアリコートを取り出す。細胞が 70 % 生存可能である場合、最終生成物の体積は、研究被験体に細胞 2×10^6 個 / kg を送達するように調整される。細胞は、プラズマライト A、5 % H S A および残留性 D M S O を含有するバッグまたはシリンジの中に入れてベッドサイドに届けられる。取り出されたいずれの細胞懸濁物も、無菌性試験のために好気性および嫌気性培養ボトルに接種される。細胞は、解凍後、4 時間の有効期限を有する。

【 0 1 5 7 】

解凍後の細胞数および生存度を試験した後に、h C T - M S C 最終生成物は、患者への投与のために条件つきでリリースされる。最終リリースは、研究製品のための 14 日の無菌性培養期間の後に行う。無菌性培養が製品の投与の後に陽性に転じる場合には、生物体が同定され、抗生物質感受性試験が実行される。研究において小児を看護する臨床医には、研究スタッフによって培養結果が知らされる。一部の小児の場合は外来患者の状況で起こるかもしれない第 2 の注入については、彼らが症候的である（例えば、発熱を有する）かどうか決定するために、患者の家族に接触する。被験体のために一次医療を提供する臨床医は、臨床評価および処置の必要性を調査する。製品を受け、以降の無菌性試験が陽性である全ての患者は、陽性の無菌性試験に気が付いてから 14 日間、研究チームメンバーによる毎日の接触で追跡される。

10

【 0 1 5 8 】

研究製品 - 研究製品のパッケージング

全ての臍帯組織は、I S B T Demand 128 バージョンラベルまたは一意の識別子を割り当てられ、それは全てのプロセス内および最終 h C T - M S C 製品を通して携行される。さらに、M C 3 G M P 施設は、各 h C T - M S C 製品のために最終製品ラベルを提供する。製品ラベルは、バーコードラベルを貼るためのスペース、ならびに被験体番号、製品有効期限の日付および時間、ならびに任意の他の関係情報のためのスペースを含む。被験体が登録されるにつれて、臍帯血組織に割り当てられる 12桁の I S B T 番号バーコード番号にリンクされる被験体番号が割り当てられる。最終製品は、分析証明書および製品ラベルの上に表されるロット番号（製造作業番号）ならびに有効期限の日付および時間が割り当てられる。被験体番号および製品の I S B T バージョン番号も、分析証明書の上に掲載される。全ての製品は、検証されたクーラーに入れられて、Marcus Center for Cellular Cures の G M P 研究室から集中治療育児室（第 1 の用量の場合）に、または Valvano Day Hospital（乳児が外来患者として投与される場合は第 2 の用量）に運搬人によって輸送される。

20

30

【 0 1 5 9 】

研究製品 - レシピエントの母親のスクリーニング

研究に登録される乳児は細胞製品を受けるので、規制は、彼女らの児童が臍帯血バンクに供与するかのように、細胞レシピエント乳児の母親がスクリーニングされることを要求する。臍帯組織ドナー母体に関して記載される全ての試験は、登録される小児の母体のためにも必要とされる（H I V - 1、H I V - 2、B 型肝炎ウイルス（H B V、表面およびコア抗原）、C 型肝炎ウイルス（H C V）、Treponema pallidum（梅毒）、C J D（スクリーニングのみ）、シャガス病、ヒト T リンパ球向性ウイルス 1 型および 2 型（H T L V - 1、H T L V - 2）ならびに C M V のための血液試料。H I V - 1 / 2 / O、H B V、W N V および H C V およびジカウイルスのための核酸試験）。登録小児の母親はまた、彼女らの乳児の臍帯血または臍帯組織が収集、処理および保存され、ならびに / または同種異系的に使用されることの許可を提供する母親が記入する健康状態質問表に対して、応答し、記入しなければならない。得られる試料は、この研究の一環として将来の試験のための参照試料として保持される。

40

【 0 1 6 0 】

研究製品 - 研究製品の投与

エントリー判定基準を満たす乳児については、細胞の第 1 の用量は、治療的低体温法の間できるだけ早く静脈内注入され、目標は、出産後の最初の 48 時間以内である。第 1

50

の注入については、被験体が臨床目的のためにヒドロコルチゾンを受けていないならば、各注入の30～60分前に小児はヒドロコルチゾン1mg/kg IVで前処理される。臨床的に指示されるとき、集中治療育児室において生命徴候（心拍数、血圧、体温、呼吸数）がモニタリングされる。注入の間中、および注入後の少なくとも60分間、パルスオキシメトリーが連続的にモニタリングされる。注入後の最初の1時間の間、15分ごとに被験体を観察し、生命徴候を記録し、その後、次の4時間の間標準治療によって文書化する。

【0161】

第2の注入については、一部の研究被験体は退院して家にいるかもしれない。これらの患者は、予定注入日に、注入施設に入院する。患者が安静にしていることも協力することもできない場合、患者はIV設置の前にある程度の鎮静を必要とするかもしれない。末梢IVは、臨床または研究スタッフによって置かれる。新生児期後の細胞注入のための標準手順により、患者は、ジフェンヒドラミン0.5mg/kg/用量のIVおよびメチルプレドニゾロン0.5～1mg/kg IVで前投薬される。hCT-MSCは、30～60分にわたって静脈内投与される。診療所に到着後、生命徴候（心拍数、血圧、体温、呼吸数）がモニタリングされ、および臨床的に指示されるとき、モニタリングされる。注入の間中、および注入後の少なくとも5分間、パルスオキシメトリーを連続的にモニタリングする。患者は、注入後の少なくとも1時間観察される。

10

【0162】

研究製品 - 安全性経過観察

注入関連の有害反応または合併症があれば調査するために、各注入から1日目に、研究スタッフは参加者に会う。第2の注入を受ける被験体については、注入の1日後に、研究スタッフが電話または電子メールを通して親または保護者を追跡調査する。hCT-MSCの各投与から14日後、患者の状態およびいかなる有害事象も調査するために、研究チームのメンバーは臨床スタッフ（患者が集中治療育児室になお入院中の場合）および親または保護者に、電話または電子メールを通して接触する。重大な有害事象について調査するために、最初の用量の2週後、ならびに2、6および12カ月後に、質問表による調査が実施される。

20

【0163】

研究計画 - 概要

組入基準を満たしている新生児を有する親/保護者は、この研究が可能であることを、その小児を看護する臨床スタッフから通知される。最初の接触の後、研究を説明し、基本的適格基準を検証し、参加への彼らの関心を確認するために、潜在的リサーチ参加者の親/保護者は、研究人員との最初の電話または対面インタビューを受ける。

30

【0164】

全てのスクリーニングが終了し、患者が研究判定基準を満たすようならば、臨床チームによって研究が家族に紹介される。研究への関心を親が臨床チームに表明している場合、研究チームはリサーチスタッフによりインフォームドコンセントを得ようと試みる。児童が適格であると考えられ、親（複数可）が同意する場合、彼/彼女は研究に登録され、hCT-MSC注入（複数可）を受ける予定に組まれる。参加者は、各注入の翌日に対面または電話により評価され、追跡調査の安全性評価のために、各注入の14日後にベッドサイドの看護者および/または親に接触する。第2の3人の参加者は、病院から退院した場合、出産後の最初の48時間以内の細胞注入から2カ月後の予定に組まれたhCT-MSC注入およびモニタリングのために、Dukeを再訪する。反復神経発達評価および安全性経過観察のために、全ての参加者は、最初の用量の6カ月後および1年後に経過観察調査のためにDuke's Special Infant Care Clinicを再訪する。

40

【0165】

研究計画 - 参加者スクリーニング

組入基準を満たし、除外基準を満たしていない小児のためにDuke Intensi

50

ve Care Nurseryへの入院を研究スタッフがスクリーニングすることを可能にするために、HIPAA認可の放棄およびインフォームドコンセントが求められる。除外基準が同定されないならば、臨床試験適格性を議論するために、研究スタッフは潜在的被験体を看護する臨床医に接触する。研究登録を続行するために、患者は、研究チームおよび臨床チームの両方の承認を得なければならない。スクリーニング過程で以前の診断未確定の状態に対する懸念または遺伝的所見が生じたならば、このことについて患者の親（複数可）/保護者（複数可）と議論し、必要性が示されるならば、評価および処置のために適切な医学的または精神医学的医療提供者に紹介される。

【0166】

研究計画 - hCT - MSC 注入

全ての被験体は、同種異系 hCT - MSC 細胞の少なくとも 1 回の注入を受ける。注入当日、hCT - MSC 細胞は、標準操作手順により MC3 GMP 研究室によって解凍され、調製されて、研究チームおよび Pediatric Blood and Marrow Transplant Program スタッフの監視下での、Duke Intensive Care Nursery または診療所における患者の注入のために提供される。ベースラインの生命徴候（心拍数、血圧、体温、呼吸数）が得られる。hCT - MSC の注入のために IV が使用可能でない場合は、末梢 IV が臨床スタッフ、麻酔、または研究チームのメンバーによって設置される。

10

【0167】

細胞の注入の前に、前投薬（出産後の最初の 48 時間の注入のためにヒドロコルチゾン、ならびに 2 カ月注入のためにジフェンヒドラミンおよびメチルプレドニゾン）が投与される。hCT - MSC は、30 ~ 60 分にわたって注入される。児童は、集中治療育児室または診療所において、注入後の最低 1 時間観察される。1.5 維持の IV 液（D5 1/2 NS）が、提供される。

20

【0168】

2 カ月用量を受ける患者は、全ての生命徴候が彼らのベースラインにあり、彼らが毒性の証拠もなく無症状であるならば、少なくとも 1 時間後に診療所から退院する。注入関連の有害反応または合併症があれば調査するために、注入の翌日、患者は研究スタッフによって評価される。注入の安全性を調査するための研究スタッフによる親/保護者への電話は、注入の 14 日後に実施される。

30

【0169】

2 カ月注入の場合、患者が、注入予定日に発熱 > 38.5 、嘔吐、下痢または呼吸窮迫を非限定的に含む病気の証拠を有するならば、注入は延期される。

【0170】

研究計画 - 予想外の事象の間の医療

患者の hCT - MSC 注入の間のじんま疹、呼吸困難または悪化する呼吸状態（注入の間の呼吸支援の増加、10% より多い $f i O_2$ の絶対的増加；注入の間の吸入一酸化窒素を開始する必要性）、咳、喘鳴または嘔吐を含む、アナフィラキシーの徴候または症状を患者が起こす場合には、注入は終了され、適切な医学療法が開始される。

40

【0171】

研究計画 - ベースライン検査室試験

以下のベースライン検査室調査が実行される：

母親のベースライン

- ・ ARC ドナーパネル試験のための母体の血液
- ・ 母体の ARC ドナー病歴質問表

出産後の最初の 48 時間以内に投与される用量の前の全ての参加者のベースライン

- ・ 参加者の HLA タイピング（口内スワブによる）
- ・ 差による CBC（SOC の一部）
- ・ ビリルビンを含む化学パネル（SOC の一部）
- ・ タイピングおよびスクリーニング（SOC の一部）

50

参加者のコホート 2 - 第 2 の注入 ; 2 カ月齢時の第 2 の注入前の検査室での採血。

- ・ 差による C B C
- ・ 完全な代謝パネル
- ・ パネル反応性抗体

【 0 1 7 2 】

注入の間と後のモニタリング - 生命徴候

生命徴候は、注入前、注入後の 6 0 分間、およびその後は病院のルーチンにより調査される。

【 0 1 7 3 】

注入の間と後のモニタリング - 代謝状態

中等度から重度の H I E を有する小児が低体温法で処置されるとき、これらの小児において、毎日の化学が日常的に得られる。血清電解質、C B C、B U N およびクレアチニン、ならびにしばしば肝臓機能検査が、ベースライン時、およびその後毎日モニタリングされる。本発明者らは、冷却期間および復温後の最初の 2 4 時間の間に臨床目的のために収集される代謝検査の結果を、症例報告書の形で記録する。

10

【 0 1 7 4 】

注入の間と後のモニタリング - 呼吸状態

中等度から重度の H I E の小児において、毎日の血液ガスは標準である。冷却および復温後の最初の 2 4 時間の間に臨床目的のために得られる毎日の血液ガスからの結果は、症例報告書の形で収集される。

20

【 0 1 7 5 】

注入の間と後のモニタリング - 神経状態

ベースライン時、冷却中は毎日、および退院時に、神経学的調査が実行される。これは、訓練された検査員によって実行される。

【 0 1 7 6 】

注入の間と後のモニタリング - 血液学的状態

H I E の小児にとって、凝固研究のモニタリングは日常的と考えられる。冷却および復温後の最初の 2 4 時間の間に臨床目的のために得られる P T / P T T 結果は、症例報告書の形で記録される。

30

【 0 1 7 7 】

注入の間と後のモニタリング - 神経イメージング

H I E 小児の M R I は、日常的に得られる。標準治療 M R I からの結果は研究のために記録され、本発明者らは、画像の臨床解釈から抽出される、N I C H D N e o n a t a l R e s e a r c h N e t w o r k (N R N) によって開発された損傷スコアで結果を記録し、報告する (Shankaran et al., Archives of Disease in Childhood, Fetal and Neonatal Edition 2012, 97(6):F398-404)。

【 0 1 7 8 】

注入の間と後のモニタリング - 注入後の調査

注入後の調査 :

- ・ 注入の 2 4 時間後の調査
- ・ 各注入の 1 4 日後 : (電話または対面) 質問表。
- ・ 2 カ月齢 : (電話または対面) 質問表。
- ・ 6 カ月齢 : 全ての参加者から得た試料での検査室研究 (C B C w / d i f f、C M P、直接的および間接的なクームズ、P R A) および質問表を含む対面調査。
- ・ 1 2 ~ 1 6 カ月齢 : B a y l e y I I I 検査およびラボ (C B C w / d i f f、C M P、直接的および間接的なクームズ、P R A) および質問表を含む対面調査。

40

【 0 1 7 9 】

統計的考慮事項 - 研究設計

この研究は、中等度から重度の新生児 H I E を有する新生児における、h C T - M S C の 1 回および 2 回の静脈内用量の安全性を調査するように設計された、フェーズ I の前向

50

き非盲検治験である。治療的低体温法で処置される中等度から重度の新生児HIEを有する新生児は、参加に適格であり得る。全ての参加者は、hCT-MSCの静脈内注入（複数可）を受ける。3人の患者の第1のコホートは、単回用量を受ける。安全性の懸念がないならば、3人の患者の第2のコホートは、概ね2カ月齢に第2の用量を受ける。主要エンドポイントは安全性であり、そのために、入院中に収集されるデータならびに電話および対面調査から急性注入反応および感染症の発生率が調査される。上記の生命徴候、代謝、呼吸、神経学的、血液学的な転帰が、調査される。最初のhCT-MSC注入から12（12～16）カ月後の神経発達の転帰、および結果が記載される。

【0180】

統計的考慮事項 - 増加

概ね1人のリサーチ参加者が毎月登録され、6人の被験体を登録するのに概ね6～8カ月分の増加が必要になると推定される。参加者への潜在的な研究療法関連のリスクが最小化されることを確実にするために、最終用量が以降のコホートの第1の被験体に与えられる前に、1つのコホートにおける最終用量の後に少なくとも1カ月の間隔が保たれる。例えば、被験体#3（コホート1の最後の被験体）がhCT-MSC注入を受ける時間と被験体#4（コホート2の第1の被験体）が第2のhCT-MSC注入を受ける時間との間に、少なくとも1カ月がある。

【0181】

統計的考慮事項 - 研究期間

リサーチ参加者は、hCT-MSCの最終用量の投与の後の10～12カ月間、安全性について追跡される。いずれかのルーチンの診察が欠落するか、予定を変更される場合、安全性転帰および全体の進行を調査するために、各注入の14日後および2カ月後に経過観察質問表調査がある。進行を調査する専門小児医療診療所での通常の臨床診察の時期である6および12（12～16）カ月時に、対面調査がある。

【0182】

統計的考慮事項 - 人口統計およびベースライン特徴

人口統計およびベースライン特徴が、全てのリサーチ参加者のために要約される。母親の年齢、人種経妊/経産状態を含む、母体の特徴が記録される。記録する妊娠の合併症には、慢性高血圧、1型または2型糖尿病、甲状腺機能亢進または低下症、子癇前症および分娩前出血）が含まれる。母親の投薬（慢性および分娩時の）が、記録される。母体の出産合併症（胎児心拍数減速、臍帯脱出、子宮破裂、常位胎盤早期剥離、母体の発熱、肩甲難産、母体の出血）が、記録される。検査される研究被験体の特徴には、妊娠期年齢、性別、人種/民族性、ならびに脳症のベースラインレベル（中等度または重度、NICHD研究判定基準に基づく）、院内出生（inborn）対院外出生（outborn）状態、1、5、10、15および20分のアプガースコア、適格な認定血液ガスおよび神経学的調査の詳細が含まれる。蘇生術の詳細も、記録される（陽圧および機械的換気の必要性、蘇生術、冷却および細胞注入の間に投薬を必要とする）。第1の注入の時点での特定の呼吸支援および投薬の使用による、冷却の間の投薬および換気の必要性が記録される。

【0183】

統計的考慮事項 - 一次エンドポイント

一次安全性尺度は、注入反応および注入後の感染症の発生率である。これは、注入時、各注入の24時間後、各注入の14日後、臨床チームによるいかなる再訪評価の後、および、6人の被験体（最初の3人は1回の注入のみを有する）の最終注入の各々の6カ月後に調査され、そのため、感染症および注入反応は、この単一の注入の後の12カ月間収集および報告され、第2の記録は12～16カ月時の神経発達調査診察時に実施される。2カ月時に第2の注入を受ける第2の3人の小児については、参加者が12～16カ月齢になるまで、感染症および注入反応が収集および報告される。一次および二次の転帰の結果は、記述的に報告される。

【0184】

統計的考慮事項 - 試料サイズおよび検定力計算

10

20

30

40

50

研究設計を考慮すると、選択される試料サイズは、臨床判断に基づくが、統計的考慮事項に基づかない。

【0185】

統計的考慮事項 - 二次エンドポイント

二次有効性エンドポイントには、第1/最終用量の12カ月後(12~16カ月齢)の生存および神経発達の調査、退院時の年齢、退院時の神経学的検査、退院時の抗てんかん薬の必要性、退院時の非経口栄養補給、心エコー図によって確認され、吸入一酸化窒素の必要性およびECMOの必要性によって規定される肺高血圧が含まれる。

【0186】

神経発達の調査のために、小児は3つのドメイン、運動、認知および言語発達におけるBayley III神経発達の調査結果を有する。

10

【0187】

探索的エンドポイントは、要約表、図面およびデータリストを使用して報告される。結果は、適宜記述的統計および統計検定を使用して要約される。連続的二次エンドポイントは、平均、標準偏差、CV%、メジアン、最小値および最大値を使用して要約される。対応するt検定に関連した95%信頼区間およびp値を含む、ベースラインからの変化の要約も提供される。データが正規分布していない場合は、正規分布に近づけるために変換を使用するか、ノンパラメトリック検定を使用する。生命徴候に関するベースラインからの変化は、細胞注入の前、その間および後に調査される。

【0188】

カテゴリー別の探索的エンドポイントは、各カテゴリーにおける数(頻度)およびパーセンテージを提示することによって要約される。カテゴリー別のデータは、頻度およびパーセンテージとして提示される。適切な場合はいつでも、カテゴリー別の転帰のベースラインからの変化のシフト表を作成することができる。変化に関して経時的に調査すべき特徴には、細胞の前に機械的換気が行われなかった小児が機械的換気を必要としたか否か、一酸化窒素を受けていなかった小児が一酸化窒素を受けたか否か、抗発作薬を受けていなかった小児が、その後発作と診断され、抗発作薬で処置されたか否かが含まれる。

20

【0189】

全ての統計的検定は、有意性を宣言するために、0.05のアルファレベルを使用する。二次有効性転帰については、調査のために予め指定された階層的な順序はなく、多重検定のための有意性レベルの調整も実行されない。

30

【 図 1 】



Figure 1.

【 図 2 】

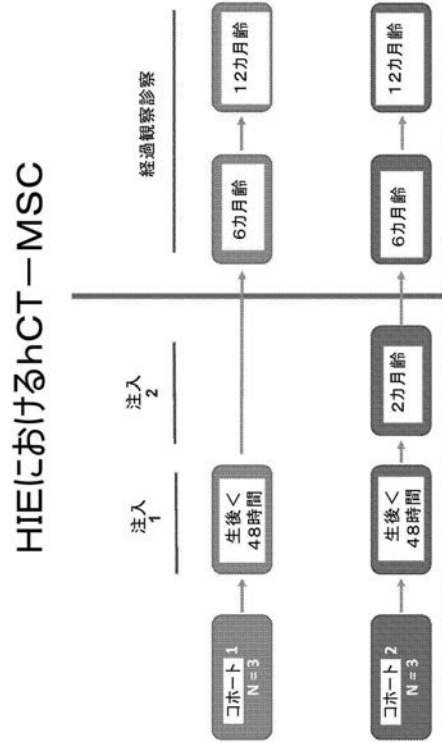


Figure 2.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2019/025796

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 35/12; A61K 35/28; A61K 35/35; A61K 35/51; A61P 19/02; A61P 19/08 (2019.01) CPC - A01N 1/0221; A61K 35/28; A61K 35/35; C12N 5/0667; C12N 2500/62; G01N 33/6893; G01N 2800/102; G01N 2800/105 (2019.05)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 424/85.2; 424/93.7; 424/141.1 (keyword delimited)		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X - Y	US 2017/0224736 A1 (INGENERON, INC.) 10 August 2017 (10.08.2017) entire document	1-3 4-6
X - Y	WO 2017/204231 A1 (THE UNIVERSITY OF TOKYO) 30 November 2017 (30.11.2017) entire document	7-12 4, 5, 13-18
Y	WO 2017/144552 A1 (CENTAURI BIOTECH, S.L.) 31 August 2017 (31.08.2017) entire document	6, 14, 15
Y	COTTEN et al. "Feasibility of Autologous Cord Blood Cells for Infants with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy," The Journal of Pediatrics, 01 May 2014 (01.05.2014), Vol. 164, No. 5, Pgs. 973-979. entire document	13-18
P, X	PENNY et al. "Human Umbilical Cord Therapy Improves Long-Term Behavioral Outcomes Following Neonatal Hypoxic Ischemic Brain Injury," Frontiers in Physiology, 22 March 2019 (22.03.2019), Vol. 10, No. 283, Pgs. 1-11. entire document	1-18
A	DONG et al. "Umbilical cord mesenchymal stem cell (UC-MSC) transplantations for cerebral palsy," American Journal of Translational Research, 15 March 2018 (15.03.2018), Vol. 10, Iss. 3, Pgs. 901-906. entire document	1-18
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 May 2019		Date of mailing of the international search report 02 JUL 2019
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2019/025796

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WANG et al. "Effect of umbilical cord mesenchymal stromal cells on motor functions of identical twins with cerebral palsy: pilot study on the correlation of efficacy and hereditary factors," Cytotherapy, 12 January 2015 (12.01.2015), Vol. 17, Iss. 2, Pgs. 224-231. entire document	1-18
A	US 2017/0042944 A1 (HARIRI et al) 16 February 2017 (16.02.2017) entire document	1-18

フロントページの続き

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(72)発明者 サン, ジェシカ

アメリカ合衆国 ノースカロライナ 27705, ダーラム, アーウィン ロード 2812
 , スイート 306, デューク ユニバーシティ

(72)発明者 ソング, アレン

アメリカ合衆国 ノースカロライナ 27705, ダーラム, アーウィン ロード 2812
 , スイート 306, デューク ユニバーシティ

(72)発明者 コットン, チャールズ マイケル

アメリカ合衆国 ノースカロライナ 27705, ダーラム, アーウィン ロード 2812
 , スイート 306, デューク ユニバーシティ

Fターム(参考) 4C087 AA01 AA02 BB59 BB63 CA04 MA66 NA14 ZA15 ZA36 ZB22