

厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療機器等レギュトリーサイエンス総合研究事業

幹細胞を利用した分化誘導培養による人工血液の開発に関する研究

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 千葉 滋

平成19年（2007）3月

目 次

I. 総括研究報告

幹細胞を利用した分化誘導培養による人工血液の開発に関する研究

東京大学医学部附属病院 千葉 滋 1

II. 分担研究報告

1. ヒト造血幹細胞の効果的な体外増幅に関する研究 9

東京大学医学部附属病院 千葉 滋

東京大学医学部附属病院 黒川 峰夫

東京大学医学部附属病院 鈴木 隆浩

東京大学医学部附属病院 原口 京子

2. ヒト ES 細胞からの好中球産生とその機能評価に関する研究 13

東京大学医学部附属病院 熊野 恵城

東京大学医学部附属病院 増田 茂夫

3. 血球の接着・活性化抑制能を向上させる新たな医療用材料に関する研究 15

東京大学医学部附属病院 高橋 孝喜

4. ヒト臍帯血の供給システムに関する研究 19

東京都赤十字血液センター 高梨 美乃子

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 25

IV. 研究成果の刊行物・別刷 29

I . 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
総括研究報告書

幹細胞を利用した分化誘導培養による人工血液の開発に関する研究

主任研究者

千葉 滋 東京大学医学部附属病院 無菌治療部 助教授

研究要旨：

現在血液製剤は献血事業に依存しているが、献血による輸血医療は、量的質的な供給の不安定性、感染の危険性など克服の容易ならざる問題を残している。本研究ではこうした現状に対し、ヒト臍帯血や骨髄に存在する体性造血幹細胞、およびヒト胚性幹(ES)細胞の自己複製能と多分化能を利用して、体外で赤血球・白血球・血小板などの各血球細胞の分化・増殖による人工血液産生法の開発を行い、供血者に依存する輸血医療を再構築することを目指すものである。今年度は次のような成果が得られた。

まず、骨髄幹細胞が生息する骨表面に類似した培養環境をめざし、NotchリガンドDelta1-Fcキメラタンパク質をコーティングしたハイドロキシアパタイト(骨の主成分)ビーズを作製した。これを用いて、ヒト臍帯血由来CD133陽性細胞を培養した。結果的には、過去の我々自身の方法(約6倍)が造血幹細胞の増幅にはもっとも効率よかった。一方、骨髄内にハイドロキシアパタイトを注入し追跡観察を行っている。

ヒト胚性幹(ES)細胞(KhES3)を培養し、高純度の好中球を得ることに成功した。KhES3細胞由来好中球は、組織染色で好中球特有の染色像を示し、活性酸素産生能、酵母貪食能・殺菌能、遊走能などの機能アッセイにおいても、末梢血から分離した好中球と比べ遜色ない結果を示した。ヒトES細胞由来好中球の機能解析はこれまで報告がなく、今後の臨床応用にとって重要なステップである。

人工血液を含めた血液接触性材料は、高い抗血栓性が求められる。我々は、生体適合性に優れる炭素[カーボン]および水素の非結晶化合物の一つであるダイヤモンドライクカーボン(DLC)へのフッ素添加によって製造されるフッ素添加DLC(F-DLC)膜の研究を進めてきた。今年度はF-DLC膜による素材への白血球の接着抑制効果およびその分子メカニズムの検討を行い、F-DLC膜がフィブリンノーゲン吸着を抑制する(アルブミン/フィブリンノーゲンを増加させる)ことで抗細胞接着性作用を表すことを明らかにした。

ヒト臍帯血の供給原は、臍帯血バンクで臨床に用いないことが決定されたユニットである。すなわち、臍帯血バンクでは、提供され調製保存施設に受け入れられる臍帯血のうち細胞数の多い50-60%のみが移植用として調製保存される。臍帯血の有効活用のために、移植のための細胞数基準に至らない場合には研究用に活用すべく研究者とのネットワークを構築した。この結果、全体の約3割、バンクとしての保存しない臍帯血のうち約6割が研究用に譲渡された。

分担研究者

- 黒川 峰夫
東京大学医学部附属病院
血液・腫瘍内科 教授
- 鈴木 隆浩
東京大学医学部附属病院
無菌治療部 助手
- 熊野 恵城
東京大学医学部附属病院
無菌治療部 CREST研究員
- 増田 茂夫

- 東京大学医学部附属病院
血液・腫瘍内科 医員
- 原口 京子
東京大学医学部附属病院
無菌治療部 リサーチレジデント
- 高橋 孝喜
東京大学大学院医学系研究科
輸血医学 教授
- 高梨 美乃子
東京都赤十字血液センター
臍帯血バンク 製剤部長

A：研究目的

現在血液製剤は献血事業に依存しているが、献血による輸血医療は、量的質的な供給の不安定性、感染の危険性など克服の容易ならざる問題を残している。本研究ではこうした現状に対し、ヒト臍帯血や骨髄に存在する体性造血幹細胞、およびヒト胚性幹細胞の自己複製能と多分化能を利用して、体外で赤血球・白血球・血小板などの各血球細胞の分化・増殖による人工血液産生法の開発を行い、供血者に依存する輸血医療を再構築することを目指すものである。

本年度は、幹細胞由来血球の輸血製剤化を目標として、次の項目について研究を推進することとした。すなわち、Delta1-Fcキメラタンパク質を用い、より効率よくヒト臍帯血由来造血幹細胞の体外増幅を行う方法の検討、ヒト胚性幹細胞からの好中球産生と機能解析、抗血栓性材料開発に向けたフッ素添加効果ダイヤモンドライクカーボン膜の抗血栓作用機序の解明、造血幹細胞研究の材料となる臍帯血供給システムの研究である。

B：研究方法

人工血液産生システムの確立を目指し、①ヒト造血幹細胞の効果的増幅、②ヒトES細胞からの好中球産生とその機能評価、③生体適合性に優れた血液接触性医療用材料の開発、の3テーマに取り組んだ。本研究では主にこれら3つの研究テーマに分担研究者を配置し、これに④ヒト臍帯血の供給システムについての研究を加えた、計4テーマについて研究を行った。

- ①ヒト造血幹細胞の効果的増幅：骨成分であるハイドロキシアパタイト(HA)でナイロンを皮胞したビーズにDelta1-Fcをコーティングし(D1-HAビーズ)、これをヒト臍帯血由来CD133陽性細胞を培養する際に混合した。1週間後の細胞数およびコロニー形成細胞を評価した。また、HA塊をマウス骨髄に注入し、組織学的な追跡観察を行った。
- ②ヒトES細胞からの好中球産生とその機能評価：京都大学で樹立されたKhES-3細胞を用いて研究を行った。まず、未分化状態を維持して増殖させたKhES-3細胞から胚様体(embryoid body, EB)を形成させた。EB形成細胞をシングルセルにし、マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)欠損マウスから樹立したストローマ細胞であるOP-9との共培養を、幹細胞因子(SCF)、トロポポエチン(TPO)、Flt-3リガンド(FL)、インターロイキン6-インターロイキン6受容体キメラタンパク質(FP6)、インターロイキン3(IL-3)の存在下で7日間行った。その後サイトカインを顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)に変更して約10日間培養し、この間の好中球への分化の経時的変化

と得られる好中球数を評価した。さらに、ピーク時に得られた好中球を用い、ペルオキシダーゼ染色、アルカリフォスファターゼ染色、NBT還元能、酵母貪食・殺菌能、遊走能を観察することにより、機能を評価した。

③生体適合性に優れた血液接触性医療用材料の開発：幹細胞から誘導された血球を輸血製剤として利用するためには、得られた血球が実際に使用されるまで正常機能を有し続けることが必須である。抗血栓性が期待されているフッ化ダイヤモンドライクカーボン(F-DLC)でポリカーボネイト基盤上に膜を作製し、基盤として用いた。今年度は、白血球付着の評価およびその機序解明のため、各種血漿蛋白質の付着との関連について解析した。

④ヒト臍帯血の供給システム：臍帯血バンクへの臍帯血提供の同意には、移植に至らない場合の研究用使用も含まれている。ただし移植医療に貢献できる研究でなければならない。東京都赤十字血液センター臍帯血バンクでは、研究用譲渡を希望する研究者から提出された研究計画書、当該施設の倫理委員会での研究承認書類等を臍帯血バンク研究審査部会に回覧し、2/3以上の賛成多数をもって承認とした。あらかじめ承認した研究者に対して、臍帯血が研究用と判断した時点で連絡した。

(本研究における倫理面への配慮)

本研究は出産後の産婦から提供された臍帯血を利用するため、臍帯血の提供に当たり以下の事項を確認、その内容は東京大学医学系研究科倫理委員会の審査・承認を受けた上で研究を開始している。(承認番号：351)

また、動物実験については「東京大学動物実験実施マニュアル」に従った研究を行い、適切な動物実験が行われるよう配慮した。

さらにヒトES細胞研究については、その内容に関して東京大学および文部科学省の厳正な審査を経た上で大臣確認を得ている。そして研究にあたっては、実験を許可された者がガイドラインに従った厳しい管理の下でES細胞を扱い、ヒトES細胞研究に要求される高度な倫理意識を保ちながら適切な研究が行われるよう配慮した。

C：研究結果

- ①ヒト造血幹細胞の効果的増幅：D1-HAビーズを混合したヒト臍帯血由来CD133陽性細胞の培養では、未熟細胞の割合が増加した。しかし、総細胞数は培養開始時の5倍までしか増えず、コロニーアッセイで同定可能な最も未熟な細胞であるCFU-mix細胞の絶対数は培養開始前とほぼ同じであった。一方、HA塊を直接マウス骨髄に注入することが可能であった。これらのマウスはコントロールマウ

スと外見上の差を認めていない。

②ヒトES細胞からの好中球産生とその機能評価：好中球の絶対数は、EB形成細胞の培養開始から11-14日目にピークとなった。好中球比率は18日目に80%以上に達した。これらは、酵素染色、NBT還元能、酵母貪食・殺菌能、遊走能のいずれの項目においても、正常人末梢血から調整した好中球とほぼ同等であった。すなわち、ヒトES細胞からはじめて機能的な好中球の産生に成功した。

③生体適合性に優れた血液接触性医療用材料の開発：昨年示した血小板のみならず、好中球もF-DLC膜によりポリカーボネイト基盤への付着が阻害された。さらに、この抗細胞接着性作用は、F-DLCがフィブリノーゲン吸着を抑制するためであることを明らかにした。

④ヒト臍帯血の供給システム：臍帯血の調製保存作業開始基準は、2006年10月より検査検体採取後に 10×10^8 個以上と厳しくしたため、保存率が低下した。保存にいたらない譲渡可能260件の主な理由は細胞数不足であった。研究者への譲渡時点では臍帯血は採取後およそ24時間内外であった。受入臍帯血単位中、30.6%が研究用に譲渡された。

D：考察

昨年までの研究で、Delta1-Fcを培養皿にコーティングして培養した場合、CFU-mixは200倍を越えて増幅され、造血幹細胞(SCID-repopulating cell, SRC)が6倍に増幅される結果が得られている。HAは骨の主成分であり、造血幹細胞の存在するニッチが骨表面にあることが明らかにされつつある。そこで、HAを用い、ここに造血幹細胞増幅効果のあるDelta1-Fcをコーティングすることにより、造血幹細胞に対してニッチと類似の環境を与えることができ、さらに造血幹細胞増幅効率が上がると期待した。しかし、少なくとも今年度取り組んだ方法では、CFU-mixの増幅が得られず、SRCが効率よく増幅されるという結果は得られないと考えられた。従って、昨年度までに行った方法が、現在のところもっとも有望な造血幹細胞体外増幅法である。一方、マウス骨髄内にHAを注入した実験では、ニッチ容積が増えることで造血幹細胞の絶対数が増えることが期待される。

ヒトES細胞から、はじめて機能的に評価可能な純度で好中球を産生させることに成功し、また実際に機能評価を行って、健常人末梢血好中球と比べて遜色ない機能を有することを示した。今後、より詳細に機能や形態について追求する必要がある。また、免疫不全マウスなど小動物に投与し、炎症巣への集積や感染防御能について検証することができれば、霊長類を含む大型動物での安全性や感染防御機能の検討を行う段階に入る。ただし、

現在の方法と培養規模では、 $10^5 - 10^6$ の好中球数しか得ることができないため、より大量の好中球を得る方法を確立する必要がある。

DLC膜にフッ素を添加することにより、膜表面にフッ素の作用によって血小板のみならず、白血球の接着の抑制することが示された。これは、ポリカーボネイト基盤の撥水性向上とともに、基盤に吸着するアルブミン/フィブリノーゲン吸着比が上昇することが一因と考えられた。今後、血液接触性の医療器具さらには、人工臓器や血管内埋め込みデバイスの表面コーティングとしても有望と考えられる。

臍帯血が研究用に譲渡できるかは予測が困難である。研究者によっては研究曜日が限られており、指定曜日および前回譲渡からの時間経過を勘案して臍帯血バンクから研究者宛に連絡した。臍帯血バンク運営効率化の為に細胞数の多い臍帯血のみを保存する方針が全国的にとられており、臍帯血採取に協力頂いても保存となる可能性が下がりつつある。臍帯血バンクに協力する妊産婦の意思を尊重し、産科スタッフの意欲を保つ為にも臍帯血が保存基準に満たない場合には有効活用を図るべきである。臍帯血バンクでも各種調製保存手技のバリデーションのために一部が使用されるが、更に研究にも協力し、よって医療に貢献すべきと考える。臍帯血が移植目的に保存されない理由のうちクロットについても、研究によっては活用できる。

E：結論

(1) ヒト臍帯血CD133陽性細胞を培養し造血幹細胞の体外増幅を図るには、Delta1-Fcを培養皿にコーティングする方法がもっとも優れている。ただし、骨成分であるハイドロキシアパタイトを利用する培養法は、今後さらに検討を加える必要がある。

(2) 京都大学で樹立されたヒトES細胞から高純度の好中球を産生した。機能解析の結果、健常人末梢血好中球と比べ全く遜色ない機能を有することが確認された。臨床応用への方向性が示された。

(3) DLC膜にフッ素を添加することにより、血小板だけでなく、好中球の基盤への接着も抑制された。これは、撥水性の向上とアルブミン/フィブリノーゲン吸着比の増大による考えられた。

(4) 臍帯血バンクの受入臍帯血のうち細胞数基準およびクロットにより保存できない臍帯血を採血後24時間内外で研究用に譲渡する事が可能である。組織的に全受入数の3割、保存されないものの6割を研究者に譲渡した。

F：健康危険情報

特に認められない。

G : 研究発表

1. 論文発表

1. Nakagawa K, Kanda Y, Yamashita H, Hosoi Y, Oshima K, Ohtomo K, Ban N, Yamakawa S, Nakagawa S, Chiba S. Preservation of ovarian function by ovarian shielding when undergoing total body irradiation for hematopoietic stem cell transplantation: a report of two successful cases. *Bone Marrow Transplant*. 37:583-587, 2006
2. Hosoya N, Sanada M, Nannya Y, Nakazaki K, Wang L, Hangaishi A, Kurokawa M, Chiba S, Ogawa S. Genomewide screening of DNA copy number changes in chronic myelogenous leukemia with the use of high-resolution array-based comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 45:482-494, 2006
3. Asano-Mori Y, Kanda Y, Oshima K, Watanabe T, Shoda E, Motokura T, Kurokawa M, Chiba S. Pharmacokinetics of ganciclovir in haematopoietic stem cell transplantation recipients with or without renal impairment. *J Antimicrob Chemother* 57:1004-1007, 2006
4. Yamashita H, Izutsu K, Nakamura N, Shiraishi K, Chiba S, Kurokawa M, Tago M, Igaki H, Ohtomo K, Nakagawa K. Treatment results of chemoradiation therapy for localized aggressive lymphomas: a retrospective 20-year study. *Ann Hematol* 85:523-529, 2006
5. Haraguchi K, Takahashi T, Nakahara F, Matsumoto A, Kurokawa M, Ogawa S, Oda H, Hirai H, Chiba S. DC1d expression level in tumor cells is an important determinant for antitumor immunity by natural killer T cells. *Leuk Lymphoma* 47:2218-2223, 2006
6. Suzuki T, Yokoyama Y, Kumano K, Takanashi M, Kozuma S, Takato T, Nakahata T, Nishikawa M, Sakano S, Kurokawa M, Ogawa S, Chiba S. Highly efficient *ex vivo* expansion of human hematopoietic stem cells using Delta1-Fc chimeric protein. *Stem Cells* 24:2456-2465, 2006
7. Nakagawa M, Ichikawa M, Kumano K, Goyama S, Kawazu M, Asai T, Ogawa S, Kurokawa M, Chiba S. AML1/Runx1 rescues Notch1-null mutation-induced deficiency of para-aortic splanchnopleural hematopoiesis. *Blood* 108:3329-34, 2006
8. Oshima K, Kanda Y, Nakahara F, Shoda E, Suzuki T, Imai Y, Watanabe T, Asai T, Izutsu K, Ogawa S, Motokura T, Chiba S, Kurokawa M. Pharmacokinetics of alemtuzumab after haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab with or without CD52-positive malignancies. *Am J*

Hematol. 81:875-879, 2006

9. Nitta E, Izutsu K, Sato T, Ota Y, Takeuchi K, Kamijo A, Takahashi K, Oshima K, Kanda Y, Chiba S, Motokura T, Kurokawa M. A high incidence of late-onset neutropenia following rituximab-containing chemotherapy as a primary treatment for CD20-positive B-cell lymphoma: a single institution study. *Ann Oncol* 18: 364-369, 2007
10. Chiba S. Notch signaling in stem cell systems. *Stem Cells* 24:2437-2447, 2006
11. Hasebe T, Yohena S, Kamijo A, Okazaki Y, Atsushi H, Takahashi K, Suzuki T. Fluorine doping into diamond-like carbon coatings inhibits protein adsorption and platelet activation. *J Biomed Mater Res Part A* (in press)
12. Hasebe T, Ishimaru T, Kamijo A, Yoshimoto Y, Yoshimura T, Yohena S, Kodama H, Hotta A, Takahashi K, Suzuki. Effect of surface roughness on antithrombogenicity of diamond-like carbon films. *Diamond Relat Mater* (in press)
13. 高梨美乃子. 臍帯血造血幹細胞の評価方法とその標準化. 臍帯血移植(編集: 原 宏), 2006, 新興出版社, 東京 pp47-56
14. 高梨美乃子. 臍帯血バンク、組織活動と内容. 血液・腫瘍科[特別増刊号「造血幹細胞移植のすべて」]. (in press)

2. 学会発表

<海外学会>

1. Hasebe T, Kamijo A, Kobayashi E, Yamamoto K, Koga Y, Takahashi T, Suzuki T. Biomaterial-Related Thrombosis: Possible mechanism of antithrombogenicity in diamond-like carbon and fluorinated diamond-like carbon films for blood-contacting medical devices. International Conference on Metallurgical Coatings and Thin Films (ICMCTF 2006), San Diego, CA, USA, May 1 - 5, 2006
2. Yoshimura Y, Hasebe T, Yohena S, Ishimaru T, Yoshimoto Y, Saito T, Hotta A, Kamijo A, Takahashi K, Suzuki T. Evaluation of leukocyte adhesion on fluorinated diamond-like carbon (F-DLC) films. International Conference on Metallurgical Coatings and Thin Films (ICMCTF 2006), San Diego, CA, USA, May 1 - 5, 2006
3. Kumano K, Masuda S, Sata M, Saito T, Lee S-Y, Yanagimoto-Sakata M, Tomita T, Iwatsubo T, Natsugari H, Kurokawa M, Ogawa S, Chiba S. Both Notch1 and Notch2 contribute to the regulation of melanocyte stem cells. 4th International Society of Stem Cell Research Annual Meeting, Toronto,

- Canada, June 29 - July 1,
4. Suzuki T, Kodama H, Hotta A, Hasebe T, Kamijo A, Takahashi K. Diamond-like carbon films for medical and packing application. 17th European Conference on Diamond, Diamond-Like Materials, Carbon Nanotubes, and Nitrides, Estoril, Portugal, September 3 - 8, 2006
 5. Hasebe T, Kamijo A, Takahashi T, Goto K, Yohena S, Takeuchi Y, Hotta A, Takahashi K, Suzuki T. Surface coating of catheters with a biomembrane-like polymer for preventing thrombosis. Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe (CIRSE) 2006, Rome, Italy, September 9 - 13, 2006
 6. Hasebe T, Kamijo A, Hotta A, Takahashi K, Suzuki T. Application of diamond-like carbon for blood-

contacting medical devices. International Workshop on the Application of Nanocrystalline Diamond like Carbon Materials (IWAnDLC-2006), Saha Institute of Nuclear Physics, Kolkata, India, November 28-December 1, 2006

<国内学会>

1. 萩原真美, 長谷部光泉, 上條亜紀, 佐本篤紀, 堀田 篤, 高橋孝喜, 鈴木哲也. ダイヤモンド及び炭素同素体上の抗血栓性評価. 第20回ダイヤモンドシンポジウム, 東京都(2005.11月)学会最優秀ポスター賞

H: 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

Ⅱ. 分担研究報告

分担研究報告書

ヒト造血幹細胞の効果的体外増幅に関する研究

分担研究者

千葉 滋 東京大学医学部附属病院 無菌治療部 助教授
黒川 峰夫 東京大学医学部附属病院血液・腫瘍内科 教授
鈴木 隆浩 東京大医学部附属病院 無菌治療部 助手
原口 京子 東京大医学部附属病院 無菌治療部 リサーチレジデント

研究要旨：

ヒト臍帯血から造血幹細胞を濃縮する際、従来のCD34陽性細胞選択ではなく、CD133陽性細胞選択の方が造血幹細胞を約5倍多く収集可能であることを明らかにした。これらのCD133陽性細胞を無血清・無フィーダー条件下でヒトDelta1-Fcキメラタンパク質を培養皿にコートして培養することにより、長期造血再構築可能な造血幹細胞をこれまでの報告の中でもっとも効率よく増幅することに成功した。今年度はさらに、骨髓内により近い環境での培養を試みるため、人体の骨の主成分であるハイドロキシアパタイトを表面に有するビーズにDelta1-Fcキメラタンパク質をコーティングし、より骨髓近い条件での培養を試みた。しかしこの方法では、前年度までに我々が行った方法を凌駕できなかった。結局、ヒトDelta1-Fcキメラタンパク質を培養皿にコートして培養する方法が、もっとも効率的にヒト臍帯血由来CD133陽性細胞をソースとして造血幹細胞を増幅できることが明らかになった。

A：研究目的

前年度までに、我々はヒト臍帯血CD133陽性細胞を無血清・無フィーダー条件下でヒトDelta1-Fcキメラタンパク質を培養皿にコートして培養することにより、長期造血再構築可能な造血幹細胞をこれまでの報告の中でもっとも効率よく増幅することに成功している。今年度は本法を更に発展させ、人体の骨の主成分であるハイドロキシアパタイトを表面に有するビーズにDelta1-Fcキメラタンパク質をコーティングしたものを準備し、これと造血幹細胞を共培養することで更に効率の良い培養法を確立することを目的とした。

B：研究方法

インフォームドコンセントを得て提供された臍帯血から単核球を分離し、CD133磁気ビーズを用いてCD133陽性細胞を分取した。

一方ハイドロキシアパタイトビーズは、平均直径200 μ mのCELLYARD®ビーズ（図1）を使用し、本ビーズをDelta1-Fcキメラタンパク質あるいはコントロールFcタンパク質溶液中で37℃、1時間反応させることでDelta1-FcあるいはFcタンパク質をその表面にコートした。

得られたCD133陽性細胞を、我々が既に確立しているstem cell factor (SCF)、thrombopoietin (TPO)、flt-

3 ligand (FL)、IL-6、IL-6/可溶性IL-6受容体キメラ蛋白 (FP6)、IL-3等を含む無血清培地中でDelta1-FcコーティングビーズおよびFcコーティングコントロールビーズと共培養した。そして培養後の総細胞数および最も未分化な分画であるCD133+CD34+CD38-細胞数を測定し、培養皿に直接タンパクをコーティングした場合と増幅効率を比較した。また、培養後の細胞でコロニーアッセイを行い、未分化混合コロニー(CFU-Mix)の増加率を比較した。

（本研究における倫理面への配慮）

本研究は出産後の産婦から提供された臍帯血を利用するため、臍帯血の提供に当たり以下の事項を確認、その内容は東京大学医学系研究科倫理委員会の審査・承認を受けた上で研究を開始している。（承認番号：351）

①提供者の人権保護

東京大学医学部附属病院で臍帯血の提供を受ける場合は、対象者本人に研究の趣旨を理解してもらい、臍帯血の提供は本人の自由意志によってのみ行われるものとする。提供を拒否した場合も何ら臨床的不利益を蒙らないことを保障する。説明同意文書の内容を本人に極力分かり易い言葉で説明し、説明同意文書2部を作製して本人に渡したうえで文書による同意を得る。説明同意文書に本人の自由意志で同意

の署名がなされた後に、この文書の1部を本人に提供する。

提供者の個人を特定できる情報は、いかなる場所にも公表されない。学術会議および学術誌上での結果の発表が行われる場合でも、提供者個人を特定し得る情報は完全に守秘される。

東京都赤十字血液センターが提供を受ける臍帯血についても、同血液センター医学倫理委員会承認済の同様の倫理的配慮に基づいて処理が行われている。

②対象者に対する不利益・危険性

提供者である産婦・新生児に危険が生じることはない。臍帯血採取に当たり身体的不快は全くなく、娩出後の胎盤に接続している臍帯から血液を採取するが、実際に産婦はこの光景を見ることにはならないため、直接的精神的不快もない。

また、動物実験については「東京大学動物実験実施マニュアル」に従った研究を行い、適切な動物実験が行われるよう配慮した。

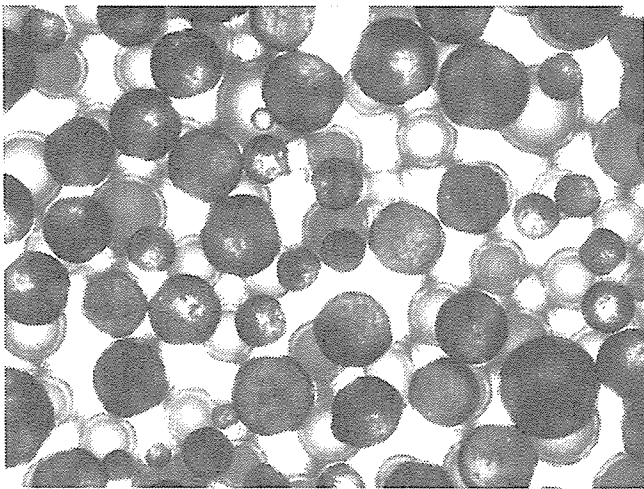


図1：本研究に使用したハイドロキシアパタイトビーズ

C：研究結果

CD133陽性細胞をFcコーティングコントロールビーズ(Fc CY)、Delta1-Fcコーティングビーズ(D1 CY)と8日間共培養し、培養皿に直接Fcをコートした場合(Fc)およびDelta1-Fcをコートした場合(D1)と比較した。その結果ビーズを使用した場合、総細胞数の増加はビーズを用いない場合に比べD1、Fc共に抑制されることが明らかとなった(図2)。

また、最も未分化な分画と考えられるCD133+CD34+CD38-細胞も同様に、ビーズと共培養した場合細胞数の増加は抑制されていた(図3)。

そこで、培養後の細胞に含まれる未分化造血細胞数を評価するためコロニーアッセイを行ったところ、Delta1-Fcを利用した培養において、最も未分化な細胞を反映する混合コロニー(CFU-Mix)数はビーズ培養法においてはほぼ同等かむしろやや減少しており

(図4)、ビーズを用いた場合でもCFU-Mixの増幅効率は増加しないことが明らかとなった。

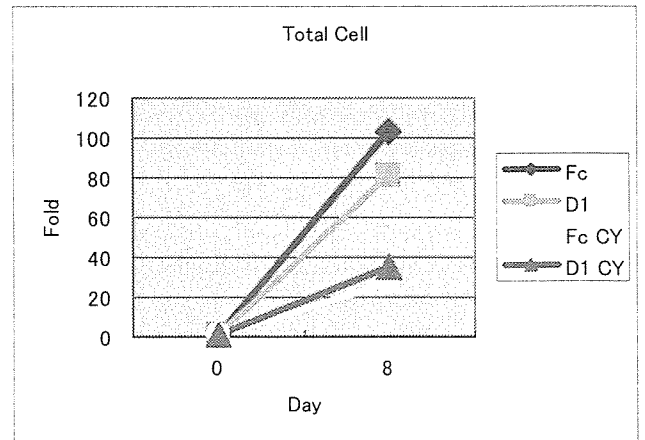


図2：CD133陽性細胞をビーズと共培養した場合、培養皿に直接コートした場合と比較して、細胞数の増加は抑制された。

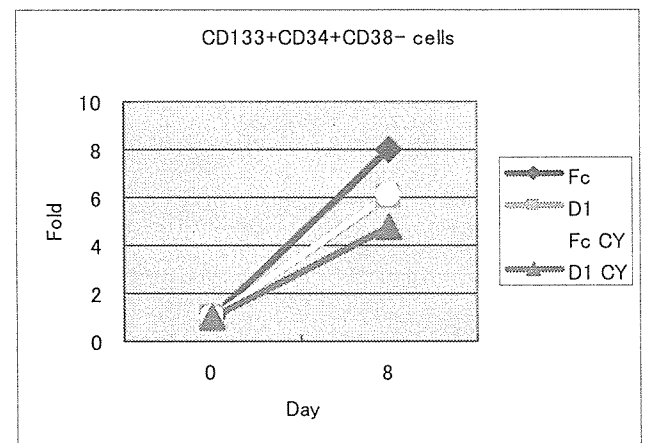


図3：未分化血液細胞分画であるCD133+CD34+CD38-細胞数もビーズとの共培養では培養皿直接コートと比較して細胞数の増加は抑制されていた。

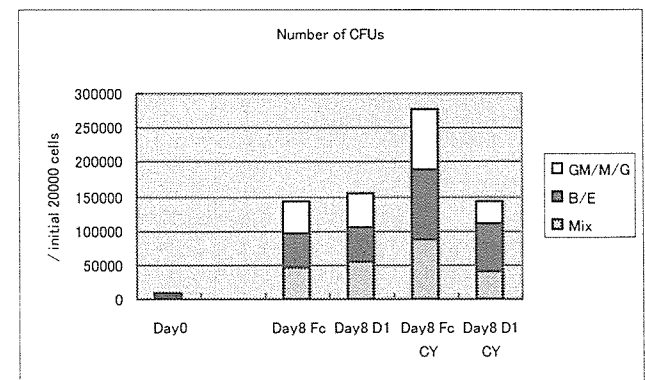


図4：Delta1との共培養において、混合コロニー形成細胞数はビーズ使用の場合、ほぼ同等かむしろやや減少していた。

D：考察

造血幹細胞はDelta1を培養系に加えることにより

効果的に増幅することが出来るが、今回我々はさら
トビーズ表面にDelta1をコートし、より骨髓内生
理的条件下に近いと思われる環境で培養を試みた。
しかし、本条件においても未分化造血コロニーの増
加は認められず、Delta1は従来通り培養皿底面に直
接コートするのが最も効果的であると考えられた。

本知見は今後当技術を臨床応用するに当たって重
要な情報になると期待される。

E：結論

ヒト臍帯血造血幹細胞はDelta1との共培養で効率的
に増幅することが出来るが、Delta1-Fcキメラタン
パク質は培養皿にコートして培養する方法が、もっ
とも効率的にヒト臍帯血由来CD133陽性細胞をソー
スとして造血幹細胞を増幅できることが明らかにな
った。

F：健康危険情報

特に認められない。

G：研究発表

1. 論文発表

1. Nakagawa K, Kanda Y, Yamashita H, Hosoi Y, Oshima K, Ohtomo K, Ban N, Yamakawa S, Nakagawa S, Chiba S. Preservation of ovarian function by ovarian shielding when undergoing total body irradiation for hematopoietic stem cell transplantation: a report of two successful cases. **Bone Marrow Transplant.** 37:583-587, 2006
2. Asano-Mori Y, Kanda Y, Oshima K, Watanabe T, Shoda E, Motokura T, Kurokawa M, Chiba S. Pharmacokinetics of ganciclovir in haematopoietic stem cell transplantation recipients with or without renal impairment. **J Antimicrob Chemother** 57:1004-1007, 2006
3. Yamashita H, Izutsu K, Nakamura N, Shiraishi K, Chiba S, Kurokawa M, Tago M, Igaki H, Ohtomo K, Nakagawa K. Treatment results of chemoradiation therapy for localized aggressive lymphomas: a retrospective 20-year study. **Ann Hematol** 85:523-529, 2006
4. Haraguchi K, Takahashi T, Nakahara F, Matsumoto A, Kurokawa M, Ogawa S, Oda H, Hirai H, Chiba S. DC1d expression level in tumor cells is an important determinant for antitumor immunity by natural

にその効率を上げるため、ハイドロオキシアパタイ
killer T cells. **Leuk Lymphoma** 47:2218-2223, 2006

5. Suzuki T, Yokoyama Y, Kumano K, Takanashi M, Kozuma S, Takato T, Nakahata T, Nishikawa M, Sakano S, Kurokawa M, Ogawa S, Chiba S. Highly efficient *ex vivo* expansion of human hematopoietic stem cells using Delta1-Fc chimeric protein. **Stem Cells** 24:2456-2465, 2006
6. Nakagawa M, Ichikawa M, Kumano K, Goyama S, Kawazu M, Asai T, Ogawa S, Kurokawa M, Chiba S. AML1/Runx1 rescues Notch1-null mutation-induced deficiency of para-aortic splanchnopleural hematopoiesis. **Blood** 108:3329-34, 2006
7. Oshima K, Kanda Y, Nakahara F, Shoda E, Suzuki T, Imai Y, Watanabe T, Asai T, Izutsu K, Ogawa S, Motokura T, Chiba S, Kurokawa M. Pharmacokinetics of alemtuzumab after haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab with or without CD52-positive malignancies. **Am J Hematol.** 81:8750879, 2006
8. Chiba S. Notch signaling in stem cell systems. **Stem Cells** 24:2437-2447, 2006

2. 学会発表

<国際学会>

“Highly Efficient Ex Vivo Expansion of Human Hematopoietic Stem Cells Using Delta1-Fc Chimeric Protein.” Suzuki T, Yokoyama Y, Kumano K, Takanashi M, Kozuma S, Takato T, Nakahata T, Nishikawa M, Sakano S, Kurokawa M, Ogawa S, Chiba S. The American Society of Hematology 48th Annual Meeting and Exposition, December 9-12, 2006, Orlando, Florida, USA.

<国内学会>

該当なし

H：知的財産権の出願・登録状況

該当なし

分担研究報告書

ヒトES細胞からの好中球産生とその機能評価に関する研究

分担研究者

千葉 滋 東京大学医学部附属病院無菌治療部 助教授
熊野 恵城 東京大学医学部附属病院無菌治療部 クレスト研究員
増田 茂夫 東京大学医学部附属病院 血液腫瘍内科 医員

研究要旨：

京都大学で樹立されたヒト胚性幹細胞KhES-3を未分化状態で増殖させ、胚様体(embryoid body, EB)形成を経て、OP-9ストローマ細胞をフィーダーとし、適切なサイトカインを加えて培養することにより、高い純度のヒトES細胞由来好中球産生に成功した。好中球の絶対数は、EB細胞の培養開始から15-18日目にピークとなった。これらの好中球の機能について、酵素染色、NBT還元能（活性酸素産生能）、酵母貪食・殺菌能、遊走能のいずれの項目においても、正常人末梢血から調整した好中球とほぼ同等であった。すなわち、ヒトES細胞からはじめて機能的な好中球の産生に成功した。今後、より詳細に機能や形態について追求する必要がある。また、免疫不全マウスなど小動物に投与し、炎症巣への集積や感染防御能について検証することができれば、霊長類を含む大型動物での安全性や感染防御機能の検討を行う段階に入る。

A：研究目的

体性造血幹細胞に由来する血球産生技術の最大の障害は、産生される血球の量的な制限と医療用幹細胞ソースの問題である。1990年代後半から樹立がはじまったヒト胚性幹細胞（ヒトES細胞）は、未分化性を保持したまま培養皿で無限に増殖し、かつあらゆる細胞への分化が可能な細胞である。従って目的とする血球への分化技術が完成すれば、上記のような体性造血幹細胞が包含する問題は解決される。我が国では、京都大学の中辻博士らによってヒトES細胞KhES-1, KhES-2, KhES-3が樹立され、配布が開始されている。今年度我々はKhES-3細胞を用いて、ヒト胚性幹細胞からの好中球産生と機能解析を行った。

B：研究方法

京都大学で樹立されたKhES-3細胞を用いて研究を行った。まず、未分化状態を維持して増殖させたKhES-3細胞を18日間分化誘導培養し、胚様体(embryoid body, EB)を形成させた。EB形成細胞をシングルセルにし、マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)欠損マウスから樹立したストローマ細胞であるOP-9との共培養を、幹細胞因子(SCF), トロンボポエチン(TPO), Flt-3リガンド(FL), インターロイキン6-インターロイキン6受容体キメラタンパク質(FP6)、インターロイキン3(IL-3)の存在下で7日間行

った。その後サイトカインを顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)に変更して7日間培養し、この間の好中球への分化の経時的変化と得られる好中球数を評価した。さらに、得られた好中球を用い、ペルオキシダーゼ染色、アルカリフォスファターゼ染色、NBT還元能、酵母貪食・殺菌能、遊走能を観察することにより、機能を評価した。

（本研究における倫理面への配慮）

本研究は全能性幹細胞であるヒトES細胞を用いるものであり、ES細胞は万一ヒト胚に戻された場合には個体発生も理論上可能であるため、研究を行う場合はその内容について厳しい倫理審査を経ることが義務づけられている。本研究は所定の手続き・審査を経て、東京大学および文部科学大臣の承認を受けている。そして研究にあたっては、実験を許可された者がガイドラインに従った厳しい管理の下でES細胞を扱い、ヒトES細胞研究に要求される高度な倫理意識を保ちながら適切な研究が行われるよう配慮した。

C：研究結果

好中球の絶対数は、EB形成細胞の培養開始から11-14日目にピークとなった。好中球比率は18日目に80%以上に達した(図1)。

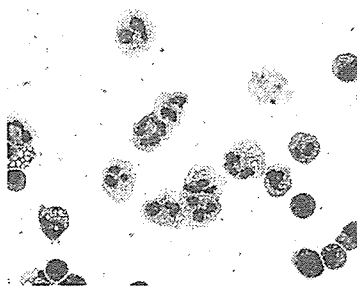


図1：ES細胞から產生された好中球

これらは、酵素染色(図2)、NBT還元能、酵母貪食・殺菌能(図3)、遊走能のいずれの項目においても、正常人末梢血から調整した好中球とほぼ同等であった。すなわち、ヒトES細胞からはじめて機能的な好中球の產生に成功した。

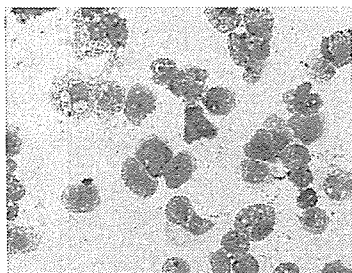


図2：アルカリフォスファターゼ染色で青染(陽性)した好中球

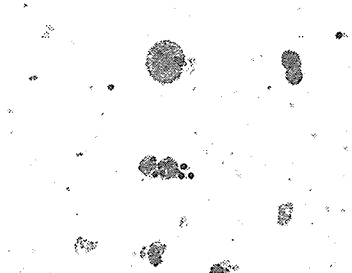


図3：酵母を貪食する好中球

D：考察

ヒトES細胞から、はじめて機能的に評価可能な純度で好中球を產生させることに成功し、また実際に機能評価を行って、健常人末梢血好中球と比べて遜色ない機能を有することを示した。今後、より詳細に機能や形態について追求する必要がある。また、免疫不全マウスなど小動物に投与し、炎症巣への集積や感染防御能について検証することができれば、霊長類を含む大型動物での安全性や感染防御機能の検討を行う段階に入る。ただし、現在の方法と培養規模では、 10^5 – 10^6 の好中球数しか得ることができないため、より大量の好中球を得る方法を確立する必要がある

E：結論

京都大学で樹立されたヒトES細胞から高純度の好中球を產生した。機能解析の結果、健常人末梢血好中球と比べ全く遜色ない機能を有することが確認された。臨床応用への方向性が示された。

F：健康危険情報

特に認められない。

G：研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H：知的財産権の出願・登録情報

該当なし

分担研究報告書

血球の接着・活性化抑制能を向上させる新たな医療用材料に関する研究

分担研究者

高橋孝喜 東京大学医学部附属病院 輸血部 教授

研究要旨：

近年、医療用治療器具や医療用インプラント機器などが急速的に開発され普及している。いずれも体内留置や血液接触性材料の利用にあたり、ヘパリンをはじめとした生物学的抗血栓作用を併用する必要があるため、素材そのものが高い抗血栓性を保持する材料の開発が求められている。臍帯血や人工血小板または、分化誘導によって得られた血小板、白血球等血液細胞の培養保存や長期保存に関しても、これら血球を浮遊させた状態で、かつ、細胞活性化を極力低減させるような医療材料の開発が要求される。従来細胞培養関連にはポリスチレンや、ポリカーボネイト、ポリエチレンテレフタレートなど生体適合性に比較的優れている素材が用いられているが、今日では素材自体に更なる機能付加が要求されている。

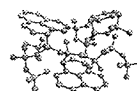
生体適合性に優れる炭素〔カーボン〕および水素の非結晶化合物の一つであるダイヤモンドライクカーボン（DLC）膜は、人工的に合成される厚さ数十ナノメートル程度の炭素系薄膜であり、素材表面をコーティングし、表面形質を変化させることが可能である。過去の本研究ではDLC膜、およびこれへのフッ素添加によって製造されるフッ素添加DLC（以下F-DLC）膜を医療用ポリマー上に生膜し、静的環境ならびに動的環境において血小板接着抑制、および活性化抑制作用をもたらすことを示した。本年度はさらに、白血球における接着抑制効果ならびにその分子メカニズムの基礎的検討を行い、F-DLCおよびDLC膜がフィブリノーゲン吸着を抑制することで抗細胞接着性作用を表すことを示した。

A：研究目的

ダイヤモンドライクカーボン（DLC）膜、F-DLC膜の静的環境における白血球接着の抑制効果およびそのメカニズムについての基礎的検討。



Diamond



Diamond-like carbon



Graphite

B：研究方法

1) 基板作成：成膜は高周波プラズマ化学蒸着法により、フロン116 (C_2F_6) およびアセチレン (C_2H_2) を原料ガスとすることで、フッ素添加量の異なる種々のF-DLC膜を10mm x 10mm大のポリカーボネイト基板上に作製し、実験に使用した。

<Fig1>

ダイヤモンド・ダイヤモンドライクカーボン・グラファイトの模式図

2) 静的環境における白血球接着の評価：健常人全血より比重遠心分離法により調整した白血球浮遊液中に各基板を浸し、一定の反応時間の後に光学顕微鏡を用いて基板を観察し、付着白血球数を測定した。
3) 各種膜における血漿タンパク（アルブミン、フィブリノーゲン）吸着量測定：
規定濃度のアルブミンまたはフィブリノーゲン希釈溶液中に各基板を浸し、一定時間反応後基板を取り出したのち、BCA assayを用いて吸着された蛋白量の測定を行った。

（倫理面への配慮）

健常人からの採血にあたり、本人の同意を取得した。採血実施前には健康状態につき問診、診察を行った。

C：研究結果

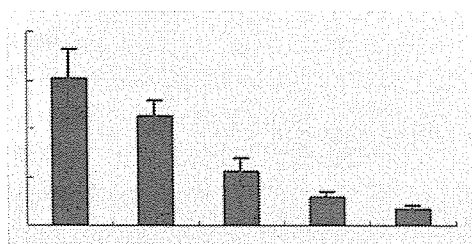
I) 静的環境下に於ける人全血由来白血球の付着実験；<Fig. 2>

静的環境において、白血球〔主に好中球〕血小板の付着数〔面積〕は DLC>F-DLCの順で付抑制され、F-DLCにおいては成膜時のフロンガス〔フッ素〕分圧が高いほど、細胞接着抑制効果を示した。(* p < 0.01)

血小板濃厚血漿を用いた際と同様、フッ素添加DLCは細胞の接着を抑制することを示した。

<Fig2>

各基板における一視野あたり付着白血球数



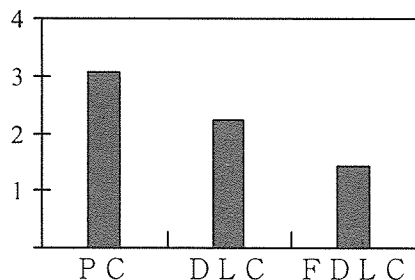
DLC FDLC20 FDLC40 FDLC60 FDLC80

縦軸に一視野あたりの付着白血球数、横軸に各基板名を示す。

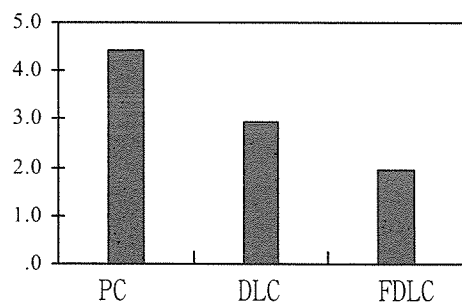
II) DLC, F-DLC膜におけるアルブミン・フィブリノーゲンの吸着量および吸着の比率

<Fig3>

アルブミン吸着量
($\mu\text{g/mL}$)

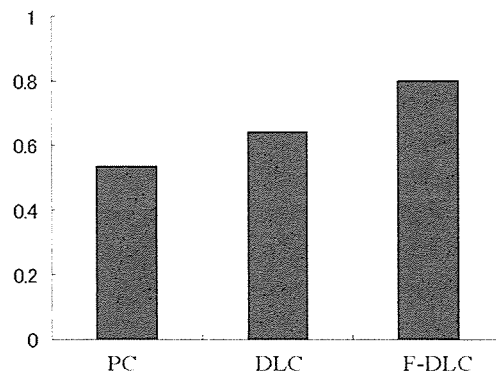


<Fig4> フィブリノーゲン吸着量
($\mu\text{g/mL}$)



<Fig5>

Albumin/Fibrinogen 吸着量の比



医療材料と細胞の接着や抗血栓性を定量的に評価する方法の一つに、albumin/fibrinogen 吸着量比測定がある。一般に細胞が医療材料をはじめとする人工物・異物表面に接着する際には、まず血漿タンパクが材料に吸着し、それが足がかりとなって細胞は接着する。その際にフィブリノーゲンは白血球や血小板の付着に促進的に作用するが、アルブミンはフィブリノーゲンに拮抗し、細胞接着抑制的に作用することがすでに広く知られている。それぞれで今回医療材料として広く用いられているポリカーボネイト (PC) を基準にアルブミンおよびフィブリノーゲンの吸着量をBCA assayを用いて測定し、その吸着比率を測定した。Fig3. にアルブミン吸着量を、Fig4にフィブリノーゲン吸着量の絶対値を示す。PC>DLC>FDLCの順に蛋白質吸着量が少なくなることがわかる。Fig5で吸着量の比を測定すると、F-DLCにおいては、DLCやPCに比べてアルブミンはフィブリノーゲンよりも材料表面に吸着しやすいことを示唆する結果が得られた。以上より、白血球、血小板の接着抑制効果を発揮する一因に、素材自体が蛋白吸着を抑制する効果があることが予測される。

D：考察

DLC膜にフッ素を添加することにより、膜表面にフッ素の作用によって血小板のみならず、白血球の接着の抑制することが示された。その理由の一つとしてDLCならびにFDLCを医療材料表面に被覆させることによって、蛋白吸着、特にAlbumin/Fibrinogen 比が上昇することも接着抑制効果の一因と考えられた。本研究の総括として、DLC膜およびF-DLC膜を従来の細胞処理用素材の表面に被覆することによって、細胞の活性化を抑制させることが出来ると考えられる。本研究の総括として、F-DLC膜の抗血栓性は、静的あるいは動的体外環境下 (*in-vitro*) のいずれにおいてもDLC膜のそれよりも優れており、血小板接着ならびに、少なくとも静的環境下において白血球接着を抑制することが示された。今後、血液接触性の医療器具さらには、人工臓器や血管内埋め込みデバイスの表面コーティン

グとしても有望と考えられる。

E：結論

DLC膜にフッ素を添加することにより、膜表面にフッ素が局在し、撥水性が向上した。撥水性の向上のみならず、アルブミン・フィブリノーゲン吸着比が増大していた。したがってフッ素添加による物理的性質が、生物学的な変化に直接的な影響を及ぼしていると肝がえらる。また、静的環境のみならず、せん断応力下においても、ポリカーボネイトと比較してDLCおよびF-DLC膜の有意な抗血栓性が示された。

F：健康危険情報

該当項目無し

G：研究発表

1. 論文発表

Hasebe T, Yohena S, Kamijo A, Okazaki Y, Atsushi H, Takahashi K, Suzuki T,
“Fluorine doping into diamond-like carbon coatings inhibits protein adsorption and platelet activation”, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, (2007) (in press)

Hasebe T, Ishimaru T, Kamijo A, Yoshimoto Y, Yoshimura T, Yohena S, Kodama H, Hotta A, Takahashi K, Suzuki,
“Effect of surface roughness on antithrombogenicity of diamond-like carbon films”, *Diamond Relat. Mater.* (2007) in press

2. 国際学会

Hasebe T, Kamijo A, Hotta A, Takahashi K, Suzuki T,
“Application of diamond-like carbon for blood-contacting medical devices”; International Workshop on the Application of Nanocrystalline Diamond like Carbon Materials (IWAnDLC-2006), Saha Institute of Nuclear Physics, Kolkata, India, November 28–December 01, 2006

Suzuki T, Kodama H, Hotta A, Hasebe T, Kamijo A, Takahashi K, “Diamond-like carbon films for medical and packing application”; 17th European Conference on Diamond, Diamond-Like Materials, Carbon Nanotubes, and Nitrides, Estoril, Portugal, September 3 – 8, 2006

Hasebe T, Kamijo A, Kobayashi E, Yamamoto K, Koga Y, Takahashi T, Suzuki T, “Biomaterial-Related Thrombosis: Possible mechanism of antithrombogenicity in diamond-like carbon and fluorinated diamond-like carbon films for blood-contacting medical devices”; International Conference on Metallurgical Coatings and Thin Films (ICMCTF 2006), San Diego, CA, USA, May 1 – 5, 2006

Hasebe T, Kamijo A, Takahashi T, Goto K, Yohena S, Takeuchi Y, Hotta A, Takahashi K, , Suzuki T,
“Surface coating of catheters with a biomembrane-like polymer for preventing thrombosis”; Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe (CIRSE) 2006, Rome, Italy, September 9 – 13, 2006

Yoshimura Y, Hasebe T, Yohena S, Ishimaru T, Yoshimoto Y, Saito T, Hotta A, Kamijo A, Takahashi K, Suzuki T, “Evaluation of leukocyte adhesion on fluorinated diamond-like carbon (F-DLC) films”; International Conference on Metallurgical Coatings and Thin Films (ICMCTF 2006), San Diego, CA, USA, May 1 – 5, 2006

ダイヤモンド及び炭素同素体上の抗血栓性評価
(慶應大・理工, 慶應大・理工/立川病院*, 東大・医**)
○萩原真美, 長谷部光泉*, 上條亜紀**, 佐本篤紀, 堀田 篤, 高橋孝喜**, 鈴木哲也
第20回ダイヤモンドシンポジウム、東京都(2005.11月)
学会最優秀ポスター賞

H. 知的財産権の出願・登録状況
対象なし

ヒト臍帯血の供給システムに関する研究

分担研究者

高梨美乃子 東京都赤十字血液センター製剤部長

研究要旨：

臍帯血バンク運営上、提供され調製保存施設に受け入れられる臍帯血のうち細胞数の多い50-60%のみが移植用として調製保存される。臍帯血の有効活用のために、移植のための細胞数基準に至らない場合には研究用に活用すべく研究者とのネットワークを構築した。全体の約3割、バンクとしての保存にならない臍帯血のうち約6割を研究用に譲渡することができた。

A. 研究目的

臍帯血バンク事業では採取協力施設の妊婦さんらに広く協力を呼びかける一方、実際に移植用としての細胞数基準に達しない臍帯血は凍結保存に至らない。このような臍帯血をできる限り早く研究者に提供するシステムを構築する。

B. 研究方法

臍帯血バンクへの臍帯血提供の同意には、移植に至らない場合の研究用使用も含まれている。ただし移植医療に貢献できる研究でなければならない。東京都赤十字血液センター臍帯血バンクでは、研究用譲渡を希望する研究者から提出された研究計画書、当該施設の倫理委員会での研究承認書類等

を臍帯血バンク研究審査部に回覧し、2/3以上の賛成多数をもって承認とした。あらかじめ承認した研究者に対して、臍帯血が研究用と判断した時点で連絡した。

C. 研究結果

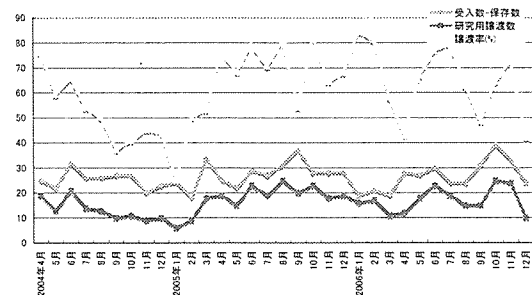
臍帯血は容量が十分採取された場合に臍帯血バンクへ搬送される。さらに細胞数が十分あれば移植目的に保存可能と判断して、調製を開始する。調製保存作業開始基準の細胞数を2006年10月より検査検体採取後に 10×10^8 個以上と厳しくしたため、保存率が低下し、保存にいたらない譲渡可能260件の主な理由は細胞数不足であった。クロット形成を認める臍帯血では有核細胞回収率が低い可能性があったが、研究者の希望に

よって譲渡した。また、この判定は臍帯血採取後24時間以内に行われるため、研究者への譲渡時点では臍帯血は採取後およそ24時間内外であった。今年度9ヶ月間で保存されたのは受入数527件中267件（50.7％）であった。譲渡数は161件、譲渡率は61.9％、受入数の30.6％であった。

2006年4月－12月までの実績を以下に示す。

	臍帯血受入数	調製保存数	受入数-保存数	研究用譲渡数	譲渡先数
4月	54	26	28	12	4
5月	49	22	27	18	3
6月	59	29	30	23	3
7月	61	37	24	19	5
8月	58	34	24	15	4
9月	67	36	31	15	4
10月	70	31	39	25	5
11月	63	30	33	24	5
12月	46	22	24	10	5
計	527	267	260	161	-

2004年4月からの2年9ヶ月間における譲渡数、譲渡率について月毎の経過を見た所、必ずしも譲渡可能数と譲渡率とは傾向が一致しなかった。全経過では譲渡数は受入数の26.7％、保存にならないもののうちの61.4％であった。



D. 考察

臍帯血が研究用に譲渡できるかは予測が困難である。研究者によっては研究曜日が限られており、指定曜日および前回譲渡からの時間経過を勘案して臍帯血バンクから研究者宛に連絡した。

臍帯血バンク運営効率化の為に細胞数の多い臍帯血のみを保存する方針が全国的にとられており、臍帯血採取に協力頂いても保存となる可能性が下がりつつある。臍帯血バンクに協力する妊産婦の意思を尊重し、産科スタッフの意欲を保つ為にも臍帯血が保存基準に満たない場合には有効活用を図るべきである。臍帯血バンクでも各種調製保存手技のバリデーションのために一部が使用されるが、更に研究にも協力し、よって移植医療に貢献すべきと考える。臍帯血が移植目的に保存されない理由のうちクロットについても、研究によっては活用できる。

E. 結論

臍帯血バンクの受入臍帯血のうち細胞数基準およびクロットにより保存できない臍帯血を採血後24時間内外で研究用に譲渡する事が可能である。組織的に全受入数の3

割、保存されないものの6割を研究者に譲渡した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 高梨美乃子. 臍帯血造血幹細胞の評価方法とその標準化. 臍帯血移植(編集

:原 宏), 2006, 新興出版社, 東京 pp47-56

2. 高梨美乃子. 臍帯血バンク、組織活動と内容. 血液・腫瘍科[特別増刊号「造血幹細胞移植のすべて」]. (in press)

- H. 知的所有権の出願・取得情報
- なし