

回単一臍帯血移植 425 例の生着を解析した。抗 HLA 抗体陰性(-)は 310 例、陽性(+) (抗 class I and/or 抗 class II) 115 例 (うち臍帯血抗原との交差反応性あり 24 例) であった。抗体陽性群は女性、疾患では MDS が多かった。多変量解析では抗体陽性、特に交差反応性あり群での Hazard ratio が低く、その他 MDS と低 CD34 値が有意な変数であった。抗体のうち Class I 抗原に対する抗体が有意に影響した。血小板の回復についての多変量解析では、抗 HLA 抗体が交差反応性である事、低 CD34+値が有意な変数であった。抗 HLA 抗体の検査は感度の良い方法を用いるが一方で特異性の確認検査が問題になる。東京都赤十字血液センターにて IgG 抗体の新たな確認検査法を開発している。また更に症例数を蓄積すべく準備中である。

#### D. 考察

臍帯血バンクの手技は調製、検査とその検証方法も含め、施設によって異なる。同一検体を配布する多施設比較試験を繰り返したことは多少とも造血細胞関連検査について自発的な検査手技の統一を促進したと考える。有核細胞数算定と CD34+数は機器管理用の標準血球測定と同様の精度が期待できる。コロニー形成細胞数測定は凍結の有無に関わらず施設間では 4 割ほども変動するが、CD34+数検査結果の妥当性を類推する一助となる。半定性試験であればどのような基準とすべきかの検討が必要である。生細胞率については数種類の方法が使われており、方法の集約が今後の課題である。

無菌検査には日本薬局方収載のものから多数検体自動判定システムまで多くの方法があり、各バンクによって検体種類とその容量も異なる。3 施設に BSL2 設定をして国立感染症研究所より標準菌を配布して頂いた。添加実験の結果によっては、安全性に関わる試験であるので早急に新たな基準を作成すべきである。

レシピエント抗 HLA 抗体については、他バンクの協力を得て症例数を集積し、多変量解析にて生着への影響を評価した。抗体特異性と臍帯血抗原とが一致する場合については、有意に生着に不利であることが示された。同時に輸注 CD34+数の重要性も示された。更に症例数の蓄積を計画している。

#### E. 結論

白血球数、凍結前 CD34+数測定の方法は統一され、精度は許容範囲と考えられる。CFU 数は精度が低いものの CD34+数との相関があり品質基準を設定する上では有用と考えられる。無菌検査の感度評価試験は切迫した課題である。移植成績に及ぼすレシピエント抗 HLA 抗体の意義については、抗体、特にその特異性が臍帯血抗原と一致する場合には更に、生着に不利であった。Class I と Class II に対する抗体の影響では、Class I に対する抗体が好中球回復 (生着) に影響した。他には CD34+数と疾患が MDS である場合が有意な影響因子であった。血小板の回復については、抗体特異性と臍帯血抗原が一致する場合、および CD34+数が有意であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

学会発表

Management of frozen products in a cord blood

bank. 第34回日本低温医学会総会シンポジウ

ム (2007年11月16-17日、札幌、北大)

新しい血液分離装置 AXP による臍帯血調製の

検討。第30回日本造血細胞移植学会総会

論文発表

Letter to the Editor: The impact of HLA  
antibodies on engraftment of unrelated cord blood  
transplants. Transfusion (accepted)

H. 知的所有権の出願・取得情報

なし

臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究

研究課題 成人における骨髄破壊の前処置による非血縁者間臍帯血移植の移植方法に関する研究  
(東京大学医科学研究所附属病院の移植法を用いた多施設第 II 相臨床試験)

分担研究者 高橋 聡 東京大学医科学研究所 先端医療研究センター 血液腫瘍内科 准教授

研究要旨

成人患者に対する臍帯血移植の安全性と効果を検討するために、東大医科研における臍帯血移植法を基に多施設での前方視的臨床試験を計画した。

A. 研究目的

東京大学医科学研究所の方法を用いて、同種造血幹細胞移植の適応となる成人造血器悪性腫瘍患者に対する骨髄破壊の前処置を用いた非血縁者間同種臍帯血移植の有効性と安全性を評価する。

B. 研究方法

臨床研究計画書を作成し、その他に症例登録票等各種書類、各種CRF、説明文章、同意書など臨床研究に必要な各種書類を作成し、参加施設を募った。

C. 研究結果

研究デザインは多施設第 II 相臨床試験とし、対象を同種造血細胞移植の適応があり、HLA 適合または 1 抗原不適合の血縁者ドナーが存在せず、本研究の適応基準を満たす成人造血器悪性腫瘍患者とした。

移植方法の概要は以下の通りである。

day -8 -7 -6 -5 -4 -3 -2 -1 0

TBI 12 Gy ↓ ↓

G-CSF\*5 μg/kg ↓ ↓ ↓ ↓

Ara-C 3 g/m<sup>2</sup> ↓ ↓ ↓ ↓

CPA 60 mg/kg ↓ ↓

臍帯血移植 X

シクロスポリン\*\* 3 mg/kg 10 時間点滴

MTX 15 mg/m<sup>2</sup> day 1, 10 mg/m<sup>2</sup> days 3 & 6 iv  
(ロイコボリン・レスキューを行う)

\*骨髄系造血器腫瘍に対しては、G-CSF 5 μg/kg/day をシタラビン開始 12 時間前より持続投与。終了は 2 日目 2 回目のシタラビンの投与終了時刻とする。

\*\*シクロスポリンは有害事象が出現しなければ減量しない。

対象患者の選択基準は、以下のすべての条件を満たす患者を対象とした。

- (1) 通常 of 化学療法では治癒が期待できない以下のいずれかの条件を満たす造血器悪性腫瘍

- 1) 初回寛解期でない de novo 急性骨髄性白血病；非寛解期の場合には、骨髄低形成であるか白血病芽球が骨髄全有核細胞の 30%未満であること。赤芽球が骨髄全有核細胞の 50%以上を占める場合には、赤芽球を除く全有核細胞中 30%未満とする。なお、末梢血白血病芽球が 500/μl 以上で 1 週間以内に 2 倍になる症例は除外する
- 2) 急性リンパ性白血病；第 2 回目以降の寛解期
- 3) 予後不良な初回寛解期の急性白血病、すなわち、寛解導入に複数コースの化学療法を要した場合や Ph 陽性急性白血病など
- 4) 慢性骨髄性白血病；第 2 回目移行の慢性期、および移行期
- 5) 骨髄異形成症候群；RAEB-1, RAEB-2 および輸血依存性が高いあるいは高リスク染色体異常を有する RA を対象とし、初回治療として臍帯血移植を選択する。骨髄異形成症候群から移行した急性骨髄性白血病症例でも可能な限り初回治療として臍帯血移植を選択するが、白血病細胞の増加が高度かつ急激である場合や臍帯血移植施行までに時間を要

し、その間に白血病細胞の高度の増加が予測される場合にも、原則として完全寛解導入を目的とした強力な多剤併用化学療法は実施せず、治療強度の低い化学療法（例：ハイドロキシウレア 1000-2000 mg/日）で白血病細胞数のコントロールを図るのみとし、可及的早期に臍帯血移植を実施する。

- (2) Low resolution 法（血清型）による HLA 適合あるいは 1 座不一致の適切な血縁者ドナーがない
- (3) 国内の臍帯血バンクに臍帯血選択基準を満たす臍帯血を有する患者
- (4) 年齢が 20 歳以上 55 歳未満
- (5) Performance status が 0 または 1（付表 1）
- (6) 主要臓器機能が保たれている
  - 1) 酸素非投与での動脈血酸素飽和度が 95%以上
  - 2) 血清クレアチニン値、血清総ビリルビンが施設基準値上限の 1.5 倍以下
  - 3) 血清 AST および ALT が施設基準値上限の 2 倍以下
  - 4) 心エコーにて Ejection fraction 55% 以上
- (7) 抗 HLA 抗体を有さない患者（抗 HLA 抗体検査は仮登録後に研究班で施行可）
- (8) 試験参加について患者本人から文書による同意が得られている患者

また、患者除外基準は以下の通りである。

- (1) 中枢神経浸潤がある患者（既往の有無は問わない）
- (2) コントロール不良の糖尿病を有する患者
- (3) コントロール不良の高血圧を有する患者
- (4) 活動性の感染症を合併した患者
- (5) TPHA 陽性あるいは HBs 抗原陽性の患者
- (6) HIV 抗体陽性の患者
- (7) 悪性腫瘍を合併した患者
- (8) 妊婦あるいは妊娠の可能性のある患者および授乳中の患者
- (9) 過去に自家造血幹細胞移植を含む造血幹細胞移植を施行した患者
- (10) コントロール不良な精神神経症状を現有する患者
- (11) 担当医師が不適切と判断した患者

主要評価項目（primary endpoint）は、移植後

1 年における無イベント生存率とし、副次的評価項目（secondary endpoint）としては、以下の通りとした。

- (1) 移植後造血回復までの期間
- (2) 急性 GVHD の頻度と重症度
- (3) 慢性 GVHD の頻度と重症度
- (4) 移植後無病生存期間、移植後全生存期間
- (5) 重症有害事象の種類と頻度
- (6) 再発率
- (7) 移植関連死亡率の差の要因に関する解析

閾値奏効割合、期待奏効割合、予定登録症例数の設定根拠に関しては、以下の通りである。

primary endpoint（移植後 1 年無イベント生存）である奏効割合 = 移植後 1 年の時点で生着不全および再発がなく生存していることを成功と定義

- ・ 医科研における臍帯血移植：2 年無病生存率 74%  
（※ 1 年目と 2 年目で大きな変化がない）
- ・ 本邦における非血縁者間移植：1 年無病生存率 59.3%
- ・ 医科研の成績を参考にして臍帯血移植が非血縁者間移植に匹敵する移植方法であることを示すことを念頭に置くことから、先行研究の成績のばらつきも考慮し、閾値奏効割合を 40%、期待奏効割合を 70% と設定した。
- ・  $\alpha$  エラー 0.05（片側）、 $\beta$  エラー 0.1 とすると二項分布に基づく必要症例数は 25 例となる。約 10% の不適格患者を見込み、予定登録数を 28 例とした。
- ・ 最終解析では、適格症例 25 例中、16 例以上において奏効が認められた場合には、本試験における治療は有効であると判定することとした。

#### D. 考察および結論

本臨床研究には 23 施設が参加予定しており、既に各施設における IRB からの承認を得た、もしくは審査中の施設は 13 となっており、9 施設が申請準備を進めている（08 年 1 月段階）。次年度には臨床試験の遂行が見込まれ、参加施設数から考えて 2 年以内の試験終了は十分に可能であると考えられる。

#### E. 研究危険情報

特になし

F. 発表

Takahashi S, Yamaguchi T, Ooi J, Tomonari A, Tsukada N, Konuma T, Nagamura T, Kato S, Kawase T, Morishima Y, and Asano S. on behalf of the Japan Marrow Donor Program (JMDP) and the Japan Cord Blood Bank Network (JCBBN) The comparative analysis of bone marrow transplantation and cord blood transplantation from unrelated donors in patients with myelodysplastic syndrome in Japan. *Blood* 110 (11):599 a, 2007.

Takahashi S, Ooi J, Tomonari A, Konuma T, Tsukada N, Tojo A, Yamaguchi T, Asano S. Post-transplant engraftment and safety of cord blood transplantation with grafts containing relatively low cell doses in adults.

*Int J Hematol*, 84: 359-362, 2006

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生労働科学研究費補助金 再生医療研究事業  
総合研究報告書

臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究

研究課題 ヒト胎盤・臍帯血を用いた再生医療に関する研究

分担研究者 高橋 恒夫 東京大学医科学研究所細胞プロセッシング研究部門 客員教授

研究要旨

本研究室では 1995 年から白血病治療のための臍帯血バンクを立ち上げ臍帯血移植においてその成果をあげてきた。臍帯血による治療の対象をこのシステムを利用してさらに広げることをめざし、医療廃棄物として処理される胎盤と臍帯血が再生医療における新しい細胞供給源となりうるか、その可能性を探る研究を進めてきた。臍帯血の間葉系幹細胞の採取が当初は難しかったことから、最初に胎盤組織に注目し、胎盤の胎児側、母体側それぞれから絨毛組織を切り出し、Explant 法で間葉系幹細胞を分離・培養する方法を確立した。胎盤絨毛から得られた間葉系細胞は骨髄や脂肪組織から得られる間葉系細胞と同じ表面マーカーを示した。この胎盤絨毛由来細胞は骨細胞、軟骨細胞への分化能を持ち、また脂肪細胞、神経様細胞への分化能も確認された。一方、細胞の寿命を延長させる目的で、lenti virus に組込んだ Bmi-1 および Telomerase 遺伝子を細胞に導入した。この寿命延長させた胎盤絨毛由来間葉系細胞は、骨、軟骨、脂肪細胞への多分化能を維持していた。次にこれまで難しかった臍帯血由来間葉系細胞の分離法を確立し、その分化能を調べた。臍帯血由来間葉系細胞は骨、軟骨には分化しやすいが脂肪細胞には分化しにくい傾向がみられた。動物モデル実験において、胎盤由来細胞と同様に in vivo で骨、軟骨の形成が確認された。以上のことから、ヒト胎盤と臍帯血は再生医療の細胞ソースとして有用である可能性を明らかにした。胎盤組織と臍帯血から間葉系幹細胞を品質管理下で恒常的に得てバンキングするシステムの構築は再生医療における今後の課題の一つと考える。

A.研究目的

間葉系幹細胞は骨、軟骨、脂肪等に分化する。骨髄には多量に間葉系幹細胞が存在するが、骨髄採取は患者への負担が大きいこと、年齢が高い場合や遺伝性疾患などがある場合など、自己の骨髄由来間葉系細胞を常に得ることは難しい。非自己(アロ)細胞の移植が可能になればそ

の適応は飛躍的に拡大すると考えられる。我々は自らの研究室に構築した臍帯血バンクシステムを利用して、造血幹細胞移植用から除外された臍帯血や、臍帯血が提供された後の胎盤が再生医療の細胞ソースとなりうるか、その可能性について研究を進めてきた。

## B. 研究方法

母親からインフォームドコンセントを得て正期産後に娩出された胎盤を用いた。胎児側絨毛から Explant 法で間葉系細胞を単離し増殖させた。臍帯血は採取施設において移植に用いない臍帯血をインフォームドコンセントを得て使用した。臍帯血をフィコールに重層し、比重遠心後に単核球層を回収した。採取細胞をシャーレ上に接着させ、3-4 週間培養後、形成されたコロニーを回収し増幅させた。異なる酸素濃度の培養条件で培養し、臍帯血由来間葉系細胞の回収率と細胞の増殖を検討した。増殖した胎盤及び臍帯血由来間葉系細胞細胞を FACS で抗原解析し、得られた細胞に母体側の細胞が混入しているか、男児の胎盤とその臍帯血細胞を用いて FISH 法で性別染色体を確認した。次に *in vitro* で分化誘導培地で培養し、骨、軟骨、脂肪細胞方向への分化能を調べた。また骨髄、脂肪組織から同様に接着間葉系細胞を得て培養し、臍帯血由来間葉系細胞と、遺伝子発現、分化能について比較した。In vivo での軟骨、骨再生において、担体であるコラーゲンスポンジ、また  $\beta$ -TCP に細胞を包埋し、1週間誘導培養後、5週齢のヌードマウス皮下に移植し、軟骨は4週、骨は8週後に移植片を取り出し解析を行った。またヌードラット膝関節における軟骨骨欠損部に移植、6週後にラットの膝関節を取り出し、欠損部の修復を確認した。得られた間葉系細胞の免疫抑制能を調べるためにマイトジェン(PHA)処理したヒト末梢血 T 細胞と間葉系幹細胞を共培養し、活性化 T 細胞の増殖を<sup>3</sup>H-チミジンの取り込みでみた。また増殖した細胞が臨床に使用できるかその安全性について、40 PDL の細胞を用いて染色体異常を核

分析で調べた。

(倫理面への配慮)

本研究は実地に際して「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に則り、その内容を本研究所倫理審査委員会に申請し、審査承認を受けている。研究に用いる臍帯血は本研究施設と資料譲渡契約と結んでいる採取医療機関 1 施設(東京臍帯血バンク採取医療機関)において、正常産の妊婦より提供目的と研究内容について説明と同意を得た上で分娩後に採取している。分娩後の採取のため、採取に際してドナーの安全性は完全に確保されている。また、研究に用いる臍帯血は東京臍帯血バンクより細胞数等の面から移植用としては適さない臍帯血について、ドナーの同意を得た上で提供を受けている。なお、提供を受けるにあたっては、東京臍帯血バンクの倫理委員会の審査承認を受けている。また、採取に際しては、東京臍帯血バンクにおいてドナーに対して問診および家族歴の調査を行っており、感染症等の既往歴のあるドナーからの臍帯血の採取は行わない。臍帯血は東京臍帯血バンクにおいて感染症検査を行っており、安全性の確認された臍帯血の提供を受けている。なお、問診および家族歴等の個人情報東京臍帯血バンクにおいて管理し、匿名化の処置を講じている。以上より、提供を受けた試料は個人のプライバシーが完全に保護されていると同時に研究従事者の安全性も確保されている。

## C. 研究結果

胎盤絨毛及び臍帯血由来間葉系細胞は骨髄や脂肪組織から得られた間葉系細胞と同じ表面マーカーを示した。男児の胎盤絨毛(N=7)及び臍

帯血(N=11)から得られた細胞は全てXY性染色体をもっていたことから、これらの細胞には母体側の細胞が混入していないことが確認された。胎盤絨毛と臍帯血由来間葉系細胞はin vitroで骨、軟骨細胞への高い分化能を示す一方で、脂肪細胞への分化能は低かった。Bmi-1 およびTelomerase 遺伝子を導入した胎盤絨毛由来間葉系細胞は増殖を続け、この寿命延長した細胞はサブクローンをつくり、このサブクローン細胞の分化能はクローンにより異なる分化能をもつことが確認された。胎盤絨毛および臍帯血由来間葉系細胞をスキヤフォードと組み合わせてヌードマウスに移植したところ、マウス皮下に白色で平滑な軟骨、成熟骨状の組織が形成された。また膝軟骨骨欠損部に移植すると、欠損部は修復され、膝表面に軟骨様の組織が形成された。臍帯血からの間葉系細胞の分離効率、これまで臍帯血ユニットの20-40%との低い報告が多かったが、我々は臍帯血の容量(60g以上)と採集から分離までの時間(5時間以内)を調整した臍帯血からは、コロニー形成間葉系細胞の採取率は70%以上所にあげることができた。臍帯血由来間葉系細胞は特に軟骨細胞への分化能が高く、骨髄や脂肪由来間葉系細胞より多量の軟骨基質を合成することが観察された。臍帯血由来間葉系細胞は骨髄および脂肪由来間葉系細胞と同様にOct4, Runx-2, PPAR- $\gamma$  1, BMP receptor, Smadを発現しているが、軟骨細胞へ分化する関連遺伝子SOX9の発現が高いことが見出された。培養時の酸素濃度については5%低酸素での培養は通常の20%と比べ間葉系細胞の回収率が高い傾向が見られまたよく増殖できることが観察された。臍帯血由来間葉系細胞は免疫抑制能につ

いては、骨髄や脂肪細胞由来間葉系細胞と同様にPHA刺激ヒト末梢血由来リンパ球増幅を細胞濃度依存的に抑制し、ConA刺激、混合リンパ球培養試験でも同様な抑制効果が示された。40PDLまで増殖した臍帯血由来間葉系細胞の核分析では染色体異常はまったく見られなかった。

#### D. 考察

ヒト胎盤絨毛組織、また臍帯血中に骨、軟骨細胞へ分化しうる間葉系細胞が存在することを確認した。臍帯血由来間葉系細胞は特に軟骨細胞への分化能が高かった。40PDLまで培養した臍帯血由来間葉系細胞は染色体の異常が見られなかった。今後in vivoでの詳細な実験を追加するとともに、臍帯血間葉系細胞をコンスタントに得て凍結保存するシステムを開発し、品質管理の面から臍帯血バンクシステムを利用した、胎盤と臍帯血由来間葉系細胞の再生医療の有効な細胞ソースとしての検討をさらにすすめていく必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

高橋恒夫、張曉紅、伊倉宏一.

臍帯血と胎盤組織由来細胞を用いた再生医療の可能性。ティッシュエンジニアリング 2006. 田原泰彦、岡野光夫(編)。

日本組織工学会監修。日本医学館(東京)、p175-186, 2006.



Zhang X, Mitsuru A, Igura K, Takahashi K, Ichinose S, Yamaguchi S, Takahashi TA. Mesenchymal progenitor cells from chorionic villi of human placenta for cartilage tissue engineering. *Biochem Biophys Res Commun.* 340, 944-952, 2006.

Zhang X, Soda Y, Takahashi K, Mitsuru A, Bai Y, Ogia K, Satoh H, Yamaguchi S, Tani K, Tojo A, Takahashi TA.

Successful immortalization of mesenchymal progenitor cells derived from human placenta and the differentiation abilities of immortalized cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 351, 853-859, 2006.

張曉紅、伊倉宏一、高橋賢次、三鶴亜矢子、高橋恒夫

胎盤絨毛由来間葉系細胞から軟骨細胞への分化誘導. *日本炎症、再生医学会雑誌 Vol.25(2)* p102-106, 2005

## 2. 学会発表

張曉紅、三鶴亜矢子、伊倉宏一、高橋恒夫  
胎盤絨毛部由来間葉系細胞から軟骨細胞への分化誘導. *日本炎症、再生医学会雑誌 Vol.25(4)* p369 2005

三鶴亜矢子、張曉紅、伊倉宏一、高橋賢次、高橋恒夫

胎盤絨毛部由来間葉系細胞から軟骨再生医療応用の可能性の検討. *日本再生医療学会雑誌 Vol.4 Suppl* p174 2005

張曉紅、三鶴亜矢子、伊倉宏一、高橋賢次、高橋恒夫

ヒト胎盤間葉系細胞の不死化と分化能. *日本*

再生医療学会雑誌 Vol.4 Suppl p195 2005

Zhang X, Mitsuru A, Igura K, Takahashi K, Ichinose S, Yamaguchi S, and Takahashi TA. Mesenchymal progenitor cells derived from chorionic villi of human placenta for cartilage tissue engineering. *International Workshop on Placenta Derived Stem Cells.* P38, March 2007, Brescia, Italy.

Takahashi TA.

Mesenchymal stem cell derived from human placenta and cord blood. *2<sup>nd</sup> Korea Mesenchymal Stem Cell Symposium* Nov..2007 Seoul, Korea.

張曉紅、平井雅子、伊倉宏一、高橋恒夫.  
ALDEFLUOR Kit による臍帯血の造血幹、前駆細胞の同定. *第 29 回日本造血細胞移植学会総会* p173 2007

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究

研究課題 高齢者における臍帯血移植（骨髄非破壊的前処置法の標準化）に関する研究

谷口 修一 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 血液科 部長

研究要旨

臍帯血ミニ移植は、高齢者造血器疾患患者に治癒をもたらしうる有望な治療法であるが、移植後早期の非再発死亡が高頻度であることが問題である。虎の門病院単施設の 55 歳以上を対象とした臍帯血ミニ移植の後方視的検討では、移植後 100 日以内の累積非再発死亡が 43%と高率で、その直接原因は感染症、移植片対宿主病（GVHD）、血球貪食症候群、生着不全などであるが、移植後早期に合併する生着前免疫反応が予後悪化と密接に関与することが明らかとなった。日本さいたい血バンクネットワークの全国集計データでも、移植後早期の高い死亡率が明らかであった。虎の門病院におけるパイロット研究でミコフェノール酸モフェチル（MMF）を GVHD 予防に用いることで、移植後早期死亡が減少することが示唆された。そこで、今後前向きな多施設共同臨床第 I 相試験を行い、MMF 使用の安全性と有効性を検討する予定である。

A. 研究目的

臍帯血移植は、国内で 2008 年 2 月までで 4000 例を超える患者さんに実施され、その 40%は 50 歳以上の比較的高齢者である。同種移植の治療関連毒性は、年齢が高いほど発生率が高まることが知られており、治療に伴う毒性の軽減が、成績向上の為に重要である。臍帯血ミニ移植は、他の骨髄や末梢血幹細胞移植と比べて生着までの期間が長く、免疫不全状態が長いこと、及び移植後早期の生着前に特有の臨床症状を伴う生着前免疫反応（Pre-engraftment immune reactions, PIR）を発症することが言われている。この PIR は、臍帯血ミニ移植後 9 日目を中央値とする生着前に、発熱・皮疹・黄疸・下痢・腎障害・体重増加などを呈する一種の GVH 反応であり、これが GVHD や感染症、臓器障害を引き起こし、移植後早期の全身状態悪化に密接に関連する可能性が示唆されている。高齢者において、これらの合併症に耐えられるかどうか、さらにこれらが生存率にどのように影響するかについて依然十分検討されていない。そこで、現在の高齢者に対する臍帯血ミニ移植

の問題点を後方視的に検討、抽出し、それに対する対策を明らかにし、成績向上を実現することを、本研究の目的とする。

B. 研究方法

- ① 虎の門病院で 2002 年 7 月から 2005 年 10 月までに行った 55 歳以上を対象とした臍帯血ミニ移植例で、移植時活動性感染症を有さなかった 70 例を対象に、その背景、生着率、生存・死亡、死因、生存率の解析を行った。
- ② 日本さいたい血バンクネットワークに報告された 55 歳以上の臍帯血ミニ移植で、calcineurin inhibitor (CI) 単独を GVHD 予防法として用いた 280 例を対象に、後方視的に同様に解析を行った。
- ③ 上記①・②の結果を踏まえ、CI にミコフェノール酸モフェチル（MMF）を加えた 2 剤による GVHD 予防を虎の門病院のパイロット研究として実施した。
- ④ 上記③の結果を踏まえ、多施設共同臨床第 I 相

試験を計画し、高齢者の臍帯血ミニ移植成績向上のための基礎的データを前向きに集積することとした。

#### <倫理面への配慮>

MMF は造血幹細胞移植においては国内未承認薬であるが、すでに腎・心・肺・肝などの臓器移植においては承認されて広く使用されている。投与に際しては十分な説明と同意の取得、及び安全性の評価を行う。試験参加患者は直ちに連結不能な暗号化がなされ、当該分担研究者によって厳格に管理された。

#### C. 研究結果

- ① 虎の門病院における 55 歳以上の CI 単剤による GVHD 予防法を用いた臍帯血ミニ移植の成績の後方視的検討: 男性 45 名、女性 25 名の計 70 名で、年齢中央値が 61 (55-79) 歳であった。90%にあたる 63 名が Fludarabine+Melphalan+全身放射線照射による骨髄非破壊的前処置をうけ、37 名 (53%) が ciclosporine A (CSA)、33 名 (47%) が tacrolimus (TAC) 単剤による GVHD 予防法を用いた。移植後 4 週以内の早期死亡 10 名を除く 66 名中 60 名が好中球生着を達成した。しかしながら、移植後 100 日以内の累積非再発死亡率は 43%と高く、死因は感染症、GVHD、IP などであった。2 年全生存率は 23%で、臍帯血ミニ移植が治癒をもたらさうる治療法であることがわかったが、移植後早期の高い非再発死亡が問題であった。PIR は 63%に合併し、これによって有意に全生存率が低下することが多変量解析で示された ( $P=0.023$ )。
- ② 日本さいたい血バンクネットワークのデータからの 55 歳以上の臍帯血ミニ移植で CI 単剤による GVHD 予防を行った症例の後方視的検討: 2001 年 6 月から 2006 年 6 月までに移植を行った 280 名が対象で、男性 176 名、女性 104 名、GVHD 予防は 139 名が CSA 単剤、141 名が TAC 単剤だった。2 年の全生存率は 19%で、移植後 100 日までの累積非再発死亡率が 47%と移植後早期の重篤な合併症による成績の悪化が認められた。
- ③ 虎の門病院における TAC+MMF の GVHD 予防法のパ

イロット研究: 同意が得られた 18 例を対象に実施した。年齢中央値 62 (52-68) 歳、男性 13 例、女性 5 例。MMF の内服コンプライアンスは良好で、明らかな毒性の増加は認められなかった。17 例 (94%) で好中球生着を達成した (中央値 19 日、15-31 日)。移植後 28 日以内の早期死亡は認められず、100 日までの累積非再発死亡率は 17%と前の二つの後方視的研究結果よりも良好であった。その後、2007 年 11 月までにさらに 7 例が追加されたが、良好な成績を維持している。

- ④ 多施設共同臨床第 I 相試験の計画: D. 考察欄参照

#### D. 考察

高齢者に対する非血縁臍帯血を用いたミニ移植は、難治性血液疾患に治癒をもたらさうる有望な治療法である一方、移植後早期の非再発死亡の頻度が高いことが明らかとなった。この原因として、臍帯血ミニ移植後 9 日目を中央値とする生着前に高頻度に認められる PIR が、GVHD や感染症、臓器障害を引き起こし、移植後早期の非再発死亡と密接に関連することが明らかとなった。つまり、PIR の十分な制御が短期予後改善のために重要であることが示された。国内では、臍帯血ミニ移植後の GVHD 予防法として、従来の造血幹細胞移植の標準的 GVHD 予防法である CI に methotrexate (MTX) が併用される場合が多いが、高齢者では MTX による粘膜障害やそれに伴う感染症、骨髄毒性による生着遅延が致命的となりうる。MMF は、主に海外で同種造血幹細胞移植における GVHD 予防薬として広く使用されているが、MTX よりも粘膜毒性が少なく、血球回復に影響が少ないと考えられ、高齢者に対する GVHD 予防法として有望である。虎の門病院で行ったパイロット研究の結果も、MMF が有望である可能性を示している。そこで、50 歳以上 70 歳未満の高齢者造血器疾患に対する非血縁臍帯血を用いたミニ移植において、TAC と MMF を用いた GVHD 予防法が標準的となるための予備的検討を目的とした多施設共同臨床第 I 相試験を計画した。今回の研究は、多施設共同で、高齢者に対する

臍帯血ミニ移植のGVHD予防法としてのTAC+MMFにおけるMMFの薬物動態を検討し、本予防法が、将来的にGVHDの標準的予防法となるための基礎資料を作成することを目的とする。即ち、本邦における至適投与量を検討するために、1g x2/日と1g x3/日の2群を設定し、それぞれにおけるMMFの薬物動態を、固形臓器移植で推奨される $C_{ss} \geq 2.5 \mu\text{g/mL}$ との比較や、海外の造血幹細胞移植領域におけるMMFの薬物動態の結果との比較を行う。副次的評価項目として本治療法の有効性・安全性を検討することを目的とする。即ち、MMFの生着・GVHD・生存に対する影響を、MMFの血中動態との相関を含めて評価検討する。現在は実施計画書作成の最終段階にあり、平成20年度から開始する予定である。班会議時のアンケート調査では、全国の24施設が参加の意向を表明している。

## E. 結論

高齢者を対象とした臍帯血ミニ移植の成績向上のための重大な問題点が、移植後早期に発症するPIRのコントロールで改善する可能性があり、MMFを用いたGVHD予防法はそれを実現する可能性のある有望な治療法であると考えられる。今後、多施設共同臨床研究を実施して、前向きにデータの集積を行うことでさらに確認する必要がある。さらに、本臨床研究が実施されることで、本邦で初めての造血幹細胞移植領域でのMMFの薬物動態が明らかとなり、データに根ざした安全性と有効性の評価が可能となる。これに基づいて、海外の骨髄非破壊的な同種造血幹細胞移植では主流となりつつあるMMFが本邦に導入され、より多くの患者群に利益をもたらすことが期待される。

## F. 健康危険情報

該当なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Uchida N, Wake A, Takagi S, Yamamoto H, Kato D, Matsushashi Y, Matsumura T, Seo S, Matsuno N, Masuoka K, Kusumi E, Yuji K, Miyakoshi S, Matsuzaki M, Yoneyama A, Taniguchi S. “Umbilical cord blood transplantation after reduced-intensity conditioning for elderly patients with hematologic diseases” *Biol Blood Marrow Transplant.* in press.
- 2) Kusumi E, Kami M, Hara S, Hoshino J, Yamaguchi Y, Murashige N, Kishi Y, Shibagaki Y, Shibata T, Matsumura T, Yuji K, Masuoka K, Wake A, Miyakoshi S, Taniguchi S. “Postmortem examination of the kidney in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients: possible involvement of graft-versus-host disease.” *Int J Hematol.* 87:225-230, 2008.
- 3) Kako S, Kanda Y, Oshima K, Nishimoto N, Sato H, Watanabe T, Hosoya N, Motokura T, Miyakoshi S, Taniguchi S, Kamiyo A, Takahashi K, Chiba S, Kurokawa M. “Late onset of autoimmune hemolytic anemia and pure red cell aplasia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab.” *Am J Hematol.* 83:247-249, 2008.
- 4) Ishikawa F, Yoshida S, Saito Y, Hijikata A, Kitamura H, Tanaka S, Nakamura R, Tanaka T, Tomiyama H, Saito N, Fukata M, Miyamoto T, Lyons B, Oshima K, Uchida N, Taniguchi S, Ohara O, Akashi K, Harada M, Shultz LD. “Chemotherapy-resistant human AML stem cells home to and engraft within the bone-marrow endosteal region.” *Nat Biotechnol* 25:1315-1321, 2007.
- 5) Matsumura T, Narimatsu H, Kami M, Yuji K, Kusumi E, Hori A, Murashige N, Tanaka Y, Masuoka K, Wake A, Miyakoshi S, Kanda Y, Taniguchi S. “Cytomegalovirus infections following umbilical cord blood transplantation using reduced intensity conditioning regimens for adult patients.”

- Biol Blood Marrow Transplant. 13:577-583, 2007.
- 6) Kusumi E, Yoji K, Miyakoshi S, Matsumura T, Kami M, Taniguchi S. "Extramedullary hematopoiesis surrounding the pituitary gland after cord blood transplantation." *Neuropathol Appl Neurobiol.* 33:243-245, 2007.
  - 7) Narimatsu H, Kami M, Kato D, Matsumura T, Murashige N, Kusumi E, Yuji K, Hori A, Shibata T, Masuoka K, Wake A, Miyakoshi S, Morinaga S, Taniguchi S. "Reduced dose of forscarnet as preemptive therapy for cytomegalovirus infection following reduced-intensity cord blood transplantation." *Transpl Infect Dis.* 9:11-15, 2007.
  - 8) Miyakoshi S, Kami M, Tanimoto T, Yamaguchi T, Narimatsu H, Kusumi E, Matsumura T, Takagi S, Kato D, Kishi Y, Murashige N, Yuji K, Uchida N, Masuoka K, Wake A, Taniguchi S. "Tacrolimus as prophylaxis for acute graft-versus-host disease in reduced intensity cord blood transplantation for adult patients with advanced hematologic diseases." *Transplantation* 84:316-322, 2007.
  - 9) Miyakoshi S, Kusumi E, Matsumura T, Hori A, Murashige N, Hamaki T, Yuji K, Uchida N, Masuoka K, Wake A, Kanda Y, Kami M, Tanaka Y, Taniguchi S. "Invasive fungal infection following reduced-intensity cord blood transplantation for adult patients with hematologic diseases." *Biol Blood Marrow Transplant* 13:771-777, 2007
  - 10) Saito AM, Kami M, Mori S, Kanda Y, Suzuki R, Mineishi S, Takami A, Taniguchi S, Takemoto Y, Hara M, Yamaguchi M, Hino M, Yoshida T, Kim SW, Hori A, Ohashi Y, Takaue Y. "Prospective phase II trial to evaluate the complications and kinetics of chimerism induction following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with fludarabine and busulfan." *Am J Hematol.* 82:873-880, 2007.
  - 11) Narimatsu H, Kami M, Miyakoshi S, Yuji K, Matsumura T, Uchida N, Masuoka K, Wake A, Hamaki T, Yamashita S, Yoneyama A, Taniguchi S. "Value of pretransplant screening for colonization of *Pseudomonas aeruginosa* in reduced-intensity umbilical cord blood transplantation for adult patients. *Ann Hematol* 86:449-451, 2007."
  - 12) Kato K, Kanda Y, Eto T, Muta T, Gondo H, Taniguchi S, Shibuya T, Utsunomiya A, Kawase T, Kato S, Morishima Y, Kodera Y, Harada M, Japan Marrow Donor Program. "Allogeneic bone marrow transplantation from unrelated human T-cell leukemia virus-I-negative donors for adult T-cell leukemia/lymphoma: retrospective analysis of data from the Japan Marrow Donor Program." *Biol Blood Marrow Transplant.* 13:90-99, 2007.
  - 13) Kusumi E, Kami M, Kanda Y, Murashige N, Seki K, Fujiwara M, Koyama R, Komatsu T, Hori A, Tanaka Y, Yuji K, Matsumura T, Masuoka K, Wake A, Miyakoshi S, Taniguchi S. "Hepatic injury following reduced intensity unrelated cord blood transplantation for adult patients with hematological diseases." *Biol Blood Marrow Transplant.* 12:1302-1309, 2006.
  - 14) Takashima S, Numata A, Miyamoto T, Shirakawa T, Kinoshita R, Kato K, Takenaka K, Harada N, Nagafuji K, Taniguchi S, Harada M. "Acute lymphoblastic leukemia presenting with calcineurin-inhibitor induced pain syndrome after a second allogeneic bone marrow transplantation." *Rinsho Ketsueki* 47:1372-1376, 2006.
  - 15) Miura Y, Narimatsu H, Kami M, Kusumi E, Matsumura T, Yuji K, Wake A, Miyakoshi S, Taniguchi S. "Oral beclomethasone

- dipropionate as an initial treatment of gastrointestinal acute graft-versus-host disease after reduced-intensity cord blood transplantation." *Bone Marrow Transplant.* 38:577-579, 2006.
- 16) Taniguchi S. "Reduced-intensity cord blood transplantation for adult hematological diseases." *Rinsho Ketsueki.* 47:599-606, 2006.
- 17) Kusumi E, Yuji K, Kishi A, Murashige N, Takagi S, Matsumura T, Tanaka Y, Miyakoshi S, Kami M, Taniguchi S. "Molluscum contagiosum infection after reduced-intensity cord blood transplantation." *Bone Marrow Transplant.* 38:313-314, 2006.
- 18) Kim SW, Tanimoto TE, Hirabayashi N, Goto S, Kami M, Yoshioka S, Uchida T, Kishi K, Tanaka Y, Kohno A, Kasai M, Higuchi M, Kasai M, Mori S, Fukuda T, Izutsu K, Sao H, Ishikawa T, Ichinohe T, Takeuchi K, Tajima K, Tanosaki R, Harada M, Taniguchi S, Tobinai K, Hotta T, Takaue Y. "Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma: a nationwide survey in Japan." *Blood.* 108:382-389, 2006.
- 19) Miura Y, Kami M, Kusumi E, Murashige N, Masuoka K, Yoshimura M, Tachibana S, Taniguchi S. "Exacerbation of chronic epidural abscess following a fludarabine-based preparative regimen." *Am J Hematol.* 81:222-224, 2006.
- 20) Narimatsu H, Kami M, Miyakoshi S, Murashige N, Yuji K, Hamaki T, Masuoka K, Kusumi E, Kishi Y, Matsumura T, Wake A, Morinaga S, Kanda Y, Taniguchi S. "Graft failure following reduced-intensity cord blood transplantation for adult patients." *Br J Haematol.* 132:36-41, 2006.
- 21) Hashiguchi M, Okamura T, Yoshimoto K, Ono N, Imamura R, Yakushiji K, Ogata H, Seki R, Otsubo K, Oku E, Kuroiwa M, Higuchi M, Kato K, Taniguchi S, Gondo H, Shibuya T, Nagafuji K, Harada M, Sata M. "Demonstration of reversed flow in segmental branches of the portal vein with hand-held color Doppler ultrasonography after hematopoietic stem cell transplantation." *Bone Marrow Transplant.* 36:1071-1075, 2005.
- 22) Yoshimoto G, Nagafuji K, Miyamoto T, Kinukawa N, Takase K, Eto T, Kato K, Hayashi S, Kamimura T, Ohno Y, Taniguchi S, Harada M. "FLT3 mutations in normal karyotype acute myeloid leukemia in first complete remission treated with autologous peripheral blood stem cell transplantation." *Bone Marrow Transplant.* 36:977-983, 2005.
- 23) Kojima R, Kami M, Kusumi E, Kishi Y, Tanaka Y, Yoshioka S, Morishima S, Fujisawa S, Mori SI, Kasai M, Hatanaka K, Tajima K, Kasai M, Mitani K, Ichinohe T, Hirai H, Taniguchi S, Sakamaki H, Harada M, Takaue Y. "Comparison between reduced intensity and conventional myeloablative allogeneic stem-cell transplantation in patients with hematologic malignancies aged between 50 and 59 years." *Bone Marrow Transplant.* 36:667-674, 2005.
- 24) Teshima T, Matsuo K, Matsue K, Kawano F, Taniguchi S, Hara M, Hatanaka K, Tanimoto M, Harada M, Nakao S, Abe Y, Wake A, Eto T, Takemoto Y, Imamura M, Takahashi S, Ishida Y, Kanda Y, Kasai M, Takaue Y. "Impact of human leukocyte antigen mismatch on graft-versus-host disease and graft failure after reduced intensity conditioning allogeneic haematopoietic stem cell transplantation from related donors." *Br J Haematol.* 130:575-587, 2005.
- 25) Kishi Y, Kami M, Miyakoshi S, Kanda Y, Murashige N, Teshima T, Kusumi E, Hara S, Matsumura T, Yuji K, Masuoka K, Wake A,

Morinaga S, Kanemaru M, Hayashi T, Tanaka Y, Taniguchi S, Tokyo Stem Cell Transplant Consortium. “Outcomes of patients with acute leukaemia who relapsed after reduced-intensity stem cell transplantation from HLA-identical or one antigen-mismatched related donors.” Br J Haematol. 129:795-802, 2005.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究

研究課題 臍帯血採取方法の検討

分担研究者 中林 正雄 母子愛育会愛育病院 院長

研究要旨

初年度は、臍帯血採取施設を対象とし、より良い臍帯血採取方法について調査したところ、①経膣分娩時に児を母体腹壁に乗せてから臍帯を結紮するカンガルーケアが臍帯血採取量増加に有用であること、②帝王切開時には、カンガルーケアとほぼ同量の採取が可能なこと、③複数回穿刺は1回穿刺に比べて細菌検査陽性率が高くなること、が示された。

2年度は、カンガルーケアの具体的手技を解説したDVDを作成し、全国の臍帯血採取を行う産科スタッフに対して啓発講義を行った。

3年度は臍帯血バンクへのアンケート調査を行い、経膣分娩時に従来の採取方法(通常法)からカンガルーケアに変更した採取施設について、変更前後の採取量の変化について検討したところ、①臍帯血採取量は臍帯を結紮する時の新生児と子宮・胎盤の高低差が関係すること、②カンガルーケアは母児の愛着形式に有用であるのみならず、臍帯血採取量の増加のために有用なことが示された。

A. 研究目的

臍帯血移植の成績向上および臍帯血移植の対象者増加のためには、可及的に多数の幹細胞(有核細胞)を得ることが求められている。本研究では、初年度は臍帯血採取を行っている産科施設を対象とし、より良い臍帯血採取方法について調査・検討した。

2年度は「より細胞数の多いさい帯血のため」のDVDを全国の臍帯血採取関係者に配布し、また、全国各地の臍帯血バンクにおいて、採取施設の担当者らにむけて講演し、周知啓発を行った。

3年度は、経膣分娩時に児を分娩補助台に下げて臍帯を結紮する従来の採取方法(通常

法)から、児を母体の腹壁に乗せてから臍帯を結紮するカンガルーケアに変更した採取施設について、カンガルーケアの変更前後に臍帯血採取量の変化について検討した。さらに通常法、カンガルーケア、帝王切開時の臍帯血採取量について多施設において比較検討した。

B. 研究方法

1. 東京都赤十字血液センター臍帯血バンクに収集された臍帯血 1,009 例を対象として、臍帯血の採取方法別の採取血液量を検討した。(A)群:経膣分娩時に児を母体の腹部に挙上してから臍帯結紮して採取



した群【カンガルーケア群, N=560】、(B)群:帝王切開群【N=45】、(C)群:経膈分娩時に児を分娩補助台に下げてから臍帯結紮して採取した群【通常法, N=169】の3群について比較した。

2. 「より細胞数の多いさい帯血のために」のDVDを全国の臍帯血採取関係者に配布し、全国各地のさい帯血バンクにおいて、採取施設の産科スタッフに向けて講演した。DVDにより、カンガルーケアの具体的手技を解説し、母児の早期接触による愛着形式の促進を図るためのカンガルーケアが新生児に対して副作用がなく、なおかつ臍帯血採取量の増加のために有用であることを周知啓発した。
3. 全国11のさい帯血バンクネットワークにアンケート調査を行い、従来の経膈分娩時に児を分娩補助台に下げて臍帯を結紮する通常法から、児を母体の腹壁に乗せてから臍帯を結紮するカンガルーケアに変更した採取施設について、カンガルーケアへ変更前後の臍帯血採取量の変化について比較検討した。さらに、通常法、カンガルーケア、帝王切開の採取方法が明らかな採取施設について採取方法による臍帯血採取量を比較検討した。

### C. 研究結果

- 1) 臍帯血の採取様式別の採取量を比較したところ(表1)、経膈分娩直後に児を母親の腹部に挙上したA群(カンガルーケア群)では  $90 \pm 24\text{ml}$ (平均 $\pm$ SD, n=560)と最も多量に採取できた。一方、帝王切開群(B群)では  $82 \pm 23\text{ml}$ (平均 $\pm$ SD, n=45)、経膈分娩で児を挙上しなかった群(C群)では  $66 \pm 20\text{ml}$ (平均 $\pm$

SD, n=169)であった。各群間には各々有意差(p<0.05)を認めた。

- 2) 臍帯血の採取様式別細菌検査陽性率を比較したところ(表2)、一回穿刺による採取群(n=450)では2.2%(10/450)であったが、複数回数穿刺群(n=176)では11.4%(20/176)であり、有意(p<0.001)に高率であった。
- 3) 経膈分娩時に通常法からカンガルーケアに変更した採取施設は2施設であった。カンガルーケアへ変更前と変更後の採取量を比較したところ、2施設ともカンガルーケアに変更してからの採取量が平均4.3~12.0ml(4.9~12.2%)増加した(表3)。
- 4) 臍帯血の採取方法が明らかな採取3施設について採取量を検討したところ、3施設ともカンガルーケアが最も多く、ついで帝王切開、そして通常法の順であった。通常法とカンガルーケアの採取量の差は平均値で5.0~6.9mlであり、通常法と帝王切開の採取量の差は平均0.1~4.3mlであった(表4)

### D. 考察

これまでの成績から臍帯血採取量に影響する因子について考察した(表5)。

- A) 臍帯結紮時の児と子宮・胎盤の位置については以下のことが考えられる。
  - ① カンガルーケアや帝王切開では、児が子宮・胎盤より高い位置にある。そのため、胎盤内の血液が児に流入することが少なく、胎盤に血液がより多く残っているものと考えられる。
  - ② 一方、経験的には、フリースタイルや通常法でも児を置く分娩補助台が母

親と同じ高さの方が、臍帯血が多く採取できることが知られている。

- ③ カンガルーケアを行っている施設でも、臍帯結紮を分娩補助台で行ってから児を母体腹壁に乗せている場合は、臍帯血採取量は通常法を変わらない。

以上の成績から、臍帯血採取量は臍帯を結紮する時の児と子宮・胎盤の高低差が関係するものと考えられた。

- B) 臍帯結紮の時期は、成熟児においては多血による高ビリルビン血症を予防するため、早期結紮が主流である。
- C) 採取する人数については、全国の臍帯血採取産科施設のアンケート調査から、採取量の多い施設では、採取人数が4人以下のことが多かった。採取には、不特定多数よりも採取に慣れた少人数が採取した方が良いといえる。

初年度の調査では、カンガルーケアが通常法に比べて有意に多量の臍帯血採取が可能であったが、3年目のアンケート調査では、通常法からカンガルーケアに変更した施設で、4.3～12.0mlの増加が認められたが、有意差は認められなかった。これは、臍帯血保存基準が厳しくなり、通常法でも多量に採取できたものが保存対象となり、採取した臍帯血の全例を比較しているのではないためであろうと考えられた。

臍帯血採取の産科施設において、分娩介助方法を通常法からカンガルーケアに変更するためには、医療チーム内での周知と同意が必要であり、かなりの時間を要するものである。今後一定期間後に、カンガルーケアへの変更による影響について再調査することも必要であろう。

## E. 結論

成熟児においては、出生直後に新生児を母親の腹部に乗せてから臍帯結紮を行うカンガルーケアは、多血による高ビリルビン血症を防ぎ、母児の早期接触による愛着形成を促進するのみでなく、臍帯血採取に関しても有用であることが示された。

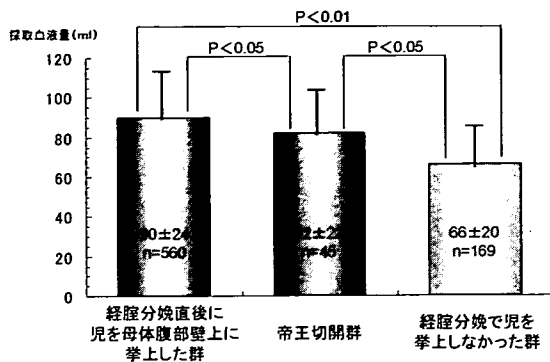
## F. 講演

1. 中林 正雄:よりよいさい帯血採取のために-カンガルーケアのすすめ.-2006年福岡発 さい帯血バンク推進全国大会, 2006.10.22
2. 中林 正雄:さい帯血採取の現状と将来. 第47回母性衛生学会ランチョンセミナー, 名古屋, 2006.11.10
3. 中林 正雄:さい帯血移植～過去から未来の夢に向けて～. マタニティフェスタ2007, 横浜, 2007.04.08
4. 中林 正雄:さい帯血移植～過去から未来の夢に向けて～. 第113回日本産科婦人科学会関東連合地方部会学術集会, 東京, 2007.06.03
5. 中林 正雄:より良いさい帯血採取のために. 日本さい帯血バンクネットワーク採取研修事業, 神奈川, 2007.07.24
6. 中林 正雄:臍帯血移植の現状と課題. 第48回日本母性衛生学会ランチョンセミナー, つくば, 2007.10.12
7. 中林 正雄:より良いさい帯血採取のために. 日本さい帯血バンクネットワーク研修事業, 東京, 2007.12.01
8. 中林 正雄:より良いさい帯血採取のために. 日本さい帯血バンクネットワーク研修事業, 岡山, 2007.12.15

9. 中林 正雄:より良いさい帯血採取のために. 日本さい帯血バンクネットワーク研修事業, 東京, 2008.01.17
10. 中林 正雄:より細胞数の多いさい帯血採取のために. さい帯血バンク採取従事者・ボランティア合同研修会, 兵庫, 2008.02.14
11. 中林 正雄:より細胞数の多いさい帯血採取のために. 地域医療研修センター講演会, 仙台, 2008.03.18

(表1)

## 採取方法別の採取血液量検討



(表2)

## 採取方法別の細菌陽性率

採取方法	細菌陽性率
1回穿刺群 (n=450)	2.2%
複数回数穿刺群 (n=176)	11.0%

P<0.0001

(表3)

## 臍帯血採取量

—カンガルーケア変更前後—

	A	B
変更前(ml)	98.0 ± 22.1	89.8 ± 21.4
(通常法, n)	278	300
変更後(ml)	110.0 ± 21.4	94.1 ± 20.3
(カンガルーケア, n)	67	302
増加量(ml)	12.0	4.3
増加率 (%)	(12.2)	(4.9)

(表4)

## 臍帯血採取量

—採取方法別—

	C	D	E
通常法(ml)	76.0 ± 25.8	81.0 ± 18.0	83.3 ± 18.6
(n)	1,095	563	32
カンガルーケア(ml)	81.8 ± 21.8	87.9 ± 20.9	88.3 ± 22.9
(n)	1,557	285	580
(通常法との差)	(+5.8 ml)	(+6.9 ml)	(+5.0 ml)
帝王切開(ml)	80.3 ± 21.5	84.9 ± 22.6	83.4 ± 21.6
(n)	200	363	38
(通常法との差)	(+4.3 ml)	(+3.9 ml)	(+0.1 ml)

(表5)

## 臍帯血採取量に影響する因子

- A) 臍帯結紮時の児と子宮・胎盤の位置
- 児が胎盤より高い位置 (帝王切開、カンガルーケア)
  - 児が子宮・胎盤と同じ位置 (フリースタイルなど)
  - 児が子宮・胎盤より低い位置 (通常経膣分娩)
- B) 臍帯結紮の時期
- 早期結紮
  - 臍帯拍動後結紮
- C) 採取する人数
- 少人数
  - 多人数