

201432017A

厚生労働科学研究委託費
再生医療実用化研究事業

低酸素性虚血性脳症に対する
自己臍帯血幹細胞治療に関する研究
平成26年度委託業務 成果報告書

業務主任者 新宅 治夫

平成27(2015)年 3月

本報告書は、厚生労働省の再生医療実用化研究委託事業による委託業務として、公立大学法人大阪市立大学が実施した平成26年度「低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療に関する研究」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）	
低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療に関する研究	----- 1
新宅治夫	
(資料1) 平成26年度第1回班会議	
(資料2) 平成26年度第2回班会議	
II. 委託業務成果報告（業務項目）	
1. 低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療に関する研究	----- 14
鍋谷 まこと	
2. 大阪市立総合医療センターにおける低酸素性虚血性脳症に対する	----- 15
脳低温療法の安全性に関する研究	
市場 博幸	
(資料) 脳低温療法の7症例	
3. 低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療に関する研究	----- 20
渡部 晋一	
4. 低酸素性虚血性脳症の神経学的予後予測における慢性期MRIと	----- 21
経時的脳波所見の有用性に関する検討	
早川 昌弘	
5. 臨床研究 プロジェクトの総合推進に関する研究	----- 28
田村 正徳	
6. 自動化細胞処理システムSEPAXによる臍帯血幹細胞分離に関する研究	----- 32
濱崎 考史	
(資料1) 平成26年度第1回班会議	
(資料2) 平成26年度第2回班会議	
7. 低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞移植に関する研究	----- 40
下山 学	
8. 脳性麻痺予防検討会の実施に関する研究	----- 41
岡 明	
9. 低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療に関する研究	----- 44
デザイン・開発プロジェクト管理	
楠田 聡	
10. 臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発	----- 46
辻 雅弘、田口明彦	
11. 臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発	----- 47
佐藤義朗	
12. 臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発 PMDA 審査の準備	----- 48
森 臨太郎	
III. 学会等発表実績	----- 49
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 59

研究題目：「低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療に関する研究」

業務主任者 新宅 治夫 大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学分野教授

研究要旨

低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療を実現し、脳性麻痺の予防のための自己臍帯血幹細胞移植技術の実現を目指し、臍帯血幹細胞移植を可能とする自己臍帯血採取技術、幹細胞分離技術などの最新のヒト幹細胞移植技術を脳低温療法と併用した新しい治療技術の開発を実施するために、臨床研究としてプロジェクトの総合推進、臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発、脳性麻痺予防検討会の実施、基礎研究として臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発、そして PMDA 審査の準備を行った。国内実用化に向けた戦略立案と開発プロジェクト管理を行うことで脳性麻痺に対する本治療法の有効性と安全性を確立し、我が国の医療制度に位置付けられた治療法として承認されれば、患者の生活面への長期にわたる支障が飛躍的に改善されるのみならず、患者やその家族の不安を解消し希望をあたえることで、国民の健康・福祉の向上につながると考えられた。

業務分担者

- 鍋谷まこと 淀川キリスト教病院長、ホスピス・こどもホスピス病院長
- 市場博幸 大阪市立総合医療センター周産期センター部長
- 渡部晋一 倉敷中央病院総合周産期母子医療センター主任部長
- 早川昌弘 名古屋大学医学部附属病院総合周産期母子医療センター 病院教授
- 田村正徳 埼玉医科大学総合医療センター小児科・教授
- 濱崎考史 大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学分野講師
- 下山学 淀川キリスト教病院血液内科部長
- 岡明 東京大学医学部小児科
- 楠田聡 東京女子医科大学母子総合医療センター所長
- 田口明彦 先端医療医療センター再生医療研究部部长
- 辻雅弘 国立循環器病研究センター再生医療部

室長

- 佐藤義朗 名古屋大学医学部附属病院 講師
- 森倫太郎 国立成育医療研究センター政策科学研究部部長

A. 研究目的

脳性麻痺の主要原因の一つとなっている新生児低酸素性虚血性脳症に対して、自己臍帯血幹細胞治療の安全性と有効性について検証することである。低体温療法以外に有効な治療法が今まで見いだせなかった新生児低酸素性虚血性脳症に対する治療法を開発することであり、再生医療として実現性が高く、副作用を起こす可能性が極めて少ない自己臍帯血の利用に注目し、我が国において初めての臨床応用を試みる。

B. 研究方法

ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会で承認された計画に沿って中等症以上の新生児低酸素性虚血性脳症 (HIE)、6 症例を対象に実施する。方法は中等症以上の HIE 児が出生した場合、家族

に説明と同意を得て、臍帯を消毒し CPDA 添加バッグにて臍帯血を採取する。分離剤を添加し、遠心分離等により幹細胞の含まれる白血球成分を抽出する。この過程は承認済み供血用遠心器 SEPAX (スイス Biosafe 社) により完全閉鎖系で行われる。その後冷蔵保存を行う。臍帯血細胞調整液を生後 12-24、36-48、60-72 時間に静脈内に点滴輸注する。実施施設は新生児低酸素性虚血性脳症に対し低体温療法の実施可能な新生児集中治療室を有する全国の 6 施設で、実施症例が 6 例に達した時点でその安全性を検証する。

(倫理面への配慮)

研究内容に関しては事前に家族の同意を得た。また臨床指標を用いて臨床研究を行うことに関しては、当該機関倫理委員会での承認を得た上で患者家族から文書で同意を得ることとした。

C. 研究結果

①臨床研究

8 施設の 9 人の業務分担者で実施した。

a. プロジェクトの総合推進

業務分担者の鍋谷まことは低酸素性虚血性脳症に対する自己幹細胞移植技術の実現において、新生児仮死等の臨床場面での臍帯血幹細胞移植を具体的に行える採取技術、分離技術を 6 施設において標準化することを目的に、1. 大阪市大でのコールドランを東大医科研の方法と比較、シミュレーションを行い検証。安全性について特に評価。6 施設間で情報を共有し、技術の向上確立を図り、2. 海外研究グループとの交流、3. PMDA との交渉に参加した。その結果、1. 通常の帝王切開例においては問題なく採取できることを確認 (H25.3 実施)、また 3 月 6 日の第 2 回班会議で各施設の情報を共有することができ、2. Duke 大学の Cotten 氏と将来の共同研究に向けて会議 (3 月 8 日東京) し、3. 国立成育医療研究センターの森氏と PMDA を訪問し、今後の治験等について意見調整が行えた。

市場博幸は NICU における脳低体温療法の実施能力を評価する目的で、平成 23 年以後に NICU へ入院した HIE 症例 7 例の臨床指標を後方視的に検

討した。その結果、全身冷却法をマニュアル式あるいは自動式の機器を用いて行った中期以後の 5 例では、冷却開始後 1 時間以内に導入を完了し、その後 33.5 度程度に体温を維持することが確実にできており、有害事象は認めなかった。その結果、当センター NICU では安全かつ確実に脳低体温療法を行う能力を有しており、自己臍帯血幹細胞療法を行うための条件を満たしているものと考えられた。

渡部晋一は自己臍帯血幹細胞治療の安全性と有効性について検証するための臍帯血採取・幹細胞分離を清潔、安全に行なうための手順について検証した。その結果、模擬操作により採取臍帯血量にばらつきがあることが判明し、本研究実施に当たっては事前に模擬操作を繰り返し臍帯血採取の技術向上を図る必要があり、他部署との事前の打ち合わせを綿密に行なうことが必要であることを明らかにした。

早川昌弘は、HIE の予後予測として、慢性期の簡便な頭部 MRI 分類と経時的脳波所見の有用性について検討し、併せて、治療による経時的脳波所見の推移、頭部 MRI 所見と脳波所見との関連性について検討した。その結果、HIE 児において、適切な時期に行われた頭部 MRI における簡便なパターン分類と脳波所見での神経学的予後予測が可能であることを明らかにした。

田村正徳は、低体温療法の適応になる低酸素性虚血性脳症の児が院内出生したときに迅速かつ無菌的に自己臍帯血を採取し、SEPAX-II を用いて適切にかつ効率よく幹細胞を分離してプロトコールに則って患児に投与するための院内体制を確立した。その結果、関係するスタッフが緊急時に協力して臍帯血採取から幹細胞分離までの作業を遂行する体制を確立することが出来た。

b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発

濱崎考史は、「新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞療法」で使用する自動化細胞処理システム SEPAX による臍帯血幹細胞分離の安全性を確認するためのコールドランを実施した。その結果、分離後の細胞の生存率、幹細胞

数は分離後 72 時間の時点でも 90%以上保たれることを確認した。

下山学は、臍帯血の採取および臍帯血に含まれる幹細胞の分離の安全性と効率性を高めた手技を確立するために、Sepax が納入された時に分娩後の胎盤からの臍帯血の採取、供血用遠心機 Sepax による赤血球除去、血漿除去、有核細胞の濃縮の過程における時間、温度管理、保存環境について検討を行う準備をすすめ、納入されて使用可能になった時点で遅滞なく活用できるように本研究に携わる産科、小児科、血液内科、臨床検査部の医師がマニュアル、プロトコールの確認、検体の院内搬送、保存等につき検討を行った。

c. 脳性麻痺予防検討会の実施

岡明、楠田聡らは、米国で行われた Duke University Medical Center での HIE に対する臍帯血幹細胞治療の第 1 相試験の責任者である Cotten 博士を招聘し、本研究についての議論を行った。その結果、米国での治療では臍帯血幹細胞は出生後 48 時間までの 2 回投与となっている点について議論を行ったが、本研究班では 72 時間までのより多数回の投与をすることにより、長い期間に十分な細胞数を投与が可能となるなどの利点があることが確認された。また、感染対策、臍帯血収集の手技などについても情報を得ることができた。

②基礎研究

3 施設 3 人の業務分担者で実施した。

・臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発

田口明彦、辻雅弘らは、新生児低酸素性虚血性脳症マウスおよび脳梗塞カニクイザルモデルを用いて幹細胞の静脈内投与の安全性と体内細胞分布を検討した。その結果、双方のモデルとも有害事象は認めず、投与した細胞は脳や肺よりも脾臓や肝臓に集積する傾向があることを明らかにした。

佐藤義朗は、モデルラットを用いて、臍帯血幹細胞治療の作用機序を調べるために、免疫組織学的に各種急性期受傷マーカーを評価した。その結

果、抗酸化ストレス、抗ミクログリア活性、抗アポトーシス作用があることを明らかにした。

③PMDA 審査の準備

森倫太郎は、HIE に対する自己臍帯血幹細胞治療に関する研究を実施するにあたり、PMDA と事前面談を行った。その結果、セパックス II が医療機器クラス分類 II で PMDA の承認を受ける必要があることが判明した。

D. 考察

平成 26 年度は、プロジェクトの総合推進、臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発、脳性麻痺予防検討会の実施などの臨床研究、臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発などの基礎研究、そして PMDA 審査の準備などを行った。その結果、再生医療として実現性が高く、副作用を起こす可能性が極めて少ない自己臍帯血の利用に注目した HIE に対する自己臍帯血幹細胞治療という新しい治療法が、平成 27 年度に我が国において初めての臨床応用を試みることができると考えられた。

E. 結論

平成 27 年度に HIE に対する自己臍帯血幹細胞治療を実施する準備が完了した。

F. 健康危険情報 無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Ninomiya E, Hattori T, Toyoda M, Umezawa A, Hamazaki T, Shintaku H. Glucocorticoids promote neural progenitor cell proliferation derived from human induced pluripotent stem cells. Springerplus. 2014;15(3):527.
- Shintaku H, Ohura T. Sapropterin Is Safe and Effective in Patients less than 4-Years-Old with BH4-Responsive Phenylalanine Hydroxylase Deficiency. J Pediatr. 2014;165(6):1241-4.
- Sakuma S, Tokuhara D, Otsubo H, Yamano T, Shintaku H. Dynamic Change in Cells Expressing IL-1 β in Rat Hippocampus after Status Epilepticus. Jpn Clin Med. 2014;13(5):25-32.
- Nomura S, Nozaki S, Hamazaki T, Takeda T,

- Ninomiya E, Kudo S, Hayashinaka E, Wada Y, Hiroki T, Fujisawa C, Kodama H, Shintaku H, Watanabe Y. PET imaging analysis with ⁶⁴Cu in disulfiram treatment for aberrant copper biodistribution in Menkes disease mouse model. *J Nucl Med.* 2014 ;55(5):845-51.
- Cho Y, Tokuhara D, Shimono T, Yamamoto A, Higashiyama S, Kotani K, Kawabe J, Okano Y, Shiomi S, Shintaku H. Role of per-rectal portal scintigraphy in long-term follow-up of congenital portosystemic shunt. *Pediatr Res.* 2014;75(5):658-62.
 - Abe J, Nakamura K, Nishikomori R, Kato M, Mitsui N, Izawa K, Awaya T, Kawai T, Yasumi T, Toyoshima I, Hasegawa K, Ohshima Y, Hiragi T, Sasahara Y, Suzuki Y, Kikuchi M, Osaka H, Ohya T, Ninomiya S, Fujikawa S, Akasaka M, Iwata N, Kawakita A, Funatsuka M, Shintaku H, Ohara O, Ichinose H, Heike T. A nationwide survey of Aicardi-Goutières syndrome patients identifies a strong association between dominant TREX1 mutations and chilblain lesions: Japanese cohort study. *Rheumatology (Oxford).* 2014;53(3):448-58.
 - Furujo M, Kinoshita M, Ichiba Y, Romstad A, Shintaku H, Kubo T. Clinical characteristics of epileptic seizures in a case of dihydropteridine reductase deficiency. *Epilepsy & Behavior Case Reports* 2. 2014. 37–39
2. 学会発表
- Nabetani M, Shintaku H: The Incidence of HIE and the Nationwide Registration System of Brain Hypothermia for Infants with HIE. PAS/ASPR 2014 (Vancouver) May3-5, 2014.
 - Shintaku H, Nomura S, Nozaki S, Takeda T, Hamazaki T, Fujioka H, Kodama H, Watanabe Y.: Effects copper chelators on copper biodistribution in menkes disease model mice by using micropet. DDDN 2014 (Basel) Sep. 4-7, 2014.
 - Shintaku H: Longterm treatment of tetrahydrobiopterin (BH4) and neurotransmitter precursors in patients with BH4 deficiency in japan. International Conference on Neurology & Epidemiology (ICNE) 2014 (Kuala Lumpur) Nov. 6-8, 2014.
 - Shintaku H, Nabetani M, Tamura M, Kusuda S, Hayakawa M, Watabe S, Ichiba H, Hamazaki T, Tsuji M, Nagamura T, Taguchi A, Sato Y, Mori R: New clinical trial of Autologous Cord Blood Cell Therapy for newborn HIE in Japan. Hot Topics in Neonate 2014 (Washington DC) Dec.7-11, 2014.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 無し
 2. 実用新案登録 無し
 3. その他 無し

平成26年度厚生労働科学研究費補助金
再生医療実用化研究事業

『低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血
幹細胞治療』に関する研究

第1回班会議

新宅治夫
大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学

平成26年12月21日 東京大学医科学研究所附属病院 (会議室:1号館2階セミナー室)

脳性麻痺

- 胎生期の原因
 - 脳の发育過程で問題が生じる脳形成異常
 - 脳出血
 - 虚血性脳障害
- 周産期の原因
 - 胎児仮死
 - 新生児仮死
 - 核黄疸
 - 脳室周囲白質軟化症(PVL)
- 出生後の原因
 - 脳炎・髄膜炎
 - 脳血流障害

↓

低酸素性虚血性脳症

↓

脳性麻痺の主たる原因

↓

根本的な治療法なく、病態解明、予防・治療法開発が必要

周産期の低酸素性虚血性脳症(HIE)

脳低温療法 + 薬物治療

↓

半数は重篤な後遺症を生じる。

脳性麻痺の主たる原因

いったん脳障害が完成し脳性麻痺の病態を呈すると、現在の科学において有効な治療法はなかった。

↓

自己臍帯血幹細胞治療

背景:臍帯血幹細胞移植の効果

仮死:500人
↓
Cooled only
↓
脳性麻痺:300人
↓
+Cells
↓
脳性麻痺:150人

<Cotten J. Pediatrics 2014>

	Cells n = 18 (%)	Cooled only n = 46 (%)	P
Survived to 15 mo	16 (89)	35 (76)	.25
Survival with all 3 Bayley domain scores ≥ 85	13 (72)	19 (41)	.05

臨床試験(H26~H28)

家族に説明同意書

↓

HIEで出生

↓

臍帯血の採取

↓

セパックスでCD34を分離

↓

自己臍帯血幹細胞移植

↓

家族に説明同意書

↓

自己臍帯血幹細胞移植

↓

自己臍帯血幹細胞移植

↓

自己臍帯血幹細胞移植

↓

予後調査

↓

生後6ヶ月、12ヶ月、1歳6ヵ月

↓

脳低温療法

↓

予防・治療薬として臨床応用化

当該年度における成果の目標及び業務の方法

①臨床研究

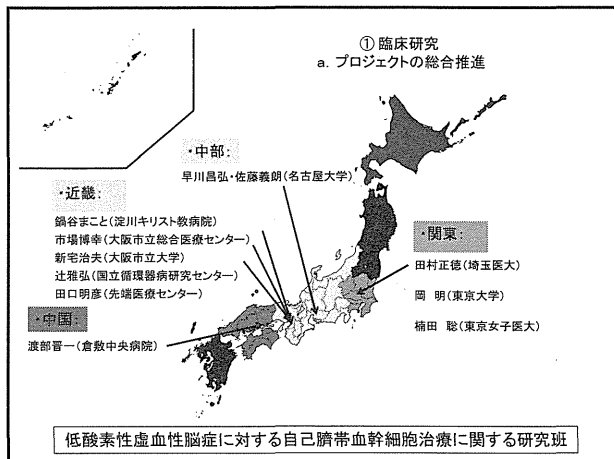
a. プロジェクトの総合推進
新生児仮死等を早期発見し、脳低温療法を実施する中程度以上の死因に対して臍帯血幹細胞移植を併用し、最新のヒト幹細胞移植を推進する。

b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発
臍帯血の採取、幹細胞の分離とその移植が安全に効率よく行える術を開発する。

c. 脳性麻痺予防に関する国際共同研究の検討会の実施
本研究で先行する米国と脳性麻痺予防の国際共同研究について検討する国際会議を開催する。

②基礎研究
臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発を行う。

③PMDAの審査の準備
移植に用いる臍帯血幹細胞の医薬品としての承認を受ける準備を行う。



当該年度における成果の目標及び業務の方法

①臨床研究

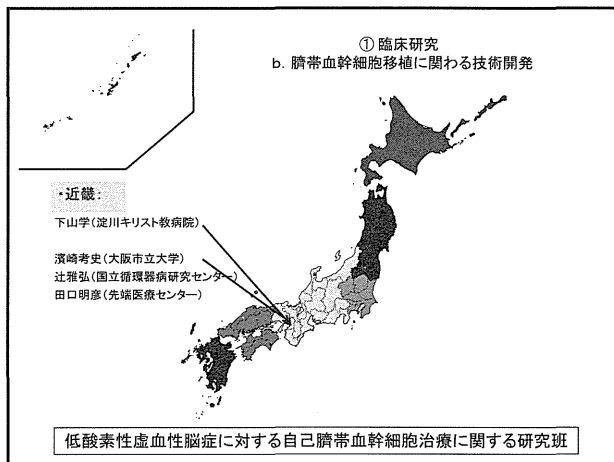
a. プロジェクトの総合推進
新生児仮死等を早期発見し、脳低温療法を実施する中程度以上の死児に対して臍帯血幹細胞移植を併用し、最新のヒト幹細胞移植を推進する。

b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発
臍帯血の採取、幹細胞の分離とその移植が安全に効率よく行える術を開発する。

c. 脳性麻痺予防に関する国際共同研究の検討会の実施
本研究で先行する米国と脳性麻痺予防の国際共同研究について検討する国際会議を開催する。

②基礎研究
臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発を行う。

③PMDAの審査の準備
移植に用いる臍帯血幹細胞の医薬品としての承認を受ける準備を行う。



当該年度における成果の目標及び業務の方法

①臨床研究

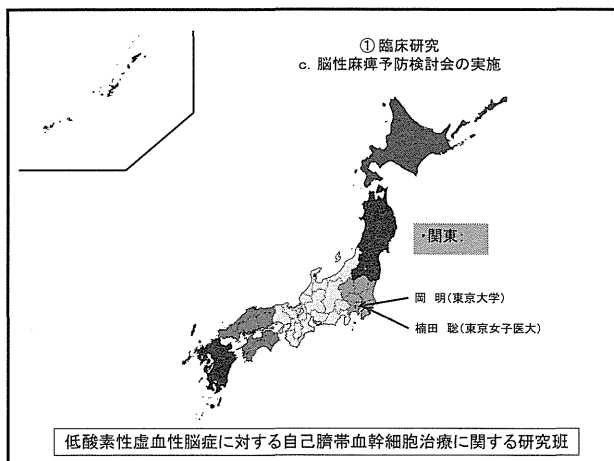
a. プロジェクトの総合推進
新生児仮死等を早期発見し、脳低温療法を実施する中程度以上の死児に対して臍帯血幹細胞移植を併用し、最新のヒト幹細胞移植を推進する。

b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発
臍帯血の採取、幹細胞の分離とその移植が安全に効率よく行える術を開発する。

c. 脳性麻痺予防に関する国際共同研究の検討会の実施
本研究で先行する米国と脳性麻痺予防の国際共同研究について検討する国際会議を開催する。

②基礎研究
臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発を行う。

③PMDAの審査の準備
移植に用いる臍帯血幹細胞の医薬品としての承認を受ける準備を行う。



当該年度における成果の目標及び業務の方法

①臨床研究

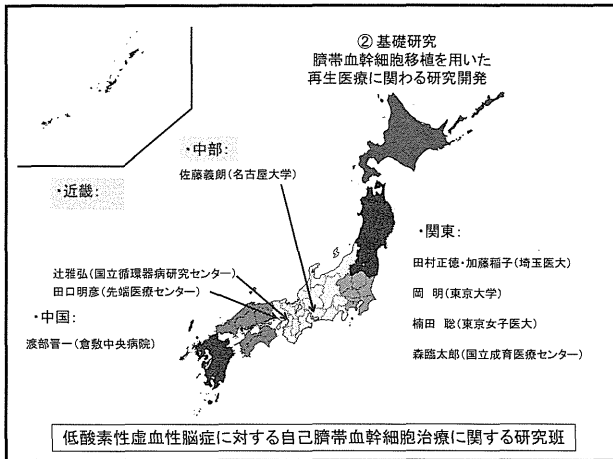
a. プロジェクトの総合推進
新生児仮死等を早期発見し、脳低温療法を実施する中程度以上の死児に対して臍帯血幹細胞移植を併用し、最新のヒト幹細胞移植を推進する。

b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発
臍帯血の採取、幹細胞の分離とその移植が安全に効率よく行える術を開発する。

c. 脳性麻痺予防に関する国際共同研究の検討会の実施
本研究で先行する米国と脳性麻痺予防の国際共同研究について検討する国際会議を開催する。

②基礎研究
臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発を行う。

③PMDAの審査の準備
移植に用いる臍帯血幹細胞の医薬品としての承認を受ける準備を行う。



当該年度における成果の目標及び業務の方法

①臨床研究

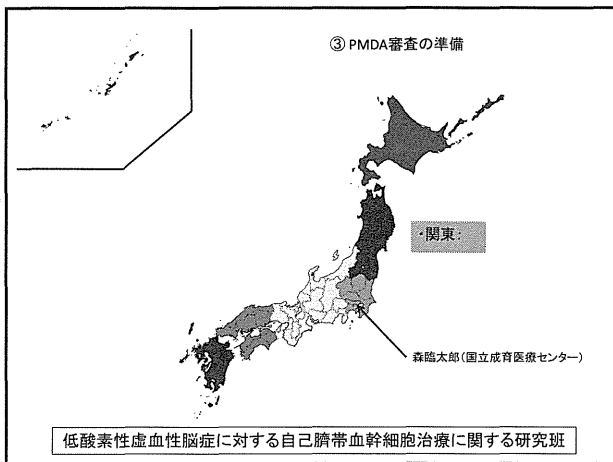
a. プロジェクトの総合推進
新生児仮死等を早期発見し、脳低温療法を実施する中程度以上の
仮死児に対して臍帯血幹細胞移植を併用し、最新のヒト幹細胞移
植治療を推進する。

b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発
臍帯血の採取、幹細胞の分離とその移植が安全に効率よく行える
術を開発する。

c. 脳性麻痺予防に関する国際共同研究の検討会の実施
本研究で先行する米国と脳性麻痺予防の国際共同研究について
検討する国際会議を開催する。

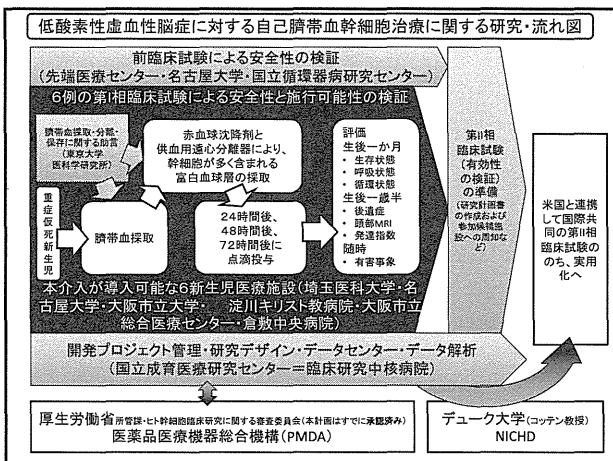
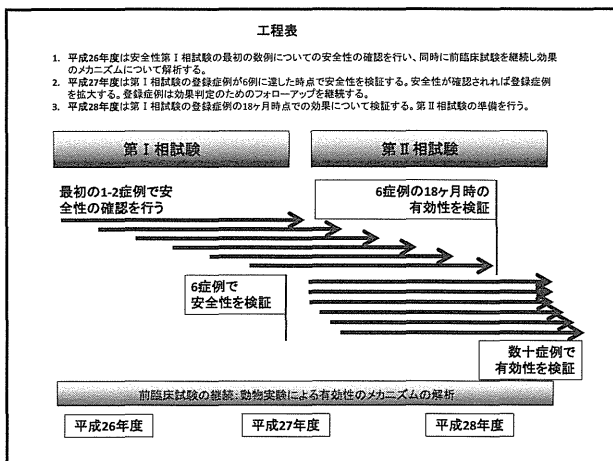
②基礎研究
臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発を行う。

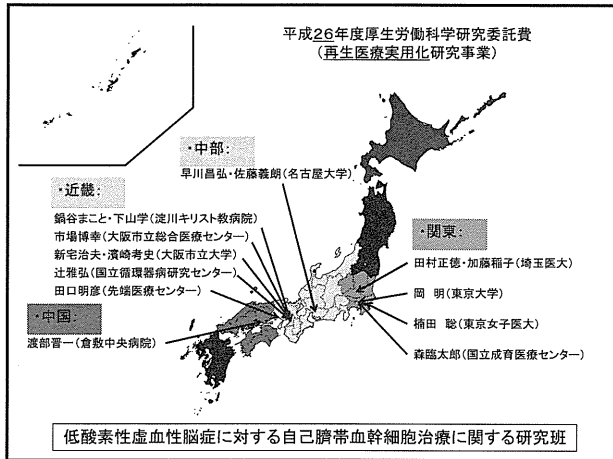
③PMDAの審査の準備
移植に用いる臍帯血幹細胞の医薬品としての承認を受ける準備を行
う。



IV. 業務実施計画

区分	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
①臨床研究												
a. プロジェクトの総合推進										←	→	
b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開 発										←	→	
c. 脳性麻痺予防検討会の実施												△
②基礎研究												
臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に 関わる研究開発										←	→	
③PMDA審査の準備											←	→





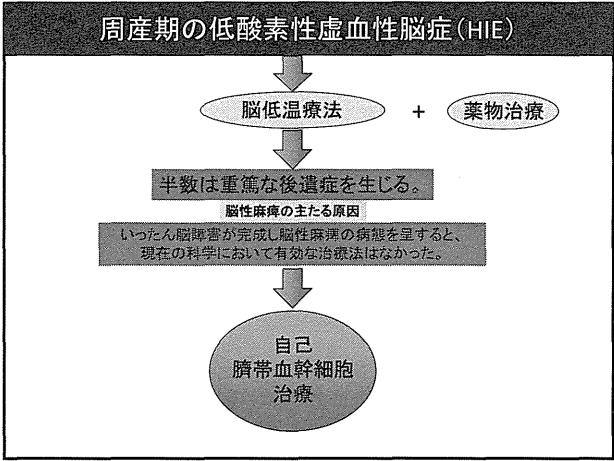
平成26年度厚生労働科学研究費補助金
再生医療実用化研究事業

『低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血
幹細胞治療』に関する研究

第2回班会議

新宅治夫
大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学

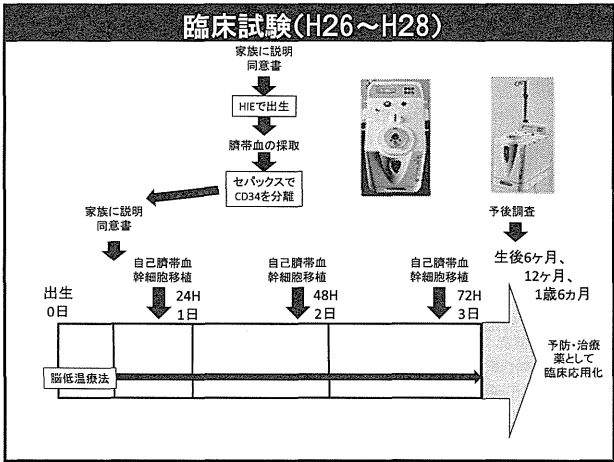
平成27年3月6日 東京学士会館（会議室：203号室）



背景: 臍帯血幹細胞移植の効果

<Cotten J. Pediatrics 2014>

	Cells n = 18 (%)	Cooled only n = 46 (%)	P
Survived to 15 mo	16 (89)	35 (76)	.25
Survival with all 3 Bayley domain scores ≥ 85	13 (72)	19 (41)	.05



当該年度における成果の目標及び業務の方法

①臨床研究

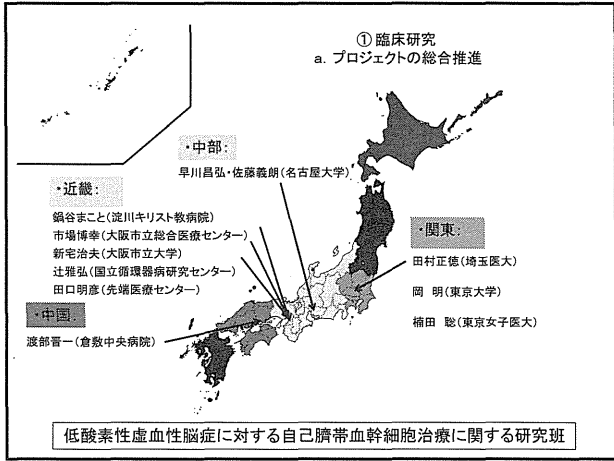
a. プロジェクトの総合推進
新生児仮死等を早期発見し、脳低温療法を実施する中程度以上の死児に対して臍帯血幹細胞移植を併用し、最新のヒト幹細胞移植を推進する。

b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発
臍帯血の採取、幹細胞の分離とその移植が安全に効率よく行える術を開発する。

c. 脳性麻痺予防に関する国際共同研究の検討会の実施
本研究で先行する米国と脳性麻痺予防の国際共同研究について討ずる国際会議を開催する。

②基礎研究
臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発を行う。

③PMDAの審査の準備
移植に用いる臍帯血幹細胞の医薬品としての承認を受ける準備を行う。



当該年度における成果の目標及び業務の方法

①臨床研究

a. プロジェクトの総合推進

新生児仮死等を早期発見し、脳低温療法を実施する中程度以上の死児に対して臍帯血幹細胞移植を併用し、最新のヒト幹細胞移植治療を推進する。

b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発

臍帯血の採取、幹細胞の分離とその移植が安全に効率よく行える術を開発する。

c. 脳性麻痺予防に関する国際共同研究の検討会の実施

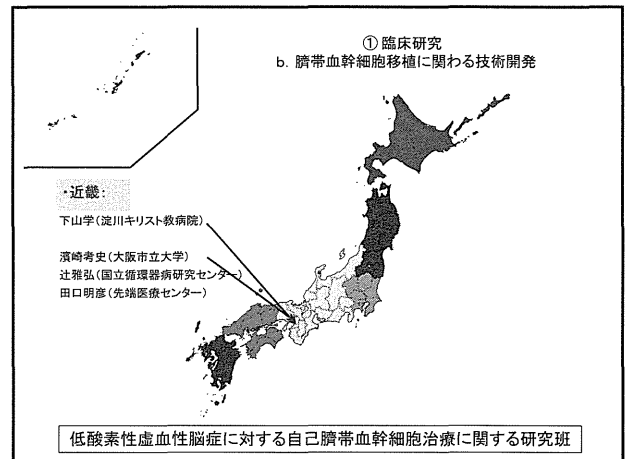
本研究で先行する米国と脳性麻痺予防の国際共同研究について討する国際会議を開催する。

②基礎研究

臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発を行う。

③PMDAの審査の準備

移植に用いる臍帯血幹細胞の医薬品としての承認を受ける準備を行う。



当該年度における成果の目標及び業務の方法

①臨床研究

a. プロジェクトの総合推進

新生児仮死等を早期発見し、脳低温療法を実施する中程度以上の死児に対して臍帯血幹細胞移植を併用し、最新のヒト幹細胞移植治療を推進する。

b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発

臍帯血の採取、幹細胞の分離とその移植が安全に効率よく行える術を開発する。

c. 脳性麻痺予防に関する国際共同研究の検討会の実施

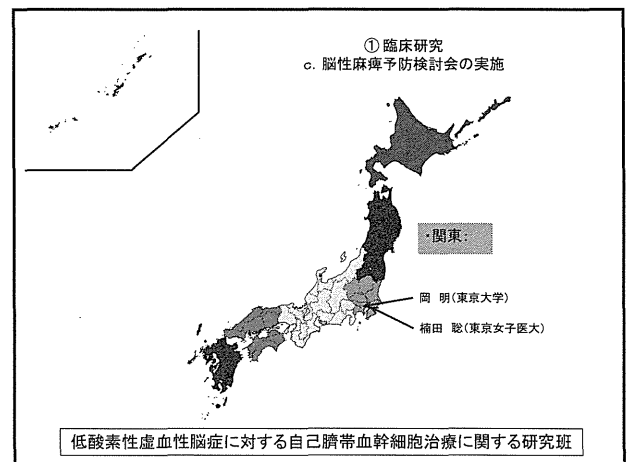
本研究で先行する米国と脳性麻痺予防の国際共同研究について討する国際会議を開催する。

②基礎研究

臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発を行う。

③PMDAの審査の準備

移植に用いる臍帯血幹細胞の医薬品としての承認を受ける準備を行う。



当該年度における成果の目標及び業務の方法

①臨床研究

a. プロジェクトの総合推進

新生児仮死等を早期発見し、脳低温療法を実施する中程度以上の死児に対して臍帯血幹細胞移植を併用し、最新のヒト幹細胞移植治療を推進する。

b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発

臍帯血の採取、幹細胞の分離とその移植が安全に効率よく行える術を開発する。

c. 脳性麻痺予防に関する国際共同研究の検討会の実施

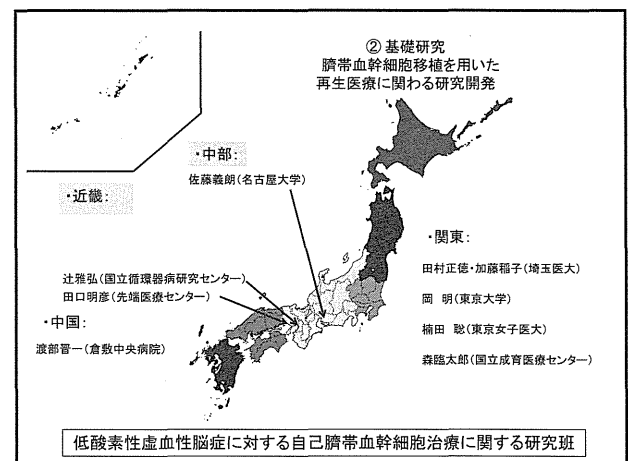
本研究で先行する米国と脳性麻痺予防の国際共同研究について討する国際会議を開催する。

②基礎研究

臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発を行う。

③PMDAの審査の準備

移植に用いる臍帯血幹細胞の医薬品としての承認を受ける準備を行う。



当該年度における成果の目標及び業務の方法

①臨床研究

a. プロジェクトの総合推進

新生児仮死等を早期発見し、脳低温療法を実施する中程度以上の死因に対して臍帯血幹細胞移植を併用し、最新のヒト幹細胞移植を推進する。

b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発

臍帯血の採取、幹細胞の分離とその移植が安全に効率よく行える術を開発する。

c. 脳性麻痺予防に関する国際共同研究の検討会の実施

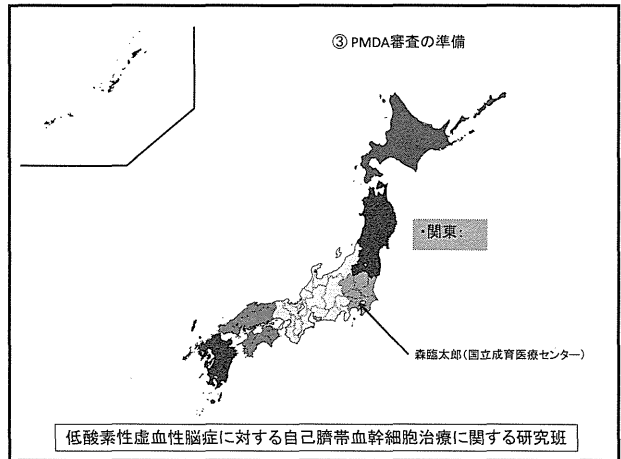
本研究で先行する米国と脳性麻痺予防の国際共同研究について検討する国際会議を開催する。

②基礎研究

臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発を行う。

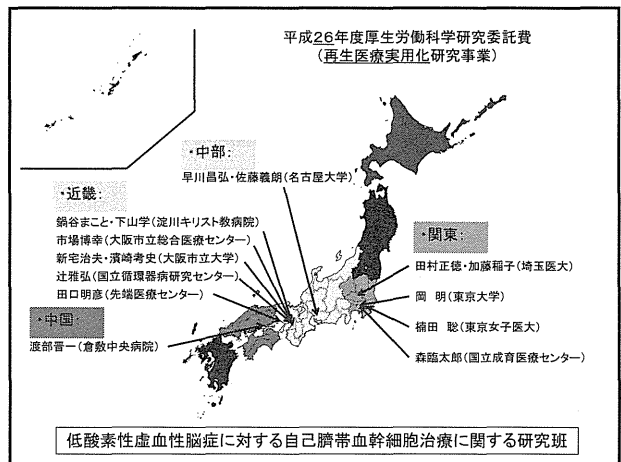
③PMDAの審査の準備

移植に用いる臍帯血幹細胞の医薬品としての承認を受ける準備を行う。



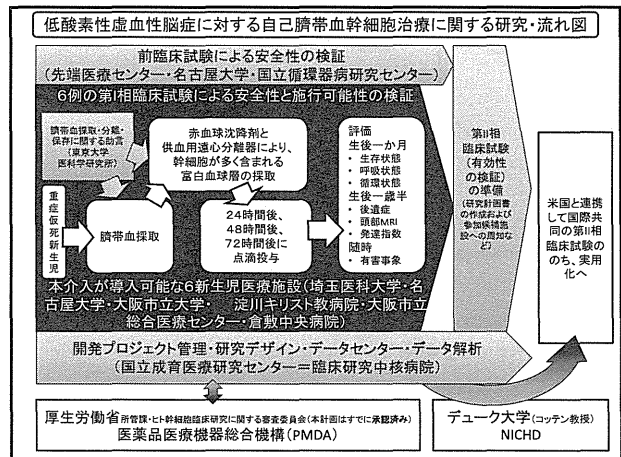
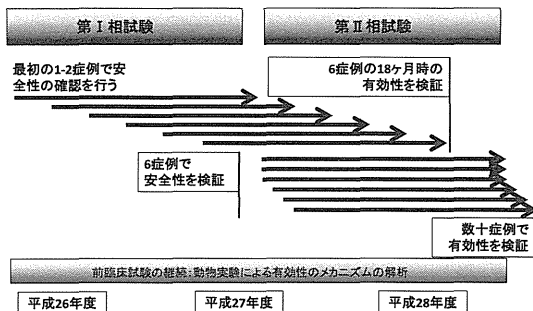
IV. 業務実施計画

区分	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
①臨床研究												
a. プロジェクトの総合推進												
b. 臍帯血幹細胞移植に関わる技術開発												
c. 脳性麻痺予防検討会の実施												△
②基礎研究												
臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発												
③PMDA 審査の準備												



工程表

- 平成26年度は安全性第I相試験の最初の症例についての安全性の確認を行い、同時に前臨床試験を継続し効果のメカニズムについて解析する。
- 平成27年度は第I相試験の登録症例が6例に達した時点で安全性を検証する。安全性が確認されれば登録症例を増加する。登録症例は効果判定のためのフォローアップを継続する。
- 平成28年度は第I相試験の登録症例の18ヶ月時点での効果について検証する。第II相試験の準備を行う。



背景

- ・ 周産期の低酸素性虚血性脳症(HIE)は脳性麻痺の主たる原因である。
- ・ 重症のHIEは、出生1000人に対し1-6人の割合で生じる。
- ・ 低体温療法などの有効な治療法を行った場合でも半数は重篤な後遺症を生じる。
- ・ いったん脳障害が完成し脳性麻痺の病態を呈すると、現在の科学において有効な治療法はなかった。
- ・ 米国でDuke大学Kurzburg医師より、出生時の臍帯血を脳性麻痺児に静脈注射したところその症状に劇的な改善が見られる症例があることが報告された。
- ・ 米国を中心にHIEに対する幹細胞療法の臨床試験が行われ始めたが我が国ではまだ全く行われていない。

目的

- ・ 自己臍帯血幹細胞治療による臨床試験によって、これらの治療の効果と副作用について検証すると共に、その治療システムの構築における問題点についても解明したい。
- ・ 本研究の特色は、副作用を起こす可能性が極めて少ない自己臍帯血の利用に注目したことである。
- ・ 日本の東西の各拠点病院の周産期及び小児神経を専門とする医師を分担研究者とする研究班を構成し、各地区における実態調査を行う。
- ・ 初年度は臍帯血幹細胞移植治療のための臍帯血保存法の研究を行い臨床試験の準備を行う。

臨床試験の準備

【対象】

両親の同意のもと、廃棄される予定の臍帯より採取した臍帯血

【同意】

両親に下記の2点について説明し同意を得る

- ・ 脳性麻痺の原因のHIEの説明
- ・ 臍帯血保存の説明

【試験】

- ・ 臍帯血の分離、精製を行い、その幹細胞成分と安全性について検証
- ・ 実際のHIE児の出生における自己臍帯血の、採取、分離、保存を行う

臨床試験の準備(I - II 年度)

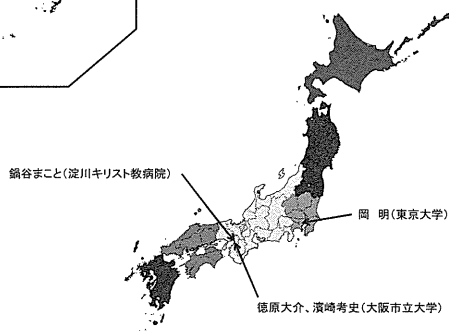
東京大学医科学研究所セルプロセッシングセンター

- ・ 長村登紀子氏の助言

【担当研究者】

- ・ 岡 明(東京大学)
- ・ 鍋谷まこと、下山学(淀川キリスト教病院)
- ・ 濱崎考史(大阪市立大学)

臨床試験の準備(I - II 年度)

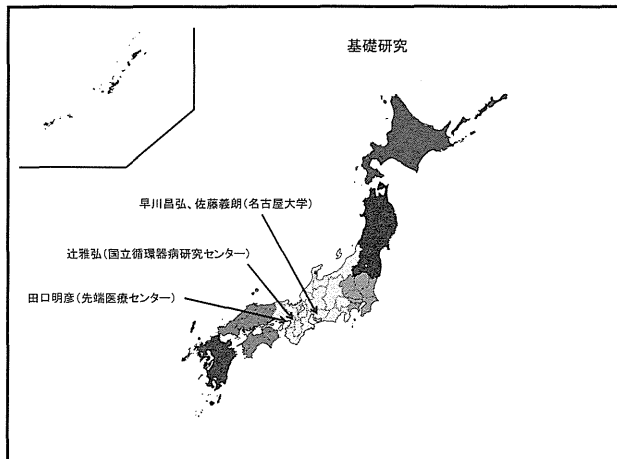


基礎研究

- ・ 海外において自己臍帯血の安全性とその効果については検証されているが、我が国独自の実験データはまだ乏しい。
- ・ 脳障害のモデルの動物実験を用いてその効果と安全性の検証を行う。

【担当研究者】

- ・ 田口明彦(先端医療センター)
- ・ 辻雅弘(国立循環器病研究センター)
- ・ 早川昌弘、佐藤義朗(名古屋大学)



臨床試験

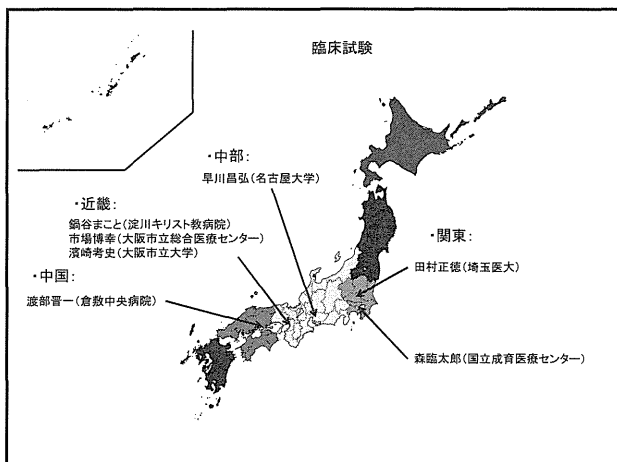
- 米国の I 相試験で採用された方法に順じて、臨床試験を行う

【対象】

- 中等症以上の低酸素性虚血性脳症

【担当研究者】

- 関東: 田村正徳(埼玉医大)、森臨太郎(国立成育医療センター)、
- 中部: 早川昌弘(名古屋大学)
- 近畿: 市場博幸(大阪市立総合医療センター)、鍋谷まこと(淀川キリスト教病院)、濱崎考史(大阪市立大学)
- 中国: 渡部晋一(倉敷中央病院)



臨床試験計画

1. 中等症以上のHIE児が出生した場合
 - 臍帯を十分消毒しCPDA添加のバッグにて臍帯血を採取
 - 遠心分離等により幹細胞の含まれる白血球成分の分離
 - その後冷蔵保存を行う
1. 米国臨床治験プロトコルに準拠し生後72時間以内に採取量によって1-3回に分けて輸注を実施する
2. 自己臍帯血治療中、入院中、及び退院時の情報
1. 生後6ヶ月、12ヶ月、1歳6か月時の情報
2. 転帰:運動機能の評価

低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療に関する研究

担当責任者 鍋谷 まこと 淀川キリスト教病院長、ホスピス・こどもホスピス病院長

研究要旨

低酸素性虚血性脳症に対する、自己臍帯血幹細胞治療法の開発と安全性の確認を実施6施設で情報を交換しながら確実に実施する体制を整える。PMDAや海外との連携も進めていく

A. 研究目的

低酸素性虚血性脳症に対する自己幹細胞移植技術の実現において、新生児仮死等の臨床場面での臍帯血幹細胞移植を具体的に行える採取技術、分離技術を6施設において標準化する。またその技術の安全性について特に評価、確立を目指す。

B. 研究方法

1. 大阪市大でのコールドランを東大医科研の方法と比較、シミュレーションを行い検証。安全性について特に評価。6施設間で情報を共有し、技術の向上確立を図る。

2. 海外研究グループとの交流

3. PMDAとの交渉に参加
(倫理面への配慮)

大阪市大および当院の倫理委員会

C. 研究結果

1. 通常の帝王切開例においては問題なく採取できることを確認 (H25.3実施) また3.6の班会議で各施設の情報を共有。

2. Duke大学Cotten氏と将来の共同研究に向けて会議(3/7東京にて)

3. 国立成育森氏とPMDAを訪問。今後の治験等について意見調整

D. 考察

出生1000に1-2例と少なく実施方法の標準化に手順を踏んでいく必要あり

E. 結論

まず安全な臍帯血の採取・分離法を確立するとともに、将来の日米共同研究への準備が行えた。同時にPMDAとの調整も適宜進めていく。

F. 健康危険情報

無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

別紙

2. 学会発表

A;Candidate Strategies and Potential Targeted Therapy for Newborns suffering from HIE

PAS Topic Symposium2015 Vancouver 2014,05,04

B;新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血療法臍帯血による再生医療研究会,東京2014.7.12

C; 新生児低体温療法(Consensus2010から登録事業まで)第59回未熟児新生児学会シンポジウム,愛媛,2014,11,12

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

大阪市立総合医療センターにおける低酸素性虚血性脳症に対する脳低体温療法の安全性に関する研究

担当責任者 市場 博幸 大阪市立総合医療センター周産期センター部長

低酸素性虚血性脳症（HIE）に対する自己臍帯血幹細胞療法を安全に行うためには、幹細胞治療に併用される脳保護療法を安全かつ確実に行うことが必須である。当センターNICUにおける脳低体温療法の実施能力を評価する目的で、過去に経験した脳低体温療法症例の臨床経過を検討した。平成23年以後に当センターNICUへ入院したHIE症例7例の臨床指標を後方視的に検討した。全身冷却法をマニュアル式あるいは自動式の機器を用いて行った中期以後の5例では、冷却開始後1時間以内に導入を完了し、その後33.5度程度に体温を維持することが確実にできていた。有害事象は認めなかった。当センターNICUでは安全かつ確実に脳低体温療法を行う能力を有しており、自己臍帯血幹細胞療法を行うための条件を満たしているものと考えられる。

A. 研究目的

低酸素性虚血性脳症（HIE）に対する自己臍帯血幹細胞療法を安全に行うためには、幹細胞療法に併用される脳保護療法を安全かつ確実に行うことが必須である。脳保護療法の中でも脳低体温療法は施行中に厳密な体温管理、呼吸・循環管理が必要なために、これを行う医師、看護師をはじめとするすべての医療従事者がこの治療に十分に精通していなければならない。当センターNICUにおける脳低体温療法の実施能力を評価する目的で、過去に経験した脳低体温療法症例の臨床経過を検討した。

B. 研究方法

平成 23 年以後に当センターNICU へ入院した HIE 症例のうち、脳低体温療法を施行された 7 例の診療録から、臨床経過、冷却方法、バイタルサイン、体温、導入時間、復温時間、有害事象などの臨床指標を後方視的に検討した。脳低体温療法には脳保護目的で硫酸マグネシウム、エリスロポエチンを併用した。すべての症例は自己臍帯血幹細胞療法を開始する以前の症例である。

（倫理面への配慮）

治療内容に関しては事前に家族の同意を得た。また臨床指標を用いて臨床研究を行うことに関しては、当センター倫理委員会での承認を得た上で患者家族から文書で同意を得た。

C. 研究結果

症例 1（選択的頭部冷却法、マニュアル式）

在胎 40 週 4 日出生体重 3337g AS 1/1/2。経膈分娩、院外出生の男児。生後自発呼吸が確立せず気管内挿管、新生児搬送となった。来院時、痙攣を認めた。マニュアル式の Meditherm を使用し選択的頭部冷却法にて生後 3 時間で脳低体温療法を開始し、導入に約 20 時間を要した。維持期には 34 度にて安定。開始から 72 時間経過した時点で復温を開始し、完了までに 3 日間を要した。

症例 2（選択的頭部冷却、マニュアル式）

1 月下旬に屋外に放置されているところを発見されて救急搬送となった児。救急隊到着時の AS は 5-6 点。呼吸は弱く徐脈であり、胸骨圧迫を施行しながら当院へ搬送。来院時は直腸温 20.8℃と著明な低体温で、35 度まで復温を行い、マニュアル式の Meditherm を用い選択的頭部冷却法にて脳低体温療法を開始。33 から 34 度で維持。開始から 72 時間で復温を開始し 2 日間で完了。

症例 3（全身冷却法、マニュアル式）

在胎 37 週 0 日、出生体重 3080g、AS 1/5/6。経膈分娩、院外出生の女児。出生後自発呼吸・体動なく 1 分後に気管内挿管、その後新生児搬送。マニュアル式の Meditherm にて生後 4 時間から脳低体温療法を全身冷却法にて開始。1 時間で導入完了し、その後は 33-34 度で維持。生後 90 時間から 8 時間かけて復温。

症例 4（全身冷却法、自動調節式）

在胎 41 週 5 日、出生体重 2856g、AS 3/4。経膈分娩、院外出生の女児。生後 5 分半で自発呼吸は確立したが、チアノーゼが遷延し、以降もマスク

CPAP での呼吸補助を要した。生後 40 分で搬送医が到着、気管内挿管を施行。生後 3 時間から、自動調節式の Arctic Sun を用い全身冷却法にて脳低体温療法を開始。1 時間で導入完了、33-34 度で維持し 72 時間後から 8 時間かけて復温。

症例 5（全身冷却法、自動調節式）

在胎 41 週 4 日、出生体重 2974g、AS 1/4。分娩停止、児心音低下のために緊急帝王切開にて出生。羊水混濁著明で、生後 10 分に気管内挿管、サーファクタント投与後新生児搬送。自動調節式の Arctic Sun を用いて全身冷却法にて生後 5 時間より脳低体温療法を開始。1 時間で導入完了し、33-34 度で維持。開始後 72 時間から 8 時間かけて復温。

症例 6（全身冷却法、自動調節式）

在胎 41 週 4 日、出生体重 3542g、AS 2/6、羊水混濁あり。出生時啼泣なく、マスクバギングにて自発呼吸が確立せず生後 8 分で気管内挿管され新生児搬送。自動調節式の Arctic Sun を用いて全身冷却法にて生後 3 時間半より脳低体温療法を開始。1 時間で導入完了し、33-34 度で維持。生後 76 時間から 8 時間かけて復温。

症例 7（全身冷却法、自動調節式）

在胎 36 週 0 日、出生体重 1981g(SFD)、AS 0/2/2。出生時より刺激に反応無く、心拍聴取せず。胸骨圧迫、気管内挿管、ボスミン投与を行い、生後 1 時間で心拍再開して当院へ搬送となる。低体温であった為復温して生後 4 時間で自動調節式の Arctic Sun を用いて全身冷却法にて脳低体温療法を開始。34 度で維持。生後 76 時間より 8 時間かけて復温。

全例で人工換気下に治療を行った。また循環管理にはドーパミン、ドブタミンを用いた。冷却中の鎮静には全例でフェンタニルを使用し、1 例でミダゾラムを併用した。全例において脳低体温療法による有害事象を認めなかった。

D. 考察

症例 1・2 では選択的頭部冷却法を、症例 3 以後は全身冷却法を選択した。また、冷却機器としては症例 1 から 3 ではマニュアル式の Meditherm を、症例 4 から 7 では自動調節式の Arctic Sun を使用した。全身冷却法を自動調節式の機器で行うことで 1 時間以内の導入とその後の安定した体温維持が可能であった。全国的にも全身冷却法を施行している施設が増加しており、体温調節の簡便さや管理面の観点からは全身冷却法の選択が望ましいと思われた。

症例 3 以後は安定した体温管理が行えており、かつ呼吸、循環系を含む全身において有害事象は認めなかった。当センターNICU は安全かつ確実に脳低体温療法を行う能力を有しており、自己臍帯血幹細胞療法を行うための条件を満たしているものと考えられる。

E. 結論

当センターNICU では HIE 児に対して安全かつ確実に脳低体温療法を施行する能力を有しており、自己臍帯血幹細胞療法を行うための条件を満たしているものと考えられる。

F. 健康危険情報

無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

・野々村光穂、原田明佳、市場博幸、他：脳低体温療法の 7 例－施行開始から現在までを振り返る－。第 59 回日本未熟児新生児学会（2014・11 松山）

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

脳低温療法の7症例 -施行開始から現在までを振り返る-

大阪市立総合医療センター 新生児科
野々村光穂・原田明佳・田中えみ・菅彩子
大久保沙紀・松村寿子・大西聡・田中裕子・市場博幸

第59回日本未熟児新生児学会・学術集会 利益相反状態の開示

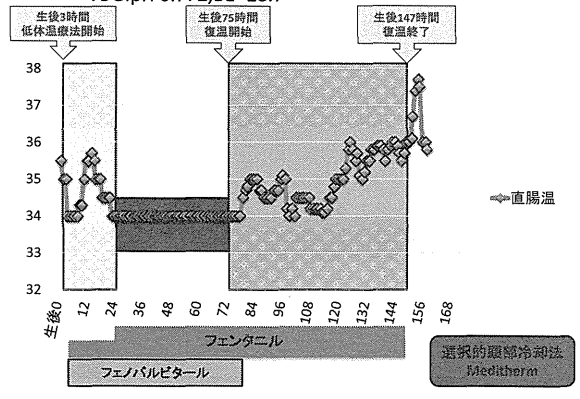
筆頭演者氏名: 野々村 光穂
所属: 大阪市立総合医療センター 新生児科

私の今回の演題に関連して、開示すべき利益相反状態はありません。

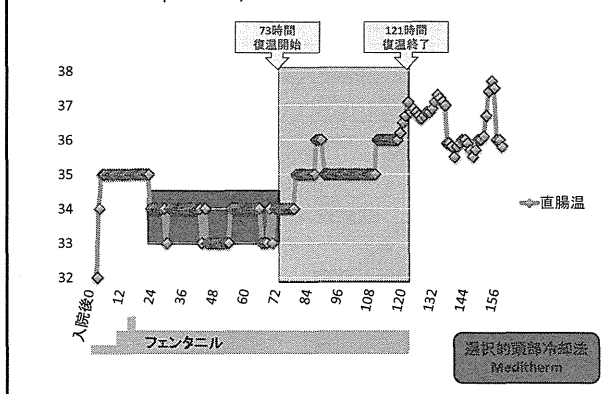
はじめに

- 近年、新生児低酸素性虚血性脳症(HIE)に対して脳低温療法の有効性が確認され、正期産児もしくは正期産に近い児のHIEに対する標準治療として推奨されている。
- 当院では2011年より脳低温療法を施行し、現在までに7症例に対し脳低温療法を行った。

症例1: 40週4日 3337g Ap:1/1/2 経膈分娩 院外 痙攣あり
VBG:pH 6.772, BE -28.7



症例2: 推定42週 3189g 救急隊到着時Ap:5-6 胸骨圧迫を施行
VBG: pH 6.912, BE -11.3



症例3: 37週0日 3080g Ap:1/5/6 経膈分娩 院外
VBG:pH 6.945, BE -15

