

選択的頭部冷却法

- 頭蓋を表面から冷やし、全身はラジアントウォーマーで温めながら頭部を最大限冷却。
- 深部体温を高め、表層を中心に低い脳温を達成することができる。

全身冷却法

- 頭部と全身を生理的な温度勾配を保ったまま全体的に冷却。

	症例1	症例2	症例3	症例4~7
冷却方法	選択的頭部冷却法		全身冷却法	
使用機器	Meditherm II (マニュアル方式)		Arctic Sun 5000 (自動調節式)	
目標直腸温	34°C(33.0~34.5°C)		33.5°C(33.0~34.0°C)	
導入期	20時間 (予定:12時間)	20時間	1時間	1時間
導入期+維持期	72時間	72時間	86時間	73~78時間
復温期	3日間 (予定:1°C/日)	2日間(1°C/日)	8時間:<0.5°C/h	8時間:<0.5°C/h

頭部エコーにて脳室の描出があり、ACA-Riが0.6以上となった時点で復温を開始。開始後72時間以内にACA-Ri>0.6となった場合は開始より72時間経過した後復温を開始。

開始後72時間経過した時点で復温を開始。

冷却方法の比較

- 目標直腸温内に調節出来ていた割合は、全身冷却法(自動調節)では97%、全身冷却法(マニュアル)で81%、選択的頭部冷却法(マニュアル)で76%。復温期には選択的頭部冷却法の方が、体温の変動が大きかった。¹⁾
- 選択的頭部冷却法と全身冷却法では、どちらの方法でも脳保護効果は優劣なく同等である。²⁾

- 1) Hoque N,Chakkarapani E,Liu X,Thoresen M,et al. A Comparison of Cooling Methods Used in Therapeutic Hypothermia for Perinatal Asphyxia. Pediatrics.2010 Jul ; 126(1):e124-30.
- 2) Azzopardi D. Whole Body Hypothermia for the Treatment of Perinatal Encephalopathy. BMC Pediatrics 2008;8:17

- 選択的頭部冷却法では、熱の出入りが激しいこと、全身冷却法と比較して低い温度の冷媒を用いること、超音波検査などの度にキャップを着脱する必要があること等からより手間がかかる。
- 実際、全身冷却法の方が管理しやすく、体温調節も行いやすかった。

まとめ

- 当院で脳低温療法を施行した7症例のうち、2例は選択的頭部冷却法、残り5例は全身冷却法を用いた。
- 経験の少ない施設においても全身冷却法での管理は比較的容易である。
- 近年日本で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。

- 参考文献
- CONSENSUS 2010に基づく新生児低温療法実践マニュアル 東京医学社
 - 日本脳低温療法学会公認テキスト 新生児・小児のための脳低温療法 メディカ出版

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 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

新生児低酸素性虚血性脳症 (HIE) 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した。また、本研究実施前に臍帯血採取・幹細胞分離を清潔、安全に行なうための手順を作成した。

A. 研究目的

新生児低酸素性虚血性脳症 (HIE) 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。

B. 研究方法

中等症以上の HIE 児が出生した場合、臍帯を消毒し CPDA 添加バッグにて臍帯血を採取する。この過程は供血用遠心器 SEPAX (スイス Biosafe 社) により完全閉鎖系で行われる。冷蔵保存の後、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し、本臨床試験の安全性を検証する。

(倫理面への配慮)

本試験の実施にあたっては試験内容について十分説明した上で、本申請書に添付する文書で、被験者の同意を得る。研究に参加するか否かは、被験者本人の自由意思により決定され、同意後であっても、被験者本人の意思によりいつでも中止が可能である。また、参加中止に伴う不利益は受けない。本研究に使用したデータについて記録・保存し、開示要求に対応する。

C. 研究結果

実施例はなく、本件研究実施に当たって、模擬操作を行なった。臍帯血は産婦人科医が、採取することで安全かつ清潔に採取可能であったが、採取量は 43~122mL とばらつきがあった。採取部位を胎盤近くから採取することで、より多くの臍帯血採取が可能であった。採取臍帯血の保存・分離については他部署との事前協議が必要であった。

D. 考察

本研究実施症例はなかったが、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た。

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る。また、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。

E. 結論

本研究実施に当たっては、他部署との連携を確立することが必要である。事前模擬操作を繰り返して行なうことが、本研究を安全かつ清潔に行なうためには必要である

F. 健康危険情報

無し。

G. 研究発表

1. 論文発表 無し。
2. 学会発表

- ・ 渡部晋一. 新生児低酸素性虚血性脳症に対する臍帯血幹細胞療法 (当院の取り組み). 第 3 回脳性麻痺予防研究会 2015. 3. 5 (学士会館. 東京)
- ・ 河原俊介. 新生児低酸素性虚血性脳症に対する臍帯血幹細胞療法の導入 (産婦人科としての取り組み). 第 3 回脳性麻痺予防研究会 2015. 3. 5 (学士会館. 東京)
- ・ 澤田真理子. 新生児低酸素性虚血性脳症に対する臍帯血幹細胞療法 (院内での取り組み). 第 3 回脳性麻痺予防研究会 2015. 3. 5 (学士会館. 東京)

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

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 と経時的脳波所見の有用性に関する検討

担当責任者 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

低酸素性虚血性脳症（以下 HIE）に対する臍帯血幹細胞療法は本邦においても臨床試験が開始されることとなった。治療の効果判定や予後予測のための検査として脳頭部 MRI 検査および脳波検査がある。今回、HIE 児において神経学的予後予測として、慢性期 MRI 所見と経時的脳波所見の有用性について検討した。名古屋大学関連施設の NICU に入院し、急性期脳波上脳機能低下を認めた HIE 症例を対象とした。診療録より後方視的に治療内容、検査所見、脳波所見、MRI 所見、1 歳半における脳性麻痺（以下 CP）、発達遅滞（以下 MR）の有無を抽出し検討した。MRI は正常（N 群）、白質病変のみ（W 群）、視床・基底核病変のみ（B 群）、白質病変を伴う視床・基底核病変（WB 群）と分類し、脳波は渡邊の分類に従い、正常（G0）、最軽度活動低下（G1）、軽度活動低下（G2）、中等度活動低下（G3）、高度活動低下（G4）、最高度活動低下（G5）に分類し、生後 24 時間以内、24～48 時間、48 時間～6 日、7～13 日、14 日以降での記録を検討した。症例は 71 例あり、そのうち死亡もしくは 1 歳半における予後が調査できたのは 58 例であった（死亡 6 例、CP13 例、MR15 例）。対象の出生在胎、出生体重、1、5 分値のアプガースコアは中央値（範囲）でそれぞれ 39 週 4 日（37 週 1 日～42 週 5 日）、3056g（2016～3884g）、2 点（0～6 点）、5 点（0～9）点であった。脳保護療法は 20 例に脳低温療法、18 例に Mg の投与が行われていた。MRI は 41 例で施行され N 群 17 例、W 群 9 例、B 群 7 例、WB 群 8 例であった。それぞれの群において CP の発生率は 6%、42%、44%、100% であり、MR の発生率は 12%、42%、55%、100% であった。脳波記録は生後 24 時間以内、24～48 時間、48 時間～6 日、7～13 日、14 日以降でそれぞれ 31、34、32、39、26 回であった。CP、MR の予後予測としては生後 24～48 時間の記録が最も鋭敏であり、G4 以上の活動低下の CP の発症予測は陽性的中率 1.0、陰性的中率 0.86 であり MR の発症予測は陽性的中率 0.91、陰性的中率 0.95 であった。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った。

A. 研究目的

新生児低酸素性虚血性脳症（以下 HIE）は神経学的後遺症が問題となる重要な疾患である。神経学的後遺症の予測として、臨床所見、頭部 MRI 所見、脳波所見などがあるが、いまだ正確な予後予測が難しいのが現状である。臍帯血幹細胞療法の施行に際して正確な神経学的予後予測は必要であると思われる。

そこで主に 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た。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。

B. 研究方法

対象は名古屋大学関連 7NICU（名古屋大学医学部附属病院、名古屋第一赤十字病院、安城更生病院、公立陶生病院、トヨタ記念病院、大垣市民病

院、岡崎市民病院）に入院した症例のうち在胎 37 週以上で出生し、アプガースコア 1 分値 7 点未満、かつ脳波検査にて背景脳波に脳機能低下を認める症例を抽出した。これらの症例のうち NICU 内死亡、もしくは 1 歳半における予後が検討できた症例を対象とし、先天形態異常を認める症例と代謝異常に伴う脳機能低下の症例は除外した。

対象につき診療録より後方視的に治療内容、臨床所見、検査所見、頭部 MRI 所見と脳波所見を抽出し予後との関連を調査した。短期予後としては、NICU 内死亡の有無、退院時在宅経管栄養の有無、退院時気管切開の有無を評価した。また長期予後としては、1 歳半時点での脳性麻痺（以下 CP）の有無、診察もしくは新版 K 式発達検査で発達指数 85 未満の精神発達遅滞（以下 MR）の有無、West 症候群の有無を評価した。統計学的検討には Mann-Whitney の U 検定、Fisher の直接法を用いた。

① 頭部 MRI の評価方法

頭部 MRI は原則日齢 10 以降から生後 6 週までに撮像された画像について小児神経科医 1 名が評価した。頭部 MRI 所見は正常の N 群、白質病変のみの W 群、視床基底核病変のみの B 群、白質病変を伴う視床基底核病変の WB 群に分類した。

② 脳波所見の評価方法

小児神経科医が判読したレポートをもとに背景脳波活動を判定した。検査時期は生後 6 時間未満、24 時間未満、24 時間以上 48 時間未満、48 時間以上 7 日未満、7 日以上 14 日未満、14 日以上の 6 群に分類した。背景脳波活動の評価に関しては渡辺の分類に従い、正常、最軽度活動低下、軽度活動活動低下、高度活動低下、最高度活動低下の 6 群に分類した。

C. 研究結果

基準を満たした症例は 71 例あり、そのうち NICU 内死亡もしくは 1 歳半でのフォローが行えた例は 58 例であった。症例の背景を表 1 に示す。臨床的に HIE と診断された症例は 42 例（Sarnat 分類 I 度 14 例、II 度 13 例、III 度 11 例、分類不明 4 例）であり、脳保護療法としては 20 例（34%）に低体温療法が、18 例（31%）にマグネシウム投与が行われていた。予後としては NICU 内死亡 7 例（12%）、CP13 例（22%）、MR15 例（26%）であり、正常予後は 36 例（62%）であった。

表 1. 症例の背景

CP: cerebral palsy, MR: mental retardation

臨床的検討においては、正常群に比べて死亡もしくは後遺症群で統計学的に 5 分でのアプガースコアが低く、Sarnat 分類での重症度が高く、乳酸値が高値であり、血液ガス所見における pH、BE が低値であった。また脳波で確認できた新生児発作の有無に関しては、死亡もしくは後遺症群で新生児発作が多くみられる傾向を認めた（表 2）。

表 2. 死亡もしくは後遺症群と正常群との臨床像

	中央値もしくは症例数	範囲もしくは割合
男児 (例)	27	46.6%
在胎週数(週/日)	39/4	37/1~42/5
出生体重(g)	3056	2016~3884
アプガースコア1分(点)	2	0~6
アプガースコア5分(点)	5	0~9
低体温療法 (例)	20	34%
マグネシウム投与 (例)	18	31%
死亡退院 (例)	7	12%
CP (例)	13	22%
MR (例)	15	26%
正常予後 (例)	36	62%

の比較

① 頭部 MRI 所見と予後

頭部 MRI 検査は 42 例（72.4%）で行われていた。内訳は N 群 17 例、W 群 9 例、B 群 7 例、WB

	死亡もしくは後遺症 (n=22)	正常 (n=36)	P 値
男児(人)	7 (32%)	20 (56%)	0.08
出生在胎(週/日)	39/5 (38/5-41/5)	39/5 (37/1-42/5)	0.51
出生体重(g)	2902 (2070-3884)	3082 (2016-3550)	0.25
アプガースコア1分(点)	1 (0-6)	2 (0-6)	0.14
アプガースコア5分(点)	4 (0-8)	6 (0-9)	0.01
Sarnat分類	3 (1-3)	1 (0-2)	<0.01
入院時血液ガスpH	6.845(6.441-7.336)	7.253(6.854-7.464)	<0.01
入院時血液ガスBE	-23 (-38~-6)	-11 (-26.3~-0.3)	<0.01
入院時乳酸濃度(mmol/l)	15 (6.6-28)	8 (1.7-17)	0.02
新生児発作の有無	8 (37%)	5 (14%)	0.05

群 9 例であった。NICU 内死亡症例は WB 群のみで認められ、その割合は 33%であった。WB 群では全例で CP、MR を発症していたが、B 群での CP、MR の発症率は各々 42%、42%、W 群では 44%、55%であり、W 群と B 群の間で概ねその発症率に差は認めなかった。N 群でも少数ではあるが、CP、MR の発症をそれぞれ 6%、12%に認めた。退院時の経管栄養の必要な児は N 群には認めず、W 群、B 群、WB 群では各々 11%、28%、83%であった。また、退院時に気管切開を必要とした児は N 群、W 群には認めず、B 群、WB 群で各々 14%、50%であった。WB 群では高率に在宅医療を必要とする児を認める一方、W 群、B 群では半数に CP、MR を認めるものの在宅医療を必要とする児は少数であった。West 症候群の発症は N 群では認めず、W 群 11%、B 群 14%、WB 群 50%であった。

頭部 MRI 所見による CP の発症予測は、何らかの異常所見がある場合、感度 0.92、特異度 0.64 であり、MR の発症予測は同所見にて感度 0.88、特異度 0.65 であった。白質障害所見のみ、視床基底核障害所見のみでもほぼ同様の感度、特異度であった。しかし、白質障害を伴う視床基底核病変における CP の発症予測では感度 0.86、特異度 1.0 であり、MR の発症予測では感度 0.75、特異度 1.0 と CP MR の発症予測に有用な結果であった。

② 経時的脳波所見と予後

脳波は全例で施行されていた。検査時期における症例数は生後 6 時間未満 17 例、24 時間未満 31 例、24 時間以上 48 時間未満 34 例、48 時間以上 7 日未満 32 例、7 日以上 14 日未満 39 例、14 日以

上 26 例であった。

それぞれの検査時期と背景脳波所見による予後を見た場合、生後早期では高度脳波活動の低下を示すカテゴリーに死亡、CP、MR、正常予後が混在し、時間経過とともに軽度脳波活動低下のカテゴリーに CP、MR、正常予後が混在する結果となった。

どの検査時期が最も CP、MR の発症予測として適しているかについて ROC 曲線による検討を行った。CP の発症予測におけるそれぞれの検査時期での AUC は生後 6 時間未満、24 時間未満、24 時間以上 48 時間未満、48 時間以上 7 日未満、7 日以上 14 日未満、14 日以上で、各々 0.94、0.78、0.96、0.92、0.92、0.78 であった。また MR の発症予測におけるそれぞれの検査時期での AUC は各々 0.77、0.78、0.96、0.92、0.92、0.78 であり、CP、MR の発症予測には生後 24 時間以上 48 時間未満の回復期での脳波所見が最も有用であった。

最も有用であった生後 24 時間以上 48 時間未満での脳波所見と CP、MR の発症予測に関しては、カットオフを高度活動低下と中等度活動低下の間にした場合、CP の発症予測における感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率はそれぞれ 1.0、0.86、0.73、1.0 であった。また MR の発症予測は同様のカットオフで感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率はそれぞれ 0.9、0.95、0.91、0.95 であった。また、低体温療法の導入を決定する必要がある生後 6 時間未満での脳波所見と CP、MR の発症予測に関しては、カットオフを最高度活動低下と高度活動低下の間にした場合、CP の発症予測における感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率はそれぞれ 1.0、0.88、0.75、1.0 であり、MR の発症予測は同様のカットオフで感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率はそれぞれ 0.6、0.86、0.75、0.75 であった。

③ 治療介入による経時的脳波所見の推移

Sarnat II 度以上の症例 24 例につき、低体温療法導入の有無による経時的背景脳波所見の推移を検討した。低体温療法を行った群 15 例では経時的脳波所見が悪化する症例は認めなかったが、低体温療法を行わなかった群 9 例ではその内 2 例に脳波所見の経時的悪化を認めた。このことが予後に影響を及ぼしたかを同時に検討したが、NICU

内死亡、CP、MR、West 症候群、在宅医療の有無の発症率に両群で有意な差を認めなかった。

④ 脳波所見と頭部 MRI 所見の関連

最も予後に関連した生後 24 以上 48 時間未満での脳波所見と頭部 MRI 所見の関連を 15 例で調査した。最高度活動低下の群で W 群 1 例、WB 群 3 例を認めた。また高度活動低下の群では B 群 1 例、W 群 2 例を認めた。中等度活動低下以上の脳波活動があった 8 例では、軽度活動低下の群で 1 例に W 群を認める以外には頭部 MRI で異常所見を示した例は認めなかった。結果としてはある程度の傾向は認めるものの、脳波所見が即頭部 MRI 所見と直結するという結果にはいたらなかった。

D. 考察

① 頭部 MRI 所見と予後

HIE 児における頭部 MRI 所見と神経学的予後の検討はこれまでも数多く認められる。本研究では感度は高かったものの特異度では十分なものは得られなかった。しかし、白質障害を伴う視床基底核病変ではその予後予測が十分なものであった。本研究において白質障害所見のみの群と視床基底核病変のみの群の予後の差が余り認められなかったことは、白質障害を過小評価した可能性がある。従って、本研究の頭部 MRI 所見の分類に加え、急性期の拡散強調像を評価することで良い予後予測が導き出せる可能性があると思われる。

② 脳波検査と予後

脳波検査と予後に関して今までいろいろな報告が散見されるが、主に脳波の正常化までの時間と予後の関連が報告されている。今回の検討でも回復所見が重要だということを示せたが、さらに異常所見が残存していても正常化よりも早期に信頼性の高い予後判定が可能であることが示された。

低体温療法の導入を決定する必要がある生後 6 時間以内の脳波に関する検討では、十分な予後予測は行えなかった。以前の報告では生後早期の脳波所見が予後と関連するとの報告も散見される。しかし、これらの報告は低体温療法導入前の報告であり、治療内容の変遷により脳波所見による予後予測も変化していると思われる。本研究では対象の 34% に低体温療法が施行されており、そのこ

とが影響した可能性が考えられた。そのため低温療法の有無による脳波所見の推移を検討し、低温療法群では経時的脳波に悪化症例がないことを示した。このことは治療による脳保護効果が示されているものと思われた。残念ながら本研究では治療内容による予後の改善は認められなかったが、これは本研究が後方視的検討であり、各施設での脳低温療法施行体制の違いが関与したと思われた。

E. 結論

名古屋大学関連 7 施設において、HIE 児の予後予測としての頭部 MRI 所見と経時的脳波所見の有用性に対して検討を行った。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った。

F. 健康危険情報

無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hayakawa M, Taguchi T, Urushihara N, Yokoi A, Take M, Shiraiishi J, et al. Outcomes in VLBW infants with surgical intestinal disorders at 18 months of corrected age. *Pediatr Int*. 2015 in press
2. Hayakawa M, Ito Y, Saito S, Mitsuda N, Hosono S, Yoda H, et al. Incidence and prediction of outcome in hypoxic-ischemic encephalopathy in Japan. *Pediatr Int*. 2014;56(2):215-21.
3. Hattori T, Sato Y, Kondo T, Ichinohashi Y, Hayakawa M, et al. Administration of umbilical cord blood cells transiently decreased hypoxic-ischemic braininjury in neonatal rats. *Dev Neurosci*. 2014 in press.
4. Yokota K, Uchida H, Kaneko K, Hayakawa M, et al. Surgical complications, especially gastroesophageal reflux disease, intestinal adhesion obstruction, and diaphragmatic hernia recurrence, are major sequelae in survivors of congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Surg Int*. 2014;30(9):895-9.
5. Usui N, Okuyama H, Kanamori Y, Nagata K, Hayakawa M, Inamura N, et al. The lung to thorax transverse area ratio has a linear correlation with the observed to expected lung area to head circumference ratio in fetuses with congenital diaphragmatic hernias. *J Pediatr Surg*. 2014;49(8):1191-6.
6. Usui N, Nagata K, Hayakawa M, Okuyama H, Kanamori Y, Takahashi S, et al. Pneumothoraces as a fatal complication of congenital diaphragmatic hernia in the era of gentle ventilation. *Eur J Pediatr Surg*. 2014;24(1):31-8.
7. Tsuji T, Okumura A, Kidokoro H, Hayakawa F, Kubota T, Maruyama K, Hayakawa M et al. Differences between periventricular hemorrhagic infarction and periventricular leukomalacia. *Brain Dev*. 2014;36(7):555-62.
8. Tsuda H, Kotani T, Sumigama S, Mano Y, Hua L, Hayakawa M, et al. Effect of placenta previa on neonatal respiratory disorders and amniotic lamellar body counts at 36-38weeks of gestation. *Early Hum Dev*. 2014;90(1):51-4.
9. Terui K, Taguchi T, Goishi K, Hayakawa M, Tazuke Y, Yokoi A, et al. Prognostic factors of gastroesophageal reflux disease in congenital diaphragmatic hernia: a multicenter study. *Pediatr Surg Int*. 2014.
10. Shiono N, Inamura N, Takahashi S, Nagata K, Fujino Y, Hayakawa M, et al. Outcome of congenital diaphragmatic hernia with indication for Fontan procedure. *Pediatr Int*. 2014;56(4):553-8.
11. Okanishi T, Yamamoto H, Hosokawa T, Ando N, Nagayama Y, Hayakawa M, et al. Diffusion-weighted MRI for early diagnosis of neonatal herpes simplex encephalitis. *Brain Dev*. 2014.
12. Nagata K, Usui N, Terui K, Takayasu H, Goishi K, Hayakawa M, et al. Risk Factors for the Recurrence of the Congenital Diaphragmatic Hernia-Report from the Long-Term Follow-Up Study of Japanese CDH Study Group. *Eur J Pediatr Surg*. 2014.
13. Ito M, Kidokoro H, Sugiyama Y, Sato Y,

- Natsume J, Hayakawa M, et al. Paradoxical downward seizure pattern on amplitude-integrated electroencephalogram. J Perinatol. 2014;34(8):642-4.
14. 早川昌弘. Preterm を考える preterm 児の CP と late preterm の諸問題:Preterm 児の CP Late preterm 児 (34~36 週) の低酸素性虚血性脳症. 周産期学シンポジウム. 2014;32:97-101.
 15. 鈴木俊彦, 早川昌弘. 【胎児、新生児の脳機能評価】 低体温療法と脳モニタリング 脳波活動、aEEG、脳血流. 周産期医学. 2014 ; 44 : 841-844.
 16. 早川昌弘. 【小児の治療指針】 新生児 新生児発作. 小児科診療. 2014 ; 77 巻増刊 : 940-941.
 17. 早川昌弘. 新生児における再生医療/幹細胞療法. 日本未熟児新生児学会雑誌. 2014 ; 26 : 44-46.
2. 学会発表
1. Masahiro Hayakawa, Tomoaki Taguchi, Naoto Urushihara, Akiko Yokoi, Hiroshi Take, Jun Shiraishi, Hideshi Fujinaga, Kensuke Ohashi, Makoto Oshiro, Yuichi Kato1, Satoko Ohfuji, Hiroomi Okuyama. Outcomes in very-low-birth-weight infants with surgical intestinal disorders at 18 months' corrected age: A multicenter case-control study. Hottopics in Neonatology 2014. Dec 7-10, Washington DC
 2. Masahiro Hayakawa. Current perspective in hypoxic-ischemic encephalopathy in Japan. The 46th International Congress on Pathophysiology of Pregnancy. Sept 18-19, Tokyo.
 3. 津田弘之, 伊藤美春, 齋藤明子, 近藤大貴, 佐藤義朗, 早川昌弘. 前置胎盤における警告出血が児の呼吸障害発症に与える影響. 第 50 回日本未熟児新生児学会. 平成 26 年 11 月 10 日~12 日 松山市
 4. 加藤徹, 永田佳敬, 松沢麻衣子, 林誠司, 早川昌弘. T2 star 強調画像による、新生児脳室内出血の遠隔期描出感度. 第 50 回日本未熟児新生児学会. 平成 26 年 11 月 10 日~12 日 松山市
 5. 兵藤玲奈, 佐藤義朗, 伊藤美春, 杉山裕一朗, 鈴木俊彦, 北瀬悠磨, 齋藤明子, 近藤大貴, 孫田みゆき, 村松友佳子, 城所博之, 早川昌弘. 早産児と正期産児における Proton MR spectroscopy (MRS) の比較検討. 第 50 回日本未熟児新生児学会. 平成 26 年 11 月 10 日~12 日 松山市
 6. 近藤大貴, 佐藤義朗, 杉山裕一朗, 鈴木俊彦, 北瀬悠磨, 伊藤美春, 齋藤明子, 孫田みゆき, 村松友佳子, 辻雅弘, 中西圭子, 早川昌弘. 新生児低酸素性虚血性脳症モデルラットにおける骨髄単核球静脈内投与の治療効果. 第 50 回日本未熟児新生児学会. 平成 26 年 11 月 10 日~12 日 松山市
 7. 早川昌弘. 査読を意識した論文執筆指導. 第 50 回日本未熟児新生児学会. 平成 26 年 11 月 10 日~12 日 松山市
 8. 早川昌弘. Preterm を考える preterm 児の CP と late preterm の諸問題:Preterm 児の CP Late preterm 児(34~36 週)の低酸素性虚血性脳症. 第 32 回周産期学シンポジウム. 平成 24 年 2 月 7 日~8 日 福岡市
 9. 鈴木俊彦, 杉山裕一朗, 伊藤美春, 近藤大貴, 齋藤明子, 孫田みゆき, 藤巻彦, 中村祐子, 佐藤義朗, 早川昌弘. NO 吸入療法におけるメトヘモグロビンモニタリングの検討. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日~15 日 浦安市
 10. 白石淳, 岡崎容子, 田附裕子, 武浩志, 田口智章, 藤永英志, 漆原直人, 横井暁子, 大橋研介, 早川昌弘, 奥山宏臣. 消化管機能障害を合併した極低出生体重児の腹部単純レントゲン所見の検討. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日~15 日 浦安市
 11. 江角元史郎, 落合正行, 田口智章, 武浩志, 白石淳, 早川昌弘, 藤永英志, 漆原直人, 横井暁子, 大橋研介, 奥山宏臣. 消化管機能障害を合併した極低出生体重児の生命予後に関する検討. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日~15 日 浦安市
 12. 三宅啓, 漆原直人, 野上勝司, 武浩志, 白石淳, 田口智章, 藤永英志, 横井暁子, 大橋研介, 早川昌弘, 奥山宏臣. 極低出生体重児の消化管機能異常に対する外科治療の現状. 第

- 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日～15 日 浦安市
13. 大橋研介, 漆原直人, 白石淳, 田口智章, 武浩志, 早川昌弘, 藤永英志, 横井暁子, 奥山宏臣. 消化管機能障害を合併した極低出生体重児の病理組織所見に関する検討. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日～15 日 浦安市
14. 三崎真生子, 早川昌弘, 皆川京子, 野瀬聡子, 武浩志, 白石淳, 田口智章, 漆原直人, 藤永英志, 横井暁子, 大橋研介, 奥山宏臣. 極低出生体重児の消化管機能障害に関する周産期背景因子の検討. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日～15 日 浦安市
15. 藤永英志, 武浩志, 白石淳, 早川昌弘, 田口智章, 漆原直人, 横井暁子, 大橋研介, 奥山宏臣. 低出生体重児の消化管機能障害に関する周産期背景因子の疫学調査研究班極低出生体重児の消化管機能障害発症と予後に対する多胎の関与について. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日～15 日 浦安市
16. 田附裕子, 岡崎容子, 白石淳, 漆原直人, 武浩志, 藤永英志, 横井暁子, 大橋研介, 早川昌弘, 田口智章, 奥山宏臣. 極低出生体重児の胎便関連性腸閉塞(MRI)における消化管穿孔の検討. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日～15 日 浦安市
17. 齊藤明子, 佐藤義朗, 鈴木俊彦, 杉山裕一朗, 伊藤美春, 孫田みゆき, 近藤大貴, 藤巻英彦, 中村祐子, 早川昌弘. HIE モデルマウスにおける抗 IL-6 レセプター抗体の効果. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日～15 日 浦安市
18. 竹本康二, 大城誠, 松沢要, 伊東真隆, 藤巻英彦, 山本ひかる, 林誠司, 加藤英子, 早川昌弘. 早産児における後天性サイトメガロウイルス感染症が長期予後に及ぼす影響. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日～15 日 浦安市
19. 高安肇, 増本幸二, 臼井規朗, 早川昌弘, 奥山宏臣, 五石圭司, 田附裕子, 横井暁子, 照井慶太, 永田公二, 田口智章. 先天性横隔膜ヘルニア生存者における側彎、漏斗胸、その他胸郭変形について. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日～15 日 浦安市
20. 早川昌弘. 我が国の新生児医療を国際標準にするために英文論文をかいてみよう 医学雑誌から査読の依頼がきたならば. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日～15 日 浦安市
21. 早川昌弘, 白石淳, 武浩志, 田口智章, 藤永英志, 漆原直人, 横井暁子, 大藤さとし, 大橋研介, 奥山宏臣. 手術を受けた児の長期予後 消化管機能障害を呈した極低出生体重児の 18 ヶ月における予後. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日～15 日 浦安市
22. 佐藤義朗, 中村祐子, 早川昌弘. ステロイドホルモンの使用と長期予後 ステロイドホルモン投与の未熟脳への影響 動物モデルから. 第 50 回日本周産期・新生児医学会. 平成 24 年 7 月 13 日～15 日 浦安市
23. 江角元史郎, 田口智章, 早川昌弘, 漆原直人, 武浩志, 横井暁子, 白石淳, 大橋研介, 大藤さとし, 奥山宏臣. 極低出生体重児における消化管穿孔手術症例の検討 全国 high volume center 10 施設の集計結果から. 日本小児外科学会. 平成 26 年 5 月 8 日 (木) ～10 日 (土) 大阪市
24. 北川博昭, 脇坂宗親, 田中守, 立浪忍, 石井桂介, 松岡健, 左合治彦, 早川昌弘, 臼井規朗. 小児泌尿器治療の最前線 「胎児尿路閉塞性疾患に伴う肺低形成」に関する全国実態調査報告. 日本小児外科学会. 平成 26 年 5 月 8 日 (木) ～10 日 (土) 大阪市
25. 照井慶太, 永田公二, 臼井規朗, 金森豊, 早川昌弘, 奥山宏臣, 稲村昇, 五石圭司, 増本幸二, 漆原直人, 川滝元良, 木村修, 横井暁子, 田附裕子, 吉田英生, 田口智章. 新生児横隔膜ヘルニア研究班. 日本小児外科学会. 平成 26 年 5 月 8 日 (木) ～10 日 (土) 大阪市
26. 高安肇, 増本幸二, 臼井規朗, 早川昌弘, 奥

厚生労働科学研究委託費（再生医療実用化研究事業）
平成 26 年度 委託業務成果報告書（総括・業務項目）

山宏臣, 五石圭司, 田附裕子, 横井暁子, 照井慶太, 永田公二, 田口智章, 新生児横隔膜ヘルニア研究班. 先天性横隔膜ヘルニアの臨床と研究における今後の展望 多施設共同研究による先天性横隔膜ヘルニア長期フォローアップ症例の解析. 日本小児外科学会. 平成 26 年 5 月 8 日 (木) ~10 日 (土) 大阪市

27. 杉山裕一郎, 伊藤美春, 中村祐子, 藤卷英彦, 城所博之, 佐藤義朗, 夏目淳, 早川昌弘, 小島 勢二. 簡便なパターン認識を用いた

amplitude-integrated EEG による過数判定に関する検討. 日本小児科学会. 平成 26 年 4 月 11 日~13 日 名古屋市

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

臨床研究 プロジェクトの総合推進

担当責任者 田村 正徳 埼玉医科大学総合医療センター小児科・教授

26 年度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。そのために、出来るだけ多くの新生児医・血液専門小児科医・産科医師に本研究の重要性を認識して適切に役割分担が出来る様に、臍帯血採取のプロフェッショナル医師と SEPAX-II 技術者や輸血部のスタッフの指導のもとに機材の選択をし、フローチャートのたたき台を作成した上で、シミュレーション訓練を反復実施しながら問題点を見い出してフローチャートを修正して完成させるという作業を繰り返した（図 2）。その結果として、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。27 年度には適応のある患児が院内出生した場合には、この訓練とフローチャートを活用してプロトコールに則って自己臍帯血幹細胞治療を安全に実施したい。

A. 研究目的

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実施可能性と安全性について検証することを本研究の目的とする。

B. 研究方法

a. 準備計画の策定

本研究について、2014 年 12 月 9 日の院内周産期合同カンファレンスにおいて、産科医、麻酔科医を対象に、概要と、緊急となる症例の分娩室または手術室における、臍帯血採取について説明を行い、図-1 を基軸に臍帯血採取の経験のある産科医を中心に意見を聴取した。

- ・ 臍帯血採取量は、胎盤が母体から分離しない状況では 200ml 以上を期待することができることが判明した。
- ・ しかし、対象となる重症仮死児の場合は、分離後の胎盤、臍帯からであり、得られる臍帯血量は半分程度の可能性が示唆された。
- ・ 臍帯からどのような方法で採血を行っても、無菌が確実に保証されるのは難しい可能性が示唆された。
- ・ 家族への説明同意は、事前に（入院時、あるいは外来受診時も考慮して）行っておき、児が該当した場合には、改めて自己臍帯血幹細胞輸血について説明、同意を得るのが妥当であるとの意見を得た。

- ・ 臍帯血バンク事業に積極的に協力している近隣（車で 5 分）の愛和病院での、産科医師指導による臍帯血採取練習を、予定帝王切開後の分離胎盤を使用して VTR に収めておき院内スタッフの学習に役立てることとした。

- ・ 臍帯血幹細胞分離作業と CD34 陽性細胞の回収率の早期確認については細胞治療部（以下輸血部）の協力が必要であり、細菌混入が無い事の検証には院内細菌検査室の協力が必要である。

この結果を踏まえて、愛和病院と院内輸血部・細菌検査室にも研究協力を依頼して責任者から協力を確約していただいた。更に臍帯血採取の専門家である愛和病院の産科医局長松井尚彦医師には研究協力員となつていただいた上で、以下の様な基本準備計画を立案した。

<介入方法>

- ① 家族の同意書：臍帯血採取に関する家族への事前了解を外来もしくは母体入院時に説明し、同意を得ておく。その上で、本研究の基準に該当する HIE 児が出生した場合、その場で口頭で同意を再確認する。実際に自己臍帯血幹細胞治療の適応があると考えられた場合は、改めて文書による同意書が得られた場合にのみ自己臍帯血幹細胞輸血を実施する。
- ② 臍帯血採取法：原則臍帯血採取は新生児科

医が行う事とするが夜間帯で児の蘇生などで人員が足りない時は産科医に依頼する。松井尚彦医師指導のもとで具体的採取方法をコアメンバーが学習した上で関係スタッフの参加によるシミュレーションを複数回実施して関係スタッフ全員の手技獲得を確認する。

臍帯血採取に必要な物品はセットにしてかごにまとめて分娩室と帝王切開室に常備しておく。

- ③ 臍帯血幹細胞分離作業：原則として当院輸血部と連携して実施する。コアメンバーを対象にした供血用遠心器 SEPAX-II（スイス Biosafe 社）の説明会とシミュレーションを販売会社技術者と院内輸血部の協力の下に複数回実施してコアメンバー全員の手技獲得を確認する。

実際の臍帯血幹細胞分離は NICU クリーンベンチ内で SEPAX-II を用いて完全閉鎖系で行った後に、NICU 内で冷蔵保存を行う。

- ④ 適応は分担研究者を含めたコアメンバーで確認した上で、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。

<データ収集と評価法>

自己臍帯血治療前後において下記の情報を収集する。

- [1] バイタルサイン
- [2] 細胞調整液の投与時間、投与量、投与細胞数等
- [3] 血液および頭部等画像検査
- [4] 新生児脳症 Thompson スコア
- [5] 併用薬剤等の有無、人工呼吸管理日数、有害事象の有無等
- [6] 精神運動発達の評価、リハビリや継続治療の必要性有無
- [7] 12 ヶ月時の頭部 MRI 検査
- [8] 1 歳 6 ヶ月時の対面式乳児発達検査

b. 自己臍帯血幹細胞治療に関する知識の獲得
毎週月曜日夜に行われる小児科リサーチ運営会議で

新生児医と小児科血液班のメンバーを中心に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過去の研究報告や Dr. Michael Cotten の文献の抄読会を計 8 回実施した。また松井尚彦医師から拝借した臍帯血採取の DVD の勉強会も 2 回開催した。また月一回開催される産科部門・新生児部門・周産期麻酔部門合同のカンファレンスにおいて 2 度にわたってパワーポイントを用いた自己臍帯血幹細胞治療に関する勉強会を実施した。更に 2 月 24 日には研究代表者である新宅治夫先生をお招きして「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」の講演会を実施し、関連する医師・NICU 看護師だけでなく、輸血部や検査科のスタッフにもこの研究の意義を理解してもらい、関係する院内スタッフ全員に対する基礎知識の共有を図った。

c. 専門家の指導による臍帯血採取技術の獲得とシミュレーションによる技術の向上と確認

長年にわたって臍帯血バンク事業に協力していたので臍帯血採取に熟達している愛和病院産科医局長松井尚彦医師の指導を受けた。まずコアメンバーの田村正徳、側島久典、金井雅代が愛和病院にて松井尚彦医師による出産直後の母体の胎内に胎盤がある状態での臍帯血採取を見学しながら穿刺方法や採取した臍帯血の計測等の処理方法を学習した。そのあと、松井尚彦医師の指導のもとに作成した標準作業手順書に従い、実際に廃棄処分の予定であった胎盤を用いて臍帯血採取を試み、松井尚彦医師からの具体的な指導を受けた。その上で、埼玉医科大学総合医療センターにおいて関連スタッフを対象に平成 27 年 1-2 月の間に帝王切開の 3 分産での廃棄処分前の胎盤を用いてコアメンバーが指導する形で計 4 回の臍帯血採取シミュレーションを行った。このシミュレーションでの臍帯血採取量は 45-60ml と、松井尚彦医師が経膣分娩の直後に採取した 150-200ml には遠く及ばなかった。松井尚彦医師からは「手技の未熟性によるよりも、採取した時期の問題と経膣分娩で胎盤が子宮内で収縮による圧迫を受けているか否かによる採取量の違いでは無いか?」、「実際に胎盤を摘出した後で十分量の臍帯血が採取出来ない

場合は、滅菌手袋をした助手が摘出胎盤を手動的に圧迫すれば良いのではないか。」というご助言をいただいた。こうしたシミュレーションの収録 VTR は、研究施設間で共有し、採取法の標準化をおこなう材料として提案できると考えている。

d. 専門家の指導による臍帯血幹細胞分離技術の獲得とシミュレーションによる技術の向上

SEPAX-II を用いた臍帯血幹細胞分離シミュレーションを平成 27 年 1-2 月の間に 2 回施行した。臍帯血からの幹細胞分離は 2 回とも完了した。患者への 1 回の投与量は計算上 6-7cc となるが、配布された 3 分割バックではルートなどの問題で投与率が下がる危険性があるので、3 分割バックからシリンジに吸引して投与するのが実際的であるかと考えられた。また一部作業手順に不明瞭な部分が残ったため、3 回目のシミュレーションでこうした問題点を解消しておきたい。

e. 病院内関連部門との協議に基づく院内における研究推進システムの構築

以上の様な学習とシミュレーションを踏まえてコアメンバーが総合周産期母子医療センター幹部・小児科血液班・輸血部等の関係者と協議した上で、対象患者発生時に備えてフローチャートを作成した（図-2）。また、幹細胞分離作業に関しては当院細胞治療部と、分離細胞の質と無菌性の確認に関しては当院検査部と連携して行う事とした。

D. 考察

前述した様な勉強会で関係スタッフには本研究に関する共通認識を得ることが出来た。今後は年度替わりでスタッフの入れ替わりが予測されるため、再度勉強会を開き知識の共有を図る必要がある。

シミュレーションでは研究に必要な最低量の臍帯血確保は可能であったが、出来れば採取量の更なる増加が望ましい。現在行っている胎盤娩出後の臍帯穿刺法では 50-60ml の採取量に留まり 100ml 以上は難しかった。しかし、本研究を効果的におさめるためには更なる採取量の増加を目的に繰り返しシミュレーションを行いながら実践に備える必要があるので、今後もシミュレーションの定期開催を行い技術

の向上維持につとめたい。

臍帯血幹細胞分離手技は確立したが次のステップとしては、CD34 陽性細胞の回収率の確認と、分離細胞溶液の細菌学的安全性の確認手順が残された課題として重要である。今後も分離技術の維持・向上とともに細胞治療部や検査部との連携を通してこうした課題の解決につとめたい。

更には研究班としての適応症例の選択基準（帝王切開例に限るか？、経膈分娩例、胎盤に肉眼的絨毛羊膜炎が強く疑われる症例は除くか？など）の検討と平行して、院内での臍帯血採取から幹細胞分離をして実際の症例に投与するまでの産科-新生児科共同のシミュレーションを行うことで、27 年度の臨床治験に安心して取り組めると考える。

E. 結論

本年度は関係するスタッフが緊急時に手際よく協力して無菌的かつ効率よく臍帯血を採取し、幹細胞を分離するための知識の共有と手技の確立に努めた。適切に実務をこなすことが出来る様にフローチャートのたたき台を作成した上でシミュレーション訓練を反復実施しながらフローチャートを修正して作業を繰り返すことで作業手順のフローチャートを完成させることが出来た（図 2）。27 年度はこの訓練成果とフローチャートを活用してプロトコルに則って自己臍帯血幹細胞治療を適切且つ安全に実施する予定である。

F. 健康危険情報 無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Iwata O, Takenouchi T, Iwata S, Nabetani M, Mukai T, Shibasaki J, Tsuda K, Tokuhisa T, Sobajima H, Tamura M, The baby cooling project of Japan to implement evidence-based neonatal cooling. Ther Hypothermia Temp Manag. 2014 Dec;4(4):173-9
2. Iwata O, Takenouchi T, Iwata S, Nabetani M, Mukai T, Shibasaki J, Tsuda K, Sobajima H, Tamura M. The Baby Cooling Project of Japan to Implement Evidence-Based Neonatal Cooling. Ther Hypothermia Temp Manag. (in press).
3. Kurishima C, Masutani S, Kuwata S, Iwamoto Y, Saiki H, Ishido H, Tamura M, Senzaki H, Cystatin C and body surface area are major

- determinants of the ratio of N-terminal pro-brain natriuretic peptide to brain natriuretic peptide levels in children. *J Cardiol*. 2014 Dec 8. pii: S0914-5087(14)00328-1
4. Sakazaki S1, Masutani S, Sugimoto M, Tamura M, Kuwata S, Kurishima C, Saiki H, Iwamoto Y, Ishido H, Senzaki H, Oxygen Supply to the Fetal Cerebral Circulation in Hypoplastic Left Heart Syndrome: A Simulation Study Based on the Theoretical Models of Fetal Circulation. *Pediatr Cardiol*. 2015 Mar;36(3):677-84.
 5. Ogawa R, Mori R, Sako M, Kageyama M, Tamamura M, Namba F, Drug therapies in bronchopulmonary dysplasia in Japan: questionnaire survey. *Pediatrics International* (2015) 57, 189-192
 6. Inoue S, Odaka A, Baba K, Kunikata T, Sobajima H, Tamura M, Thoracoscopy-assisted removal of a thoracoamniotic shunt double-basket catheter dislodged into the fetal thoracic cavity: report of three cases. *Surg Today*. 2014. 04. 44(4):761-6
 7. Masutani S, Saiki H, Kurishima C, Kuwata S, Tamura M, Senzaki H, Assessment of ventricular relaxation and stiffness using early diastolic mitral annular and inflow velocities in pediatric patients with heart disease. *Heart Vessels*. 2014 Nov;29(6):825-33
 8. Yana A, Masutani S, Kojima T, Saiki H, Taketazu M, Tamura M, Senzaki H. Usefulness of Cystatin C in the Postoperative Management of Pediatric Patients With Congenital Heart Disease. *Circ J*. 2013;77(3):667-72
 9. Yamazaki T, Shigemura T, Kobayashi N, Honda K, Yazaki M, Masumoto J, Migita K, Agematsu K, IL-18 serum concentration is markedly elevated in typical familial Mediterranean fever with M694I mutation and can distinguish it from atypical type. *Mod Rheumatol*. 2014 Dec 22:1-3.
 10. Shigemura T, Yamazaki T, Shiohara M, Kobayashi N, Naganuma K, Koike K, Agematsu K, Clinical course in a patient with neutrophil-specific granule deficiency and rapid detection of neutrophil granules as a screening test. *J Clin Immunol*. 2014 Oct;34(7):780-3
 11. Yamazaki T, Hokibara S, Shigemura T, Kobayashi N, Honda K, Umeda Y, Agematsu K, Markedly elevated CD64 expressions on neutrophils and monocytes are useful for diagnosis of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome during flares. *Clin Rheumatol*. 2014 May;33(5):677-83
 12. Ishiguro A, Sakazaki S, Itakura R, Fujinuma S, Oka S, Motojima Y, Sobajima H, Tamura M, Peripheral blood flow monitoring in an infant with septic shock. *Pediatr Int*. 2014 Oct;56(5):787-9.
 13. Ishiguro A, Suzuki K, Sekine T, Sudo Y, Kawasaki H, Itoh K, Kanai M, Kato I, Sobajima H, Tamura M, Skin blood flow as a predictor of intraventricular hemorrhage in very-low-birth-weight infants. *Pediatr Res*. 2014 Feb;75(2):322-7.
2. 学会発表
 1. Masanori Tamura. The Incidence of HIE and the Nationwide Registration System of Brain Hypothermia for Infants with HIE. , New Neuroprotective Strategy for Neonatal Hypoxic-Ischemic-Encephalopathy (PAS Topic Symposium). , PAS/ASPR 2014, May 4, Vancouver, BC, Canada
 2. Tsuda K, Iwata O, Takenouchi T, Iwata S, Nabetani M, Mukai T, Shibasaki J, Tokuhisa T, Sobajima H, and Tamura M. The Baby Cooling Project of Japan to Change an Empirical Approach in Neonatal Therapeutic Hypothermia to Evidence-based Practice. Hot Topics in Neonatology. 2014.12.7-10 (Washington DC, USA)
 3. 岩田欧介、武内俊樹、鍋谷まこと、柴崎淳、向井丈雄、徳久琢也、岩田幸子、側島久典、田村正徳. 前進か？後退か？Baby Cooling Japan症例登録制度と関連啓発事業の集積による世界標準回帰への道のり. 第56回日本小児神経学会学術集会 シンポジウム 2014.5.29-31 (浜松)
 4. 岩田欧介、武内俊樹、鍋谷まこと、柴崎淳、向井丈雄、徳久琢也、津田兼之介、岩田幸子、側島久典、田村正徳. 再出発から4年～Baby Cooling Japan低体温登録事業から始まる世界戦略. 第50回日本周産期・新生児医学会総会および学術集会 シンポジウム 2014.7.13-15 (浦安)
 5. 岩田欧介、田村正徳. 再出発から4年～Baby Cooling Japan 低体温登録事業から始まる世界戦略. シンポジウム 第50回日本周産期・新生児医学会総会および学術集会 2014.7.13-15 (浦安)
 6. 津田兼之介、柴崎淳、向井丈雄、武内俊樹、徳久琢也、岩田幸子、岩田欧介、側島久典、鍋谷まこと、細野茂春、田村正徳. Baby Cooling Japan低体温登録事業からの定期報告—登録状況と今後の展望—. 第59回日本未熟児新生児学会・学術集会 2014. 11. 10-12 (松山)
 - F. 健康危険情報 無し。
 - 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

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

担当責任者 濱崎 考史 大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学

「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。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。

A. 研究目的

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行ったので報告する。

B. 研究方法

対象:38週以上の予定帝王切開もしくは自然分娩時に採取した臍帯血。

方法:採取後24時間以内にSEPAXを用いて分離、10度Cで保存。分離後24時間、48時間、72時間毎に臍帯血の品質を検討した。検討項目:CBC、白血球分画、CD34陽性細胞数、生細胞率、電解質。

(倫理面への配慮)

当院での倫理委員会での承認を受け、インフォームドコンセントを書面により取得して実施した。

C. 研究結果

帝王切開 3例、自然分娩 3例

(全て38週)。臍帯血採取量は、それぞれ、帝王切開:120ml, 97ml, 60ml、自然分娩:90ml, 55ml, 44ml*であった。(*巨大な凝血塊あり)。SOPに従い分離前後でサンプリングした血液培養検査。はすべて陰性であった。分離後、冷蔵庫(5-10度)に保存、24時間、48時間、72時間時点での全白血球数は、処理直後を100%とした場合、24時間後、48時間後、72時間後には、平均白血球数はそれぞれ96.0±4.6%、96.9±1.9%、93.6±2.2%で、72時間後での減少は10%以内であることが確認できた。また、CD34陽性細胞数、生細胞率に関しては、24時間時点でのCD34陽性細胞数(count/ μ l)を100%とした場合の48時間、72時間時点でのCD34陽性細胞数の推移の平均は、

100.1±4.1%、102.1±11.0%と低下を認めなかった。またCD34陽性細胞の生細胞率の平均は、24時間、48時間、72時間時点で99.6%±0.5%、99.5±0.4%、96.9±4.7%であった。従って、72時間後においても、生細胞が90%以上は、保たれることが確認できた。混入赤血球などによるカリウムの上昇は、72時間後時点でも、中央値5.8mEq/L(1.7-11.6)程度であった。

D. 考察

SEPAXでの分離において、機械の設定上、臍帯血採取量の必要量は、40ml以上がひとつの目安になるものと考えられた。また、臍帯血採取時の凝血塊は、有効な細胞分離、回収が不能となるため、なんらかの除外基準の設定が必要と考えられた。

E. 結論

自動化細胞処理システムSEPAXによる臍帯血幹細胞処理のコールドランを行った。分離後72時間の時点でも細胞の生存率、幹細胞数は90%以上保たれることを確認できた。

F. 健康危険情報 無し。

G. 研究発表

1. 論文発表 無し。
2. 学会発表
 - ・濱崎考史「自動化細胞処理システムSEPAXによる臍帯血幹細胞処理の検討」第2回脳性麻痺研究会。名古屋、平成26年3月。

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

日時:平成26年12月21日(日)10:30~12:30
会場:東京大学医科学研究所(会議室:1号館2階会議室)

自動化細胞処理システムSEPAXによる 臍帯血幹細胞分離について

大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学
濱崎考史

SEPAX分離手順の要旨

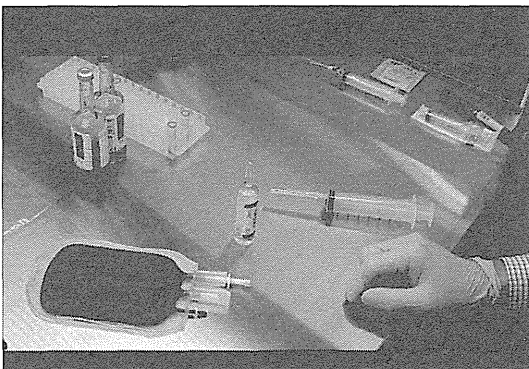
- SOPに従い、工程表に必要事項を記載
- Preのサンプル採取→CBC, CD34 測定
- HESを混和
- SEPAXで分離
- Postのサンプル採取→CBC, CD34, 培養検査

SEPAX 自動分離の実際

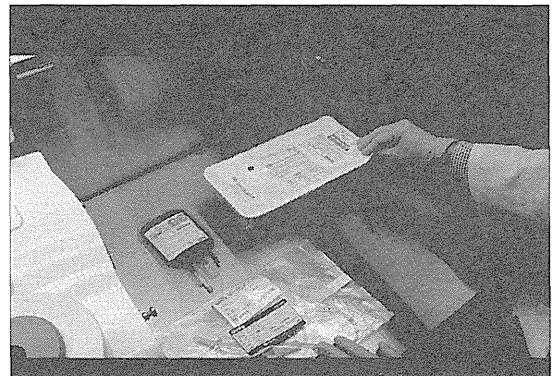
1) 操作アダプターの装着とプレサンプリング



2) HES注入と混和



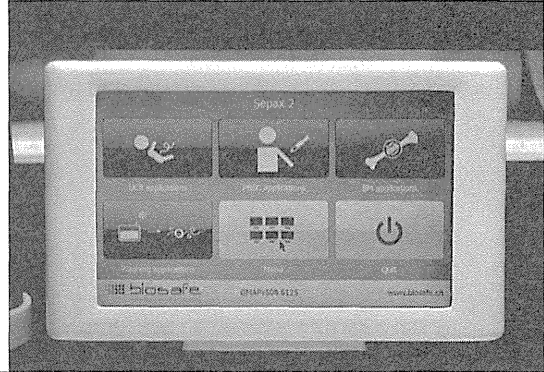
3) 回路の組み立て



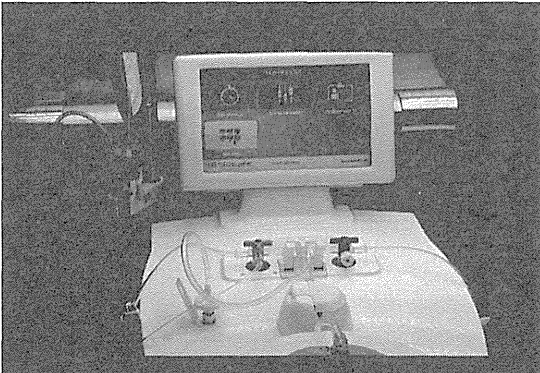
4)回路の装填



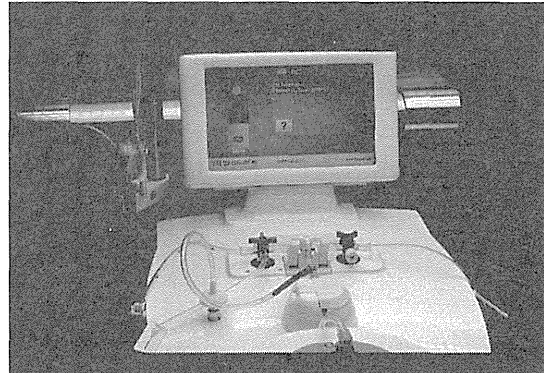
5)SEPAXのパラメータ確認



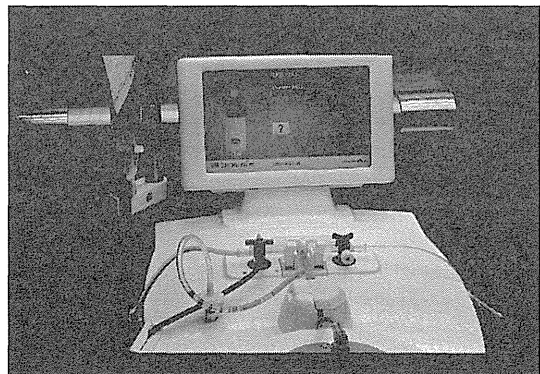
6)回路チェック-遠心1回目開始



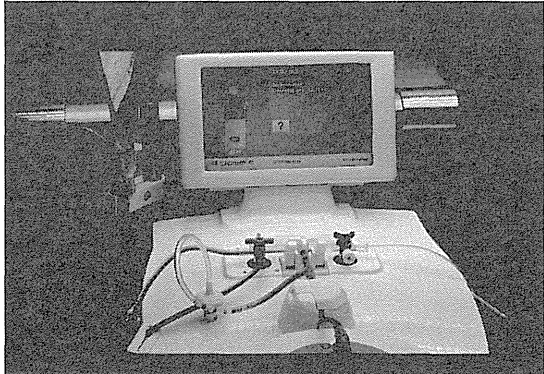
7)遠心1回目終了と2回目の開始(トラブル発生!)



8)トラブル解消して遠心2回目開始



9)遠心2回目終了



SEPAX分離効率

容量の調整、赤血球除去、白血球の濃縮

	Pre				Post				WBC 回収率 (%)	CD34 回収率 (%)
	容量 (ml)	WBC (x100/ μ l)	Hb (g/dL)	CD34 (/ μ l)	容量 (ml)	WBC (x100/ μ l)	Hb (g/dL)	CD34 (/ μ l)		
D01*	55	85	9.5	30.2	20	186	21.5	60.3	80	73
D02	120	85	11.2	46.1	20	414	10.4	257.0	81	93
D03	60	52	9.3	14.0	20	144	11.4	41.7	92	99
D04	90	132	10.5	58.5	20	398	11.1	236.0	67	90
D05**	44	19	3.5	3.3	20	23	4.2	3.9	55	54
D06	97	53	12.4	18.2	20	212	8.8	68.7	82	78

*1回目の遠心後の赤血球容量が少なかったため“Purge mode”が作動し、2回目の遠心を行わずに赤血球を自動的に回収。巨大凝血塊が採取バッグ内にあり。容量不足による“Small volume strategy mode”が作動し遠心1回のみで血漿を一部足して最終20mlに自動調整。

まとめ

- SEPAXでの分離において、機械の設定上、臍帯血採取量の必要量は、40ml以上がひとつの目安になるものと考えられた。
- また、臍帯血採取時の凝血塊は、有効な細胞分離、回収が不能となるため、なんらかの除外基準の設定が必要と考えられた。
- 分離後72時間後でも、有核細胞、CD34陽性細胞数は90%以上、保たれていた。
- CD34陽性細胞の生存率は分離72時間後も99%保たれていた。
- 混入赤血球などによるカリウムの上昇は、72時間後時点でも、中央値5.8mEq/L (1.7-11.6)程度であった。

自動化細胞処理システムSEPAX による臍帯血幹細胞処理の検討

大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学
濱崎考史

目的

「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」の臨床研究に先立ち、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行ったので報告する。

対象： 38週以上の予定帝王切開もしくは自然分娩時に採取した臍帯血。

方法： 採取後24時間以内にSEPAXを用いて分離、10度Cで保存。
分離後24時間、48時間、72時間毎に臍帯血の品質を検討した。

検討項目： CBC、白血球分画、CD34陽性細胞数、生細胞率、電解質

SEPAXの原理

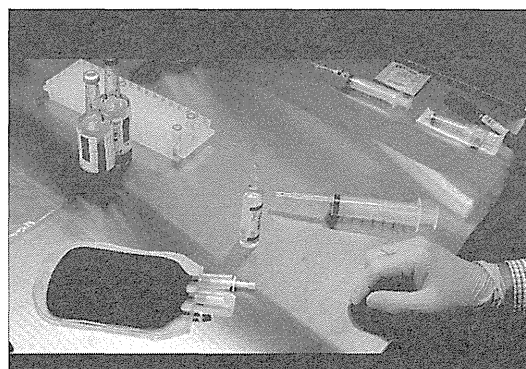


SEPAX 自動分離の実際

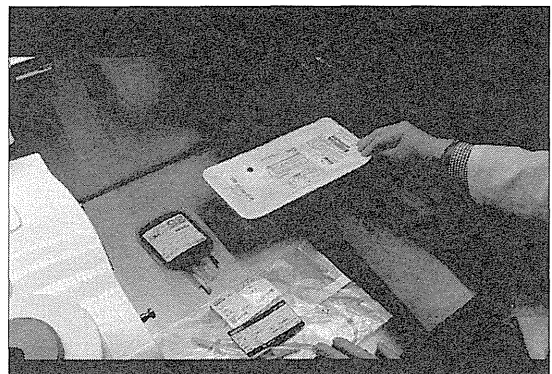
1) 操作アダプターの装着とプレサンプリング



2) HES注入と混和



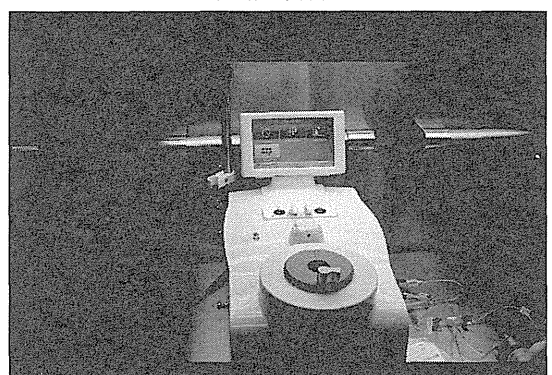
3) 回路の組み立て



4) SEPAXのパラメータ確認



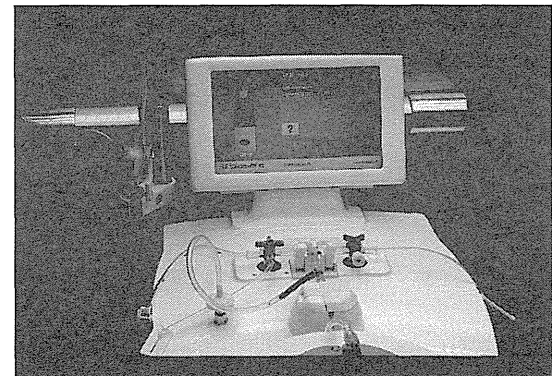
5) 回路の装填



6) 回路チェック-遠心1回目開始



7) 遠心1回目終了と2回目の開始(トラブル発生!)



8) トラブル解消して遠心2回目開始

