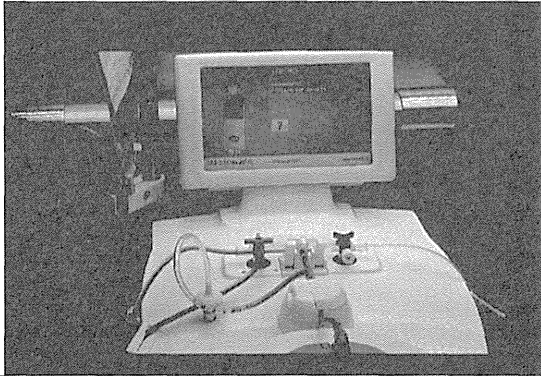


9) 遠心2回目終了



結果

- 帝王切開 3例、自然分娩 3例 (全て38週)
- 臍帯血採取量 帝王切開: 120ml, 97ml, 60ml
自然分娩: 90ml, 55ml, 44ml
- 分離前後での血液培養検査は全例陰性。

SEPAX分離効率

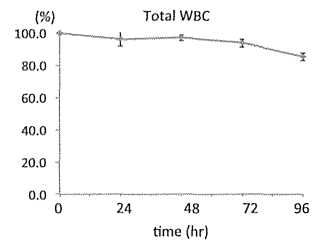
容量の調整、赤血球除去、白血球の濃縮

	Pre				Post				WBC 回収率 (%)	CD34 回収率 (%)
	容量 (ml)	WBC (x100/ul)	Hb (g/dl)	CD34 (/ul)	容量 (ml)	WBC (x100/ul)	Hb (g/dl)	CD34 (/ul)		
001*	55	85	9.5	30.2	20	186	21.5	60.3	80	73
002	120	85	11.2	46.1	20	414	10.4	257.0	81	93
003	60	52	9.3	14.0	20	144	11.4	41.7	92	99
004	90	132	10.5	58.5	20	398	11.1	236.0	67	90
005**	44	19	3.5	3.3	20	23	4.2	3.9	55	54
006	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。

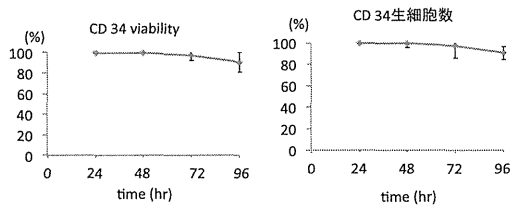
分離後のWBCの変化

処理当日のWBC数を100%としたときの経時的変化



Average(%)	100.0	96.0	96.9	93.6	84.9
SD	0.00	4.60	1.88	2.63	2.19

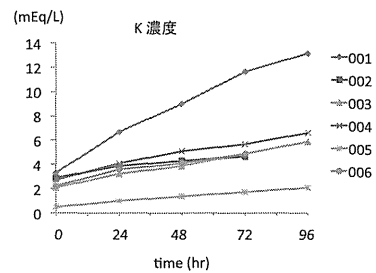
分離後のCD34の変化



Average (%)	99.6	99.5	96.9	90.5
SD	0.48	0.43	4.72	9.70

Average (%)	100.0	100.1	102.1	92.6
SD	0.00	4.10	11.04	6.04

分離後のカリウム濃度の変化



結論

- 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。
- 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。

考察

Cottenらの報告例との比較

	Median (range) or n (%)	
	Cotten's group(n=23)*	our group (n=9)
Volume collected, ml	36 (3, 178)	90 (44, 120)
Number of cells collected (x10e8)	4.8 (0.99, 48.3)	8.1 (1.4, 15.5)
Number of cells post-processing (x10e8)	4.1 (0.97, 31.2)	5.5 (0.46, 8.3)
Viability	99 (92, 100)	99.8 (98.6, 100)
CD34 (x10e6)	0.03 (0.004, 0.158)	1.8 (0.078, 5.1)

細胞数は、論文ではtotal nucleated cellsとあるので、好中球を含む全有核細胞を計算
Preの細胞数は、正味の臍帯血量に採取バッグ内に入っていたCPD液量を足して計算
論文では、臍帯血量が30ml以下の場合SEPAXを使用せず、的手法で分離
論文では、CD34測定方法に関する詳細記述なし。

Cotton et. al. Feasibility of Autologous Cord Blood Cells for Infants with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy (2014) J. Pediatr より一部改変*

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

担当責任者 下山 学 淀川キリスト教病院 血液内科部長

今後の多施設共同研究にむけて施設間の隔たりのでない安全かつ効率的な臍帯血処理の手法の確立を目指す。

A. 研究目的

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の確立。

B. 研究方法

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時間、温度管理、保存環境について検討を行う。

（倫理面への配慮）

臍帯血採取は胎盤に対してのみ行われる操作であり母体にも児にも無侵襲である。そのため不利益、危険性は生じない。

C. D. E. 研究結果、考察、結論

当淀川キリスト教病院への供血用遠心機 Sepax 設置は現在準備段階であり実際運用はまだできていない。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。

F. 健康危険情報
無し。

G. 研究発表

1. 論文発表
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

脳性麻痺予防検討会の実施に関する研究

担当責任者 岡 明 （所属機関職名） 東京大学医学部小児科

新生児の低酸素性虚血性脳症は重篤な後遺症を残すが、現時点では脳低温あるいは低体温療法が唯一の特異的治療法となっている。今後さらに脳低温あるいは低体温療法に加えた治療法の開発が求められており、本研究班では臍帯血幹細胞を用いた治療法の開発を目的として研究を行っている。今回、米国で行われた Duke University Medical Center での新生児低酸素虚血性脳症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い、実施上の注意点などが明かになった。米国での試験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のについても情報を得ることができたが、今後、本研究班は米国のグループとの情報交換を継続して、効果的に臨床試験を進めることが必要である。

A. 研究目的

1) 出生時の低酸素性虚血性脳症による後遺症は、大脳皮質、大脳基底核といった知能や運動の高次中枢神経系だけでなく、呼吸や循環等の中枢である脳幹部にも障害をきたす。このために新生児の脳障害による神経後遺症は、運動障害である脳性麻痺だけでなく、知能障害やてんかん、さらには摂食や呼吸の障害を呈し、重症新進障害児の描像を呈する。こうした障害は終生持続し、本人およびそれを支える家族に大変な苦痛と負担を与えることになる。

その治療法として脳低温あるいは低体温療法が臨床試験の結果有効性が認められ、現在我が国でも広く普及してきている。しかし脳低温あるいは低体温療法の試験のデータからも数人に 1 名の児が脳性麻痺などの神経後遺症を免れるに留まることから、さらに追加して有効な治療法を開発する必要がある。

臍帯血による再生医療の試みは、臍帯血中に幹細胞が存在することが明らかにされるとともに、骨髄移植のドナー試料として有効であることが示されている。現在ではバンクが立ち上げられ広く使用されるところになっている。また、神経系の疾患についても、副腎白質ジストロフィーなどの

疾患について骨髄移植の有効性が示され、神経疾患についても臍帯血を含む造血幹細胞治療の有効性が期待されている。

本研究班の辻らは、臍帯血幹細胞を若年脳梗塞モデルマウスに投与することによって、脳障害の修復機転に関与することを報告している。こうした動物実験の結果を踏まえて、今後、ヒトでの臨床応用が世界的に期待をされている状況にある。

最近、米国の Duke 大学の Cotten 博士は、世界に先駆けてこの新生児低酸素虚血性脳障害の臨床試験を実施している。これは第 1 相の Feasibility and safety study として、Open label で、申請時医療に実績のある Duke Medical Center の単一施設で行われた (NCT00593242)。その結果はすでに国際誌に報告され、安全であるとともに結果も有望なものであったことが示されている (J Pediatr 2014;164:973-9)。

本研究班では、今後日米共同研究を進めることにより、自己臍帯血幹細胞治療を開発研究することをめざしており、Duke 大学研究者とも連携をとりながら研究を進める必要がある。

そこでアメリカで行われた新生児低酸素虚血性脳障害の臍帯血幹細胞治療の試験の責任者であった Cotten 博士を日本に招聘し、情報交換を行っ

た。

B. 研究方法

Cotten 博士と、本研究班の研究代表者新宅治夫教授をはじめとした研究者で会議を持ち、その場で米国での臨床治験の実際について説明を受け、我が国での治験プロトコールについて詳細な検討を行った。

（倫理面への配慮）

特になし。

C. 研究結果

1) 米国での臨床治験の中で実施上の問題や課題となった点について、2015年3月8日に日本に Cotten 博士を招聘し、直接説明を受け、我が国でのプロトコールの修正の可能性について討議を行った。

2) 臍帯血投与のタイミングについて：米国での臨床治験では、当初 24 時間から 72 時間までに 3 回の投与が行なう計画となっていた。これに対して、実際には 24 時間と 48 時間の 2 回投与群がほとんどとなっている。これについては、米国 FDA の指導により 72 時間の細胞については冷蔵保存では細胞の有用性が担保されないとの指摘が後になされ、勧告に従い 72 時間投与を中止したとの説明がされた。ただし、72 時間投与による有害事象などは特に認められなかったことも説明された。

臍帯血幹細胞治療の方法として、細胞を収集した後、一度 DMSO などの保存液の中で凍結してから、適当な時期に使用する方法論もある。しかし、Duke 大学グループでは、凍結することによる Viability の問題や、保存液などによる新生児への安全性の観点から、非凍結処理による治療を選択したために、FDA の指導に基づいた 48 時間までの投与としている。なお、海外での動物実験データでは、生後数日も臍帯血投与が有効であったとの研究結果もあることから、凍結した細胞を、脳損傷から時間を経た回復期に投与する方法についても否定をする材料がないという Cotten 博士の見解であった。

したがって、現在本研究班では最終 72 時間の投与を行うが、それについては多くの細胞数を入れることができという意味でも重要であるという肯定的な見解が示された。

また Delayed cord clamping による分娩時の臍帯血を児に移行する方法との比較については、輸血のタイミングが早すぎる可能性があることが大きな相違点であるという認識が示された。また、Delayed cord clamping により、仮死の児に対する蘇生の遅れるリスクや、どの程度の血液が移行するかなど、疑問点がある点が指摘された。

3) 感染予防対策について：臍帯血幹細胞を 24 時間などの早期から投与する場合に、細菌の侵入を培養検査などで否定することは困難となる。米国での治験では、絨毛羊膜炎など明らかな胎児環境の細菌感染例などのリスクの高いものは、対象から除外されたとの説明であった。また、投与による感染の可能性については、そもそもが重症新生児仮死で出生した児は、血液検査で感染を示唆する CRP 上昇などの検査所見を呈することから鑑別が難しく、ほとんどの症例は最初から抗生物質が投与されており、さらに臨床的に敗血症の判断となった例については、抗生物質による治療を強化するなどの、通常的新生児医療としての対応がとられている。それで特に、大きな問題はなかったとの説明を受けた。

なお、米国での治験では、臍帯血幹細胞投与前に児に対してステロイドの投与が行われている。これについては、投与する細胞液の中に、何らかの生理活性を持つ遊離物質などが含まれた場合のことを想定して、投与を行ったものとの説明であった。骨髄移植を日頃行っている血液専門家よりの示唆で行った処置で、その必要性などは不明との説明であった。

4) 胎盤からの臍帯血収集について：Duke University Medical Center での胎盤からの臍帯血収集の具体的手技について、スライドで説明を受けた。我が国では量を収集する際に、穿刺を臍帯基部で行うことが推奨され本研究班でもその方法

を標準と考えているが、米国では臍帯の先端部の血管に穿刺し、基本的に重力を用いた収集が行われているとの説明を受けた。なお、胎盤全体を圧迫することについても議論があるが、十分にとれない場合に軽く圧迫する手技は用いられているということであった。なお、臍帯血収集については、Duke University Medical Center の産科部門の協力が必要であり、最終的には基本的に多くの分娩で臍帯血を集める方針を施設として確立し、仮死がなく使用しない検体であったもともかく収集しておく体制を作ることにより可能となったことが説明された。

5) 今後の日米共同研究について：米国では今回の第 1 相試験に引き続いて同様のプロトコールにて RCT を施行する予定との説明があった。我が国で米国と同一プロトコールで実施する必要性はなく、むしろ条件を変化させることによって、臍帯血幹細胞治療のタイミングなどについてのデータの集積が可能になるなどの利点があるとの意見であった。

D. 考察

1) 臍帯血幹細胞治療のタイミングについては、非凍結保存にて早期に投与する方法と、凍結して時間を経て投与する方法が考えられる。動物実験では 24 時間、48 時間の早期投与と、数日後などの慢性期投与との差異については、まだ十分なエビデンスがない状況である。本研究班では、早期投与のプロトコールであるが、今回 Cotten 博士の報告より、早期投与が安全であることがすでに示され、さらに神経後遺症についても有効性が示唆されている点から、早期投与を選択することは適当であると考えられた。凍結して慢性期投与する場合には、細胞の凍結保存にともなうリスク管理が必要となるなど、安全性試験からの確認が必須となる。

投与のタイミングと回数についても、米国プロトコールでは 24 時間、48 時間の 2 回投与としている。本研究班では、72 時間までの投与とすることで、より多い細胞数の投与が長い期間をカバーして可能となるなど、新たな知見が得られると考えられ、プロトコールとして妥当性が支持された。

2) 本研究班が安全性試験を開始するにあたり、感染対策を十分に行う必要がある。絨毛羊膜炎などのハイリスク症例は除外基準の中で考慮されるべきと考えられる。また、米国での治験では、臍帯血幹細胞のコンタミネーションによる感染などについては標準的な新生児医療での対応で問題となった例はなかったとの説明であったが、抗生物質の投与も含めて本研究班でも検討をしていく必要がある。

E. 結論

1) 世界に先駆けて米国 Duke 大学での、新生児低酸素虚血性脳症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。

2) 治療のタイミングや、感染などの注意点についての情報を得ることができた。

3) 今後も共同研究を進め、効率的に本研究班としても臨床治験を進めることが重要である。

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

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に対する自己臍帯血幹細胞治療に関する研究デザイン・開発プロジェクト管理

担当責任者 楠田 聡 東京女子医科大学母子総合医療センター所長

低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療の先行研究の実態を把握するために、先行研究の代表者の発表を聞き、その後情報交換を実施した。最新の研究結果を知ることができ、さらに情報交換を行うことで、今までの成果と今後の課題がより明らかとなった。今後わが国の臨床試験を安全にしかも効率的に実施するのに、これらの情報は重要であり、自己臍帯血細胞治療の現状が理解できた。

A. 研究目的

低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療をすでに実施している米国 Duke 大学の Cotten 医師と情報交換を行い、本邦における臨床試験を安全にそして効率的に実施できる体制を構築する。

B. 研究方法

正期産新生児が重度新生児仮死で出生し、低体温療法の適応となる例に対して、自己臍帯血を生後 3 日までに点滴静注するという第 1 相試験の結果の一部が論文に報告されている。本研究で実施する自己臍帯血幹細胞治療は、この治療プロトコールに準じて実施される予定である。そこで、先行研究の内容をより詳細に理解し、実際の治療上の種々の課題を共有することは、本邦のプロジェクトを成功させるために大いに役立つと考えられる。今回、平成 26 年 12 月 8～10 日に、米国ワシントンで開催された Hot Topic 2014 in Neonatology で、米国の研究責任者である Cotten 医師が研究内容の一部を発表する。そこで、この機会に、発表を聞くとともに、発表後に情報交換会を開催し、自己臍帯血幹細胞治療の課題について直接議論を行った。

（倫理面への配慮）

公式の講演への参加と情報交換なので、特に倫理審査は不要。

C. 研究結果

平成 26 年 12 月 9 日に、「Autologous cord blood cells for brain injury in term newborns. Phase I open-label, single site, feasibility and safety study (NCT00593242,

IND 14753)」のタイトルで、Cotten 医師の 30 分の発表があった。結果は、低体温療法のみでの対照群が 82 例、低体温療法に自己臍帯血輸血を受けた治療群が 23 例であった。出生時に採取できた臍帯血は平均 36ml で、3～178ml と大きな検体差を認めた。投与結果としては、死亡率は、対照群で 13% (11/82)、治療群では 0%であった。一方、有効性は表 1 に示すように、治療群で Bayley 発達検査での有意な改善が報告された。

表 1 自己臍帯血輸血の効果

Survival with 1 yr Bayley III scores \geq 85 in 3 domains

	Cells N = 18	Cooled only N = 46	p
*Survived to 15 months	16 (89)	35 (76)	0.25
Survival with all 3 Bayley domain scores \geq 85	13 (72)	19 (41)	0.05

最後に、今までの成果と今後の課題が図 2 のように示された。

Goals Achieved

- Identified imperative and established OB, Cord Blood, and Neonatology collaborations
- Identified feasibility to collect adequate cells for this dose even with low cord blood volume
- Initial results support safety
- At Duke: have given cells to 39 infants with HIE who were also receiving hypothermia
- Enhanced interest in public cord blood banking
- Experience gained informs logistics for multicenter trial
- Collaborative duplicate trial in Singapore funded by Singapore Ministry of Health: two infants enrolled
- Collaboration- phase II-III planning underway

図 2 臍帯血治療の現状

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）

一方、発表後に行った情報交換では、重症仮死で出生した児の臍帯血を確実に採取できる体制を病院内で予め構築しておくことの重要性が日米の共通認識となった。

D. 考察

低酸素性虚血性脳症の自己臍帯血細胞治療の第一人者の講演とその後直接の意見交換会で多くの情報を知ることができた。今後わが国の臨床試験を安全にしかも効率的に実施するのに、これらの情報は重要である。

E. 結論

自己臍帯血細胞治療の現状が理解できた。

F. 健康危険情報 無し。

G. 研究発表

1. 論文発表 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

臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発

担当責任者 辻 雅弘 国立循環器病研究センター 再生医療部室長
田口明彦 先端医療医療センター 再生医療研究部部長

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。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が明らかとなった。

A. 研究目的

新生児低酸素性虚血性脳症（HIE）に対する臍帯血幹細胞治療に関して、動物実験において有用性が示され、米国の臨床試験において実施可能性が示されたが、同治療の作用機序や最適なプロトコールは不明である。本研究では特に、静脈内投与された細胞の体内分布と有害事象発生の有無を研究目的とした。

B. 研究方法

- 1) HIE マウスモデルに GFP 発現動物から得られた異なった 2 種の幹細胞 1×10^5 個を静脈内投与した。2 時間および 24 時間に脳、肺、肝臓、脾臓を取り出し免疫染色により投与細胞を同定した。
- 2) 中大脳動脈閉塞カニクイザルモデルに RI 標識した自己骨髄単核球 5×10^6 個を静脈内投与した。1 時間後に全身 SPECT 撮像を行い体内分布を同定した。

（倫理面への配慮）

当施設動物実験倫理委員会の承認を経て、実験動物の苦痛軽減、数の削減に努めながら実施した。

C. 研究結果

- 1) 血球系幹細胞と間葉系幹細胞とでは体内分布が異なっていた。血球系幹細胞は 2 時間後には肺、肝臓、脾臓に多く認めたが、24 時間後では主に脾臓、次いで肝臓に多く認めた。脳には少数のみ認めた。
- 2) 霊長類においても同様に脾臓、次いで肝臓に多く集積を認め、脳への集積は低かった。いずれのモデルも片側脳傷害モデルであるが、傷害側へ

の集積傾向は明らかでなかった。血球系幹細胞では呼吸抑制等の有害事象は認めなかった。

D. 考察

静脈内投与された血球系幹細胞は、脳への集積は少数で、多くは脾臓、肝臓に取り込まれる傾向があることが確認できた。危惧された肺塞栓も血球系幹細胞では起こらないことが確認できた。このことはげっ歯類および霊長類において共通した現象であり、臨床においても同様な結果が予測される。さらにこの結果から幹細胞静脈内投与の効果に関して、移植細胞の脳内での直接作用以外の何らかの全身的作用も関与している可能性が示唆された。

E. 結論

投与された細胞の体内分布を明らかにし、また、顕著な有害事象が無いことを確認した。

G. 研究発表

1. 論文発表

・ Ohshima M, Taguchi A, Tsuda H, Sato Y, Yamahara K, Harada-Shiba M, Miyazato M, Ikeda T, Iida H, Tsuji M. Intraperitoneal and intravenous deliveries are not comparable in terms of drug efficacy and cell distribution in neonatal mice with hypoxia-ischemia. *Brain Dev* [in press]

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

臍帯血幹細胞移植を用いた再生医療に関わる研究開発

担当責任者 佐藤 義朗 名古屋大学医学部附属病院 講師

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た。免疫組織学的に各種急性期受傷マーカーを評価したところ、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がわかった。

A. 研究目的

周産期低酸素性虚血性脳症（HIE）に対する臍帯血幹細胞治療の作用機序をモデルラットを用いて調べる

B. 研究方法

周産期 HIE モデルは、国際的に汎用されている Rice-Vannucci モデルを用い、ラットの新生仔で作製した。イソフルレン麻酔下において、生後7日目の新生仔ラットの片側頸動脈を結紮し、その後8%低酸素負荷し、片側の梗塞モデルを作製した。臍帯血採取は、帝王切開にて出生したヒト新生児の臍帯クランプ切離後、胎盤側より採血バックを用いて行った。Ficoll-Hypaque 法を用い単核球分離にし、負荷6時間後、腹腔内に 1.0×10^7 個投与した。負荷24時間後に、各種急性期受傷マーカーを免疫組織学的に評価した。

（倫理面への配慮）

動物実験に関しては、本学動物実験施設内の審査機関において、実験の安全性及び倫理的観点からの正当性について審査され承認を受けた。（承認番号 26128）。

C. 研究結果

対照群に比べ、海馬歯状回での酸化ストレスマーカー（4-hydroxy-2-nonenal、nitrotyrosine）、アポトーシスマーカー（active caspase-3、apoptosis-inducing factor）、活性化ミクログリアマーカー（ED-1）陽性細胞数が有意に少なかった。

D. E. 考察、結論

周産期 HIE に対する臍帯血幹細胞治療において、抗酸化ストレス、抗ミクログリア活性、抗アポトーシスが作用機序として考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Hattori T, Sato Y (Correspondence), Tsuji M, Hayakawa M, et al. Administration of umbilical cord blood cells transiently decreased hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. Dev Neurosci. in press.
- Tsuji M, Taguchi A, Sato Y, et al. Effects of intravenous administration of umbilical cord blood CD34 cells in a mouse model of neonatal stroke. Neuroscience. 2014;263C:148-58.
- Tsuda H, Hayakawa M, Sato Y, et al. Effect of placenta previa on neonatal respiratory disorders and amniotic lamellar body counts at 36-38 weeks of gestation. Early Hum Dev. 2014;90(1):51-4.
- Ohshima M, Taguchi A, Sato Y, Tsuji M, et al. Intraperitoneal and intravenous deliveries are not comparable in terms of drug efficacy and cell distribution in neonatal mice with hypoxia-ischemia. Brain Dev. 2014.
- Ito M, Sato Y, Hayakawa M, et al. Paradoxical downward seizure pattern on amplitude-integrated electroencephalogram. J Perinatol. 2014;34(8):642-4.

2. 学会発表

- 佐藤義朗、辻雅弘、鍋谷まこと、市場博幸、岡 明、田村正徳、濱崎考史、北島博之、船戸正久、田口明彦、楠田聡、森臨太郎、早川昌弘、渡部晋一、新宅治夫 新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療の臨床試験 第14回日本再生医療学会総会 2015/3/19 横浜 口演

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

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

担当責任者 森 臨太郎 国立成育医療研究センター 政策科学研究部部長

標題の研究を実施するにあたり、PMDA と事前面談を実施した。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。今後治験を実施し、クラスⅡの承認を得るか、医師主導の臨床試験として当研究を実施する方向性を定める必要がある。

A. 研究目的

低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞移植を行うにあたり、PMDA より医薬品もしくは医療機器としての承認を受ける必要があるか明らかにする。

B. 研究方法

PMDA 薬事戦略相談課と事前面談を実施し、当研究を実施するにあたり医薬品もしくは医療機器の承認の必要性を明らかにする。また、治験実施の可能性がある場合は、早期の段階でプロトコールを PMDA に提出し、必要な助言を受ける。

C. 研究結果

成育医療研究センター内の臨床開発部局担当者と打合せを実施後、PMDA の事前面談の申込を行った。薬事戦略相談課の担当者と電話による打合せを重ね、面談に必要な書類等の準備を行うと同時に、面談の日程調整を行った。平成 27 年 3 月 3 日、PMDA において薬事戦略相談課職員 2 名および医療機器審査部職員 1 名と事前面談を実施した。その結果、当研究で使用予定であった供血分離機器 セパックス 2 は医療機器分類においてクラスⅠの届出しかしておらず、自己臍帯血幹細胞移植をセパックス 2 を用いて実施するのであれば、新たに治験を実施し、PMDA よりクラスⅡの承認を取得

する必要があることが明らかになった。治験申請をする際は、希少疾病用医療機器として申請できること、また、治験実施が困難である場合は、セパックス 2 類似品で代替できないか検討するよう助言があった。

D. 考察

セパックス 2 は FDA よりクラスⅡの承認を得ていることから、国外で実施したデータを用い治験申請を行うことが可能である。その際はセパックス 2 の販売業者の協力が不可欠である。また、同時に類似品での代替が可能であるか模索する必要がある。

E. 結論

研究班において、セパックス 2 の治験を実施するか、治験を行わず医師主導の臨床試験とし当研究を進めていくか、今後の方向性を定める必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表 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

学 会 等 発 表 実 績

委託業務題目「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」

機関名 公立大学法人 大阪市立大学

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
The Incidence of HIE and the Nationwide Registration System of Brain Hypothermia for Infants with HIE.（口頭）	Nabetani M, Shintaku H:	Vancouver (PAS/ASPR)	May3-5, 2014	国外
Effects copper chelators on copper biodistribution in menkes disease model mice by using micropet (ポスター)	Shintaku H, Nomura S, Nozaki S, Takeda T, Hamazaki T, Fujioka H, Kodama H, Watanabe Y	Basel(DDD2014)	Sep. 4-7, 2014.	国外
Longterm treatment of tetrahydrobiopterin (BH4) and neurotransmitter precursors in patients with BH4 deficiency in japan. International Conference on Neurology & Epidemiology (ポスター)	Shintaku H	Kuala Lumpur (ICNE 2014)	Nov. 6-8, 2014.	国外
New clinical trial of Autologous Cord Blood Cell Therapy for newborn HIE in Japan (ポスター)	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	Washington DC(Hot Topics in Neonate2014)	Dec.7-11, 2014	国外
New clinical trial of Autologous Cord Blood Cell Therapy for newborn HIE in Japan.（口頭）	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	Washington DC (Hot Topics in Neonate 2014)	Dec.7-11, 2014	国外
Candidate Strategies and Potential Targeted Therapy for Newborns suffering from HIE PAS Topic Symposium（口頭）	鍋谷まこと	バンクーバー（アメリカ/アジア合同小児科学会）	2014. 05. 04	国外

新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血療法（口頭）	鍋谷まこと	東京（臍帯血による再生医療研究会）	2014. 07. 12	国内
新生児低体温療法（Consensus2010から登録事業まで）（口頭）	鍋谷まこと	松山（第59回未熟児新生児学会）	2014. 11. 12	国内
脳低温療法の7例－施行開始から現在までを振り返る－（口頭）	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	松山（第59回未熟児新生児学会）	2014. 11. 12	国内
早産児に対する脳保護療法としてのエリスロポエチン療法－当院で過去5年間に経験した症例のまとめ－（口頭）	原田明佳、野々村光穂、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	松山（第59回未熟児新生児学会）	2014. 11. 12	国内
「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（口頭）	渡部晋一	東京（第3回脳性麻痺予防研究会）	2015. 3. 5	国内
「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（口頭）	澤田真理子	東京（第3回脳性麻痺予防研究会）	2015. 3. 5	国内
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）（口頭）	河原俊介	東京（第3回脳性麻痺予防研究会）	2015. 3. 5	国内
Outcomes in very-low-birth-weight infants with surgical intestinal disorders at 18 months' corrected age: A multicenter case-control study（ポスター）	Masahiro Hayakawa, Tomoaki Taguchi, Naoto Urushihara, Akiko Yokoi, Hiroshi Take, Jun Shiraiishi, Hideshi Fujinaga, Kensuke Ohashi, Makoto Oshiro, Yuichi Kato1, Satoko Ohfuji, Hiroomi Okuyama.	Washington DC (Hottopics in Neonatology)	2014. Dec 7-10,	国外

Current perspective in hypoxic-ischemic encephalopathy in Japan (口頭)	Masahiro Hayakawa.	Tokyo (The 46th International Congress on Pathophysiology of Pregnancy)	2014.Sept 18-19,	国内
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 (口頭)	加藤徹, 永田佳敬, 松沢麻衣子, 林誠司, 早川昌弘.	松山市 (第50回日本未熟児新生児学会)	平成26年11月10日~12日	国内
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 (口頭)	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, 齊藤明子, 近藤大貴, 孫田みゆき, 村松友佳子, 城所博之, 早川昌弘.	松山市 (第50回日本未熟児新生児学会)	平成26年11月10日~12日	国内
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 (口頭)	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, 齊藤明子, 孫田みゆき, 村松友佳子, 辻雅弘, 中西圭子, 早川昌弘.	松山市 (第50回日本未熟児新生児学会)	平成26年11月10日~12日	国内
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 (口頭)	早川昌弘.	福岡市 (第32回周産期学シンポジウム)	平成24年2月7日~8日	国内
HIEモデルマウスにおける抗IL-6レセプター抗体の効果 (口頭)	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.	浦安市 (第50回日本周産期・新生児医学会)	平成24年7月13日~15日	国内
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 (口頭)	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.	浦安市 (第50回日本周産期・新生児医学会)	平成24年7月13日~15日	国内
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 (口頭)	佐藤義朗, 中村祐子, 早川昌弘.	浦安市 (第50回日本周産期・新生児医学会)	平成24年7月13日~15日	国内
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 (口頭)	杉山裕一朗, 伊藤美春, 中村祐子, 藤巻英彦, 城所博之, 佐藤義朗, 夏目淳, 早川昌弘, 小島勢二.	名古屋市 (第108回日本小児科学会)	平成26年4月11日~13日	国内

The Incidence of HIE and the Nationwide Registration System of Brain Hypothermia for Infants with HIE. (口頭)	Masanori Tamura.	Vancouver, BC, Canada (New Neuroprotective Strategy for Neonatal Hypoxic-Ischemic-Encephalopathy/PAS Topic Symposium. PAS/ASPR 2014)	2014, May 4,	国外
The Baby Cooling Project of Japan to Change an Empirical Approach in Neonatal Therapeutic Hypothermia to Evidence-based Practice. (口頭)	Tsuda K, Iwata O, Takenouchi T, Iwata S, Nabetani M, Mukai T, Shibasaki J, Tokuhisa T, Sobajima H, and Tamura M	Washington DC, USA (Hot Topics in Neonatology2014)	2014.12.7-10	国外
前進か？後退か？BabyCooling 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 (口頭)	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	浜松市 (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	国内
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 (口頭)	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	浦安市 (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	国内
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 (口頭)	岩田欧介、田村正徳	浦安市 (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	国内
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— (口頭)	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	松山市 (第59回日本未熟児新生児学会・学術集会)	2014. 11. 10-12	国内
「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」 (口頭)	濱崎考史	名古屋市 (第2回脳性麻痺研究会)	平成26年3月	国内
A case of cole agglutinin disease that preceded clinical manifestation of non-Hodgkin lymphoma (口頭)	下山 学、上田 佳世、寺村 一裕、岩田 暢子	大阪市 (第76回日本血液学会学術集会)	2014年11月1日	国内
A case of fiffuse large B cell lymphoma with three-way translocation t(1;14;3)(q23;q32;q27) (口頭)	大西 朗生、下山 学、上田 佳世、寺村 一裕、山本 克也、岩田 暢子	大阪市 (第76回日本血液学会学術集会)	2014年11月1日	国内
幹細胞療法の臨床応用へのみちのり シンポジウム2「HIEのこれからの治療」 (口頭)	辻 雅弘	松山市 (第59回日本未熟児新生児学会・学術集会)	2014年11月12日	国内

新生児低酸素性虚血性脳症に対する自己臍帯血幹細胞治療の臨床試験 (口頭)	佐藤義朗、辻雅弘、鍋谷まこと、市場博幸、岡明、田村正徳、濱崎考史、北島博之、船戸正久、田口明彦、楠田聡、森臨太郎、早川昌弘、渡部晋一、新宅治夫	横浜市 (第14回日本再生医療学会総会)	2015年3月19日	国内
脳卒中に対する再生医療の現状と今後の展望 (口頭)	田口 明彦	横浜市 (トライポロジー研究会)	2015年1月23日	国内
脳梗塞患者に対する細胞治療の現状とその展望(口頭)	田口 明彦	桜山Stroke Junior Seminar	2015年1月	国内
Neurovascular Unit活性化による脳梗塞/認知症治療薬開発 (口頭)	田口 明彦	大阪市 (メディカルジャパン2015)	2015年2月4日	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文 (発表題目)	発表者氏名	発表した場所 (学会誌・雑誌等名)	発表した時期	国内・外の別
Glucocorticoids promote neural progenitor cell proliferation derived from human induced pluripotent stem cells	Ninomiya E, Hattori T, Toyoda M, Umezawa A, Hamazaki T, Shintaku H.	Springerplus2014;15(3):527	2014	国外
Sapropterin Is Safe and Effective in Patients less than 4-Years-Old with BH4-Responsive Phenylalanine Hydroxylase Deficiency.	Shintaku H, Ohura T.	J Pediatr. 2014;165(6):1241-4.	2014	国外
Dynamic Change in Cells Expressing IL-1 β in Rat Hippocampus after Status Epilepticus.	Sakuma S, Tokuhara D, Otsubo H, Yamano T, Shintaku H.	Jpn Clin Med. 2014;13(5):25-32.	2014	国外
PET imaging analysis with ^{64}Cu in disulfiram treatment for aberrant copper biodistribution in Menkes disease mouse model.	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	J Nucl Med. 2014 ;55(5):845-51.	2014	国外

Role of per-rectal portal scintigraphy in long-term follow-up of congenital portosystemic shunt.	Cho Y, Tokuhara D, Shimono T, Yamamoto A, Higashiyama S, Kotani K, Kawabe J, Okano Y, Shiomi S, Shintaku H	Pediatr Res. 2014;75(5):658-62.	2014	国外
A nationwide survey of Aicardi-Gouti è res syndrome patients identifies a strong association between dominant TREX1 mutations and chilblain lesions: Japanese cohort study.	Abe J, Nakamura K, Nishikomori R, Kato M, Mitsuiki 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	Rheumatology (Oxford). 2014;53(3):448-58.	2014	国外
Clinical characteristics of epileptic seizures in a case of dihydropteridine reductase deficiency.	Furujo M, Kinoshita M, Ichiba Y, Romstad A, Shintaku H, Kubo T.	Epilepsy & Behavior Case Reports 2. 2014. 37-39	2014	国外
Risk Factors for the Recurrence of the Congenital Diaphragmatic Hernia-Report from the Long-Term Follow-Up Study of Japanese CDH Study Group	Nagata K, Usui N, Terui K, Takayasu H, Goishi K, Hayakawa M, Tazuke Y, Yokoi A, Okuyama H, Taguchi T.	Eur J Pediatr Surg.;25(1):9-14	2015	国外
Outcomes in VLBW infants with surgical intestinal disorders at 18 months of corrected age.	Hayakawa M, Taguchi T, Urushihara N, Yokoi A, Take H, Shiraishi J, Fujinaga H, Ohashi K, Oshiro M, Kato Y, Ohfuji S, Okuyama H.	Pediatr Int. in press	2015	国外

Administration of Umbilical Cord Blood Cells Transiently Decreased Hypoxic-Ischemic Brain Injury in Neonatal Rats	Hattori T, Sato Y, Kondo T, Ichinohashi Y, Sugiyama Y, Yamamoto M, Kotani T, Hirata H, Hirakawa A, Suzuki S, Tsuji M, Ikeda T, Nakanishi K, Kojima S, Blomgren K, Hayakawa M.	Dev Neurosci. In press	2015	国外
Surgical complications, especially gastroesophageal reflux disease, intestinal adhesion obstruction, and diaphragmatic hernia recurrence, are major sequelae in survivors of congenital diaphragmatic hernia	Yokota K, Uchida H, Kaneko K, Ono Y, Murase N, Makita S, Hayakawa M	Pediatr Surg Int;30(9):895-9	2014	国外
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	Usui N, Okuyama H, Kanamori Y, Nagata K, Hayakawa M, Inamura N, Takahashi S, Taguchi T.	J Pediatr Surg.;49(8):1191-6.	2014	国外
Pneumothoraces as a fatal complication of congenital diaphragmatic hernia in the era of gentle ventilation.	Usui N, Nagata K, Hayakawa M, Okuyama H, Kanamori Y, Takahashi S, Inamura N, Taguchi T.	Eur J Pediatr Surg.;24(1):31-8.	2014	国外
Differences between periventricular hemorrhagic infarction and periventricular leukomalacia	Tsuji T, Okumura A, Kidokoro H, Hayakawa F, Kubota T, Maruyama K, Kato T, Oshiro M, Hayakawa M, Watanabe K.	Brain Dev.;36(7):555-62.	2014	国外
Effect of placenta previa on neonatal respiratory disorders and amniotic lamellar body counts at 36-38weeks of gestation.	Tsuda H, Kotani T, Sumigama S, Mano Y, Hua L, Hayakawa H, Hayakawa M, Sato Y, Kikkawa F.	Early Hum Dev.;90(1):51-4.	2014	国外
Prognostic factors of gastroesophageal reflux disease in congenital diaphragmatic hernia: a multicenter study	Terui K, Taguchi T, Goishi K, Hayakawa M, Tazuke Y, Yokoi A, Takayasu H, Okuyama H, Yoshida H, Usui N	Pediatr Surg Int.30(1):1129-34.	2015	国外

Outcome of congenital diaphragmatic hernia with indication for Fontan procedure.	Shiono N, Inamura N, Takahashi S, Nagata K, Fujino Y, Hayakawa M, Usui N, Okuyama H, Kanamori Y, Taguchi T, Minakami H.	Pediatr Int. ;56(4):553-8.	2014	国外
Diffusion-weighted MRI for early diagnosis of neonatal herpes simplex encephalitis	Okanishi T, Yamamoto H, Hosokawa T, Ando N, Nagayama Y, Hashimoto Y, Maihara T, Goto T, Kubota T, Kawaguchi C, Yoshida H, Sugiura K, Itomi S, Ohno K, Takanashi JI, Hayakawa M, Otsubo H, Okumura A.	Brain Dev.in press	2015	国外
Paradoxical downward seizure pattern on amplitude-integrated electroencephalogram	Ito M, Kidokoro H, Sugiyama Y, Sato Y, Natsume J, Watanabe K, Hayakawa M	J Perinatol. 2014;34(8):642-4	2014	国外
Incidence and prediction of outcome in hypoxic-ischemic encephalopathy in Japan	Hayakawa M, Ito Y, Saito S, Mitsuda N, Hosono S, Yoda H, Cho K, Otsuki K, Ibara S, Terui K, Masumoto K, Murakoshi T, Nakai A, Tanaka M, Nakamura	Pediatr Int. 2014;56(2):215-21	2014	国外
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	早川昌弘	周産期学シンポジウム. 2014;32:97-101	2014	国外
【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	鈴木俊彦、早川昌弘	周産期医学. 2014;44:841-844	2014	国内
【小児の治療指針】新生児 新生児発作.	早川昌弘	小児科診療. 2014;77巻増刊:940-941	2014	国内
低酸素性虚血性脳症	早川昌弘	神経症候群(第2版) 7-10頁	2014	国内

The baby cooling project of Japan to implement evidence-based neonatal cooling.	Iwata O, Takenouchi T, Iwata S, Nabetani M, Mukai T, Shibasaki J, Tsuda K, Tokuhisa T, Sobajima H, Tamura M	Ther Hypothermia Temp Manag 2014 Dec;4(4):173-9	2014	国外
The Baby Cooling Project of Japan to Implement Evidence-Based Neonatal Cooling.	Iwata O, Takenouchi T, Iwata S, Nabetani M, Mukai T, Shibasaki J, Tsuda K, Sobajima H, Tamura M	Ther Hypothermia Temp Manag.	in press	国外
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.	Kurishima C, Masutani S, Kuwata S, Iwamoto Y, Saiki H, Ishido H, Tamura M, Senzaki H	J Cardiol. 2014 Dec 8. pii: S0914-5087(14)00328-1	2014	国外
Oxygen Supply to the Fetal Cerebral Circulation in Hypoplastic Left Heart Syndrome: A Simulation Study Based on the Theoretical Models of Fetal Circulation.	Sakazaki S I, Masutani S, Sugimoto M, Tamura M, Kuwata S, Kurishima C, Saiki H, Iwamoto Y, Ishido H, Senzaki H	Pediatr Cardiol. 2015 Mar;36(3):677-84	2015	国外
Drug therapies in bronchopulmonary dysplasia in Japan: questionnaire survey.	Ogawa R, Mori R, Sako M, Kageyama M, Tamura M, Namba F	Pediatrics International (2015) 57, 189-192	2015	国外
Thoracoscopy-assisted removal of a thoracoamniotic shunt double-basket catheter dislodged into the fetal thoracic cavity: report of three cases.	Inoue S, Odaka A, Baba K, Kunikata T, Sobajima H, Tamura M	Surg Today. 2014.04. 44(4):761-6	2014	国外
Assessment of ventricular relaxation and stiffness using early diastolic mitral annular and inflow velocities in pediatric patients with heart disease.	Masutani S, Saiki H, Kurishima C, Kuwata S, Tamura M, Senzaki H	Heart Vessels. 2014 Nov;29(6):825-33	2014	国外
Usefulness of Cystatin C in the Postoperative Management of Pediatric Patients With Congenital Heart Disease	Yana A, Masutani S, Kojima T, Saiki H, Taketazu M, Tamura M, Senzaki H	Circ J. 2013;77(3):667-72	2013	国外