

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 24 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591209

研究課題名（和文） 周産期脳障害に対する自己臍帯血幹細胞による脳機能再生の治療戦略

研究課題名（英文） Treatment strategy for perinatal brain damage by using umbilical cord stem cells.

研究代表者

細野 茂春 (HOSONO SHIGEHARU)

日本大学・医学部・准教授

研究者番号：50339339

研究成果の概要（和文）：超早産児では胎盤血輸血を行うことによって 17.7ml/kg の臍帯血が輸血される。臍帯血バンクで行っている臍帯血の貯血による採取・分離される幹細胞とほぼ半量の幹細胞が輸血されることが確認された。しかし、臍帯血輸血を行った早産児とコントロール群では修正年齢 3 歳の時点の死亡率および神経学的後障害の有意差は見られなかった。周産期の障害の頻度の高い低酸素性虚血性脳症と先天性水頭症に対する自己臍帯血幹細胞治療について臨床研究審査委員会での承認を 2011 年に得た。しかし、臨床研究審査委員会承認後当院で出生した児で 5 分後アプガースコア 3 点未満および先天性水頭症の入院症例は無かったため自己幹細胞の保存は行えなかった。1 次、2 次医療機関での臍帯血採取の体制作りが必要である。

研究成果の概要（英文）：Average volume of placental transfusion in premature infants was 17.7ml/kg. Stem cells in this value accounted for about half volume from stored placental whole blood in public umbilical cord blood bank. However, regards placental transfusion in premature infants, there was no statistic difference in the death and/or the neurodevelopmental outcome at the corrected age of 3 years between the control groups and the intervention group. Meanwhile, the clinical research investigation committee approved the trial of treatment of autologous cord blood stem cell for infants with neurodevelopmental abnormalities caused by birth asphyxia or congenital hydrocephalus in 2011. But, we had no asphyxiated infants with 5-min Apgar score less than three and congenital hydrocephalus born in our hospital after the approval. So I could not harvest the umbilical cord blood. It is important to build a framework to collect the placental blood in the clinics.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 胎児・新生児医学

キーワード：臍帯血幹細胞輸血、胎盤血輸血、新生児仮死、超早産児、先天性水頭症、神経学的後障害、低酸素性虚血性脳症、臍帯ミルキング

1. 研究開始当初の背景

新生児仮死、黄疸、早産は周産期に起因する神経学的後障害の3大要因と言われていた。黄疸管理の進歩により満期産児においてビリルビン脳症による脳性麻痺の発症は見られなくなった。一方、周産期管理の向上、特に胎児心拍モニタリングの普及により胎児の危機的状態が認められた場合早期の娩出が行われる。しかしながら全分娩で検討すると10%の児は出生時に何らかの蘇生を必要とし、1%の児はマスクとバックによる蘇生が必要となる。重症新生児仮死は低酸素性虚血性脳症を伴いやすく、5分値のアプガースコアが3点以下の児は後障害発生の頻度が高い。脳性麻痺をはじめとする周産期脳障害の発生頻度は周産期医療の進歩により低下傾向にあるが、新生児仮死は出生1000に対して2-4、脳室周囲白質軟化症は26週から30週前後で出生した早産児の10%前後にみられる。また先天性水頭症は出生1000に対して2の割合で発生する。また、早産児は生存率の改善は認められているものの1,000g未満の児の神経学的後障害は15%と未だ満足出来る数字ではない。その原因は頭蓋内出血と脳室周囲白質軟化症である。新生児がその後神経学後遺症を伴うかどうかは新生児早期に判断するのは難しいが神経学的後障害が見られた場合、完全に治癒させることは困難でその治療は大きく「医学的治療」と「療育」すなわちリハビリテーションによ早期介入により機能廃絶の進行を遅らせるか、機能回復を図るかが唯一の治療法である。早産の原因として炎症性サイトカインが考えられている。出生時は炎症性サイトカインによる脳細胞の損傷がおきやすい。低酸素虚血や炎症性サイトカインによる脳細胞の損傷に対して幹細胞から分泌される種々の栄養因子による脳神経保護作用と幹細胞自身が神経細胞およびグリア細胞に分化し損傷部位の修復を行う可能性があることが報告されている。成人の脳梗塞では骨髄由来の幹細胞を輸血することにより脳梗塞により障害された神経機能の改善、脳梗塞容量の減少、および血管および神経再生の促進、等が報告され臨床的にも機能改善を示唆する報告が散見される。また小児は成人の完成された脳とは異なり発達途上にある。幹細胞の脳血液関門の透過性も成人と異なり高く、成人と比較して少ない幹細胞で治療が行える可能性がある。自己臍帯血幹細胞が病変部での神経細胞やグリア細胞に分化し修復に関わった場合、本来の発達途上にある脳組織との親和性が高くニューロンネットワークの形成がより有効に張り巡らされることが期待でき治療効果が高い可能性がある。自己臍帯血幹細胞による治療はES細胞、iPS細胞と異なり自己

幹細胞であるため倫理面でのハードルも低い。また、骨髄からの採取と異なり臍帯血の採取は母児共に採取の影響を受けず無侵襲である。しかしながらその採取の機会は通常分娩時の1回のみである。

2. 研究の目的

本研究の最終目的は正期産児の周産期能障害に対して臍帯血を貯血し分離・保存した自己臍帯血幹細胞を静脈内に投与し、その安全性と神経機能の回復を評価することを目的とする。一方、早産児では幹細胞の分離・保存に必要な十分な量の胎盤血の採取が不可能なため胎盤血輸血の形で血液成分の一つである幹細胞を輸血し児の神経学的予後に差が生じるかどうかを検討する事にある。本療法が安全かつ有効性が証明されれば、現状では有効な治療のない周産期脳障害患者の機能改善が図られ、患者が受ける恩恵はもちろんのこと医療および福祉にかかる費用の軽減につながる。

3. 研究の方法

(1)臍帯血採取・分離・保存に関する基礎的検討

在胎24週から28週で生じた児20例について臍帯血採取量について検討した。臍帯血バンクでの採取方法に準じた行うこととした。(2)正期産新生児仮死児および先天性水頭症での神経学的後障害発生に対する自己臍帯血幹細胞移植

アプガースコア3点未満の児が出生した場合、または胎児診断で先天性水頭症と診断された場合臍帯血を採取し幹細胞を分離・保存する。生存退院例に対して外来フォローを行い神経学的後障害に関して検討をする。ここで言う神経学的後障害とは脳性麻痺、精神運動発達遅滞をさす。神経学的後障害の最終判定は小児神経専門医が行う。通常、神経学的後障害は生後6か月前後で明確になる。神経学的後障害有り判断された場合は保存しておいた自己幹細胞を投与しその効果判定を行う。神経学的後障害の判定には診察による姿勢および筋緊張の異常と津守・稲毛式発達評価とMRIによる画像診断で行う。MRIによる画像診断は治療前2週間以内、治療後2週間、1か月、4か月、6か月と1年で行う。発達検査は1歳以下は津守・稲毛式発達評価で行い1歳6か月以降は新版K式による客観的発達評価を行う。小児神経科医による診察は治療前、月齢9か月、12か月、18か月、24か月、36か月で行う。また聴性脳幹反応を用いた聴力検査を治療前と治療後1か月で行う。当院臨床研究審査委員会の承認を得て行う。

(3)超早産児に対する胎盤血輸血による幹細胞輸注

胎盤血輸血は臍帯遅延結紮と臍帯ミルクキングがある。本研究では早産児を対象とするので蘇生に影響されない臍帯ミルクキングによる胎盤血輸血と臍帯早期結紮群において神経学的後障害の頻度について検討した。対象は既に当院での臨床研究審査委員会で承認されランダム化による介入が終わり生存退院しフォローアップ中の児を対象とした。神経学的後障害としては脳性麻痺、神経発達遅滞、てんかん、難聴、視力障害の5項目とした。脳性麻痺は姿勢および筋緊張の異常で小児神経科医が診断したものとした。3歳児での発達検査は津守・稲毛式乳幼児発達検査法を用いた。視力障害は小児眼科医が、聴力障害は耳鼻咽喉科医が診断した。

4. 研究成果

(1) 臍帯血採取・分離・保存に関する基礎的検討

臍帯血バンクでの採取方法に準じた場合、超早産児では胎盤重量が小さく臍帯も細いため十分な量の臍帯血は採取ができなかった。そのため約30cmの臍帯血管内に残存している臍帯血液量に関して検討した。対象の在胎週数26.6±1.2週(24週～28週)、出生体重846±171g(587g～1,180g)であった。全臍帯長の平均は41cmで30cmの臍帯血管内に残存した臍帯血液量は15.4±6.3ml(6～25ml)、臍帯血管1cm当たり平均0.5mlで体重1kg当たり臍帯30cm内の残存臍帯血液量は17.7ml/kgであった。当院での臍帯血バンクでの正期産児の臍帯血採取量の中央値は60mlであり、十分な量の幹細胞を採取するのは100ml程度の臍帯血の採取が必要となる。生体重を3.1kgとすると臍帯血バンクでの体重当たりの臍帯血採取量は32ml/kgである。臍帯血輸血により投与される幹細胞量は体重1kg当たりに臍帯血採取・分離・保存による幹細胞移植時の投与量とほぼ半量と考えられた。

(2) 正期産新生児仮死児および先天性水頭症での神経学的後障害発生に対する自己臍帯血幹細胞移植

2011年に臨床研究審査委員会で承認を得た。2011年度の1年間の当院での正期産児での5分値アプガースコア3点以下の重症仮死児の発生は見られなかった。2012年において当院に入院した正期産児は200例で新生児仮死は14例入院した。しかしながら、当院で出生した児に関してはアプガースコア3点未満の重症仮死の発生はなかった。アプガースコア3点未満の児はいずれも院外出生児であったため臍帯血貯血は行えなかった。先天性水頭症の症例もいなかった。当院で重症新生児仮死の出生がなかったのは産科管理で胎児モニタリング異常を認めた場合、緊急帝王切開の対応が麻酔科の協力で帝王切開

決定から30分以内に娩出する体制の確立と新生児科医が日本標準である新生児蘇生法に熟知し遵守した結果と考える。現在、一部の施設において臍帯血バンクに対しての臍帯血貯血が一般の産科医療機関でも行われている。今後は1次、2次産科医療施設で臍帯血の貯血が広がれば症例によっては自己使用のための貯血に切り替え分離・保存することも検討する必要がある。

3) 超早産児に対する胎盤血輸血による幹細胞輸注

先行研究で行った在胎29週未満で出生した児における胎盤血輸血を行った児の神経学的予後に関してハイリスクフォローアップ研究会でキーマンツとされている3歳の結果について検討した。コントロール群20例で生存退院は17例、フォローアップ脱落は2例であった。一方、介入群20例中で死亡は2例、フォローアップ脱落が2例であった。コントロール群の神経学的後障害発生は4例、介入群では3例であった。死亡と後障害を併せて検討するとコントロール群では39%、介入群で28%であったが統計学的有意差はなかった($p=0.49$)。神経学的後障害のみでの検討ではコントロール群27%、介入群19%で有意差は見られなかった($p=0.60$)。これはサンプルサイズが少ないことに起因する可能背があるので現在行われている多施設共同研究の解析結果を待つ必要があると考えられた。超早産児の胎盤血輸血に関しての安全性には問題ないと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ①細野茂春. 臍帯ミルクキング. 小児科診療. 査読無し. 75;1519-1523, 2012
- ②細野茂春. 胎盤血輸血. 周産期医学. 査読無し. 41:906-907, 2011
- ③細野茂春. 新生児蘇生手技としての臍帯ミルクキング. 日本産婦人科・新生児血液学会誌. 査読無し. 19:65-72, 2010

[学会発表] (計9件)

- ①Hosono Shigeharu. Placental transfusion; Up to date. The 2nd China-US International Symposium of Pediatrics. 2013. 5. 26. Dongon China.
- ②Hosono Shigeharu. Placental transfusion; Up to date. 2013. 5. 24. Changsha China.
- ③Hosono Shigeharu. Umbilical cord milking in extremely low birth weight infants; Result of RCT in Japan. 3rd Neonatal Resuscitation Research Workshop.

2013.5.2. Maryland USA.

④細野茂春 新生児輸血医療の現状と課題.
第132回新生児セミナー. 2012.12.21. 鹿児島

⑤細野茂春 新生児輸血医療の現状と問題
点. 第134回日本輸血・細胞治療学会 関東
甲信越支部会. 2012.9.29. 東京

⑥細野茂春 胎盤血輸血の現状と臍帯ミル
キングの今後. 日本周産期・新生児医学会.
2012.7.9. 大宮

⑦Hosono Shigeharu. Placental
transfusion; New strategy of neonatal
resuscitation up dated. China-US
(Xiaoxiang) Summit of Pediatrics.
2012.6.9. Changsha China.

⑧Hosono Shigeharu. Novel method of one
time umbilical cord milking after cutting
cord; comparison with three time cord
milking. 17th Federation of Asia Oseania
Perinatal Society. 2012.3.21. Sydney
Australia.

⑨Hosono Shigeharu. Effect of umbilical
cord milking as placental transfusion at
delivery room resuscitation. The
International Symposium of Neonatal
Respiratory and intensive Care Medicine.
Huangsha China. 2010.10.30.

[図書] (計2件)

①Shigeharu Hosono Springer Ltd.
Regenerative Medicine Using
Pregnancy-specific biological
substances. 2011 pp75-83.

②細野茂春 中外医学社. EBM 小児疾患の
治療 2011-1012. 2011. pp666-672.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

細野 茂春 (HOSONO SHIGEHARU)
日本大学・医学部・准教授
研究者番号：50339339

(2) 研究分担者

麦島 秀雄 (MUGISHIMA HIDEO)
日本大学・医学部・教授
研究者番号：80183648
山本 樹生 (YAMAMOTO TATUO)
日本大学・医学部・教授
研究者番号：40167721
瀧上 達夫 (FUCHIGAMI TATUO)
日本大学・医学部・准教授
研究者番号：60201753

(3) 連携研究者

()
研究者番号：

(4) 連携研究者 ()
研究者番号：