

視 点

自己臍帯血移植（自己臍帯血造血幹細胞療法）
による小児脳性まひの予防

渡 部 晋 一

I. 背 景

新生児低酸素性虚血性脳症（hypoxic-ischemic encephalopathy : HIE）は、新生児仮死に関係する脳性まひの主要な原因の一つで主に成熟児で見られる。HIE では、脳神経細胞にグルコースや酸素、血流が供給されないため、ミトコンドリアにおけるATP 産生が抑制される。ATP の潤渇により細胞内に Na^+ が蓄積するため、脳神経細胞に興奮性アミノ酸であるグルタミン酸が蓄積し、細胞内カルシウムの上昇を引き起こし、最終的には脳神経細胞に不可逆的な傷害が生じる¹⁾。HIE の脳神経細胞傷害の機序を図1に示す^{2~4)}。現在までに有効性が証明され

た治療法は、（脳）低体温療法（brain hypothermia therapy : BHT）だけである⁵⁾。BHT により治療効果が得られるのは生後6時間までであり、また、BHT の18か月後の死亡や重度神経学的後遺症を減少させる number needed to treat (NNT) は9であり、現行のBHT 単独では脳保護効果は不十分と言える^{5,6)}。

II. 臍帯血造血幹細胞療法

臍帯血に多く含まれる造血幹細胞（CD34）には、脳血流改善、血管の保護・新生、各種成長因子の分泌、マイクログリアの反応調整を含めた免疫調整および抗炎症作用、神経軸索の発芽促進などの作用が

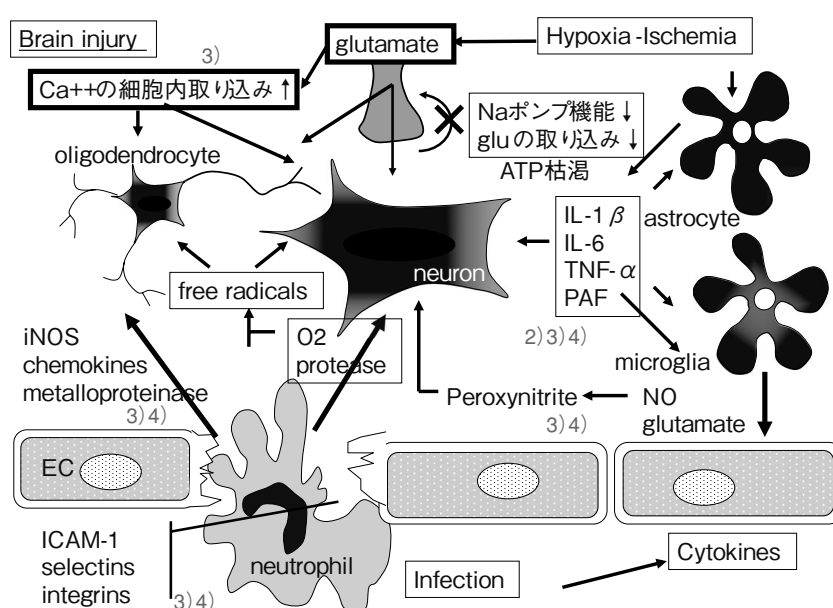


図1 低酸素性虚血性脳症（HIE）の機序

Shinichi WATABE

大原記念倉敷中央医療機構倉敷中央病院 総合周産期母子医療センターセンター長 小児科部長

表1 HIE に対する臍帯血造血幹細胞療法の対象と除外基準

登録時において、以下の④以外の選択規準を全て満たし、かつ除外規準のいずれにも該当しない被験者を適格とする。
①在胎36週以上で出生している。
②次のうちいずれかに合致する。
1) 生後10分のアプガースコアが5以下。
2) 10分以上の持続的な新生児蘇生が必要。
3) 出生時(生後1時間以内)に重度のアシドーシス(血液ガスでpH <7.0, または base deficit ≥ 16 mmol/L)がある。
③中等症以上の脳症(Sarnat 分類ⅡないしⅢ度)を認める。
④可能であれば脳波モニタリング amplitude-integrated EEG (aEEG) で、基礎律動の中等度以上の異常、もしくはけいれんを認める。
⑤日齢0ないし1(出生後24時間以内)である。
⑥自己臍帯血を採取、保存しており、生後3日以内に臍帯血投与が可能である。
⑦患児の親権者から文書による同意が得られている。
<除外規準>
①先天異常を有している(染色体異常や先天性心疾患、先天奇形症候群など)。
②頭部エコーないしCTにて重度の頭蓋内出血が認められる。
③子宮内発育遅延を認める(出生体重<1,800g)。
④重症感染症(敗血症など)を併発している。
⑤高カリウム血症がある。
⑥本研究施設以外で出生した後に、本研究施設へ救急搬送されている。
⑦臍帯血採取量が30mL未満である。
⑧瀕死の状態にあり、低体温療法を含めた集中治療によっても児の利益が見込めない。
または、担当医師の判断により、当試験への参入が不適切と考えられる。

ある⁷⁻¹²⁾。HIE に対する臍帯血造血幹細胞療法は、自己臍帯血中のCD34をHIEと診断された児に直接投与する治療法で、脳性まひの予防効果が期待される。また、自己臍帯血を用いるために拒絶反応などのリスクが回避される。Duke大学のCottenの報告では、臍帯血造血幹細胞療法を併用した群の方が、低体温療法単独群に比べ、神経学的予後の改善効果がみられた¹³⁾。本邦では、大阪市立大学の新宅らにより臨床応用への取り組みが始まり、2014年8月にヒト幹細胞臨床研究実施計画が厚生労働省により承

認され、12月に厚生労働科学研究として認められた。本研究は国内6施設で行われ、基準を満たした中等症以上のHIE児に対して家族に説明と同意を得て、自己臍帯血造血幹細胞を静脈内に点滴輸注するものである(表1)。

Ⅲ. 自 験 例

1. 実施に向けての準備

当院では安全性、確実性を考慮し、在胎36週以上、出生体重1,800g以上、全身麻酔下帝王切開例、院内出生をエントリーすることとし、院外出生、経膈出生例は除外した。産婦人科医師の臍帯血採取スキルを統一するために、院外講師を招聘し講義と実地指導を行い、事前に、全産科医師による帝王切開時の臍帯血採取訓練を繰り返した。自動細胞分離装置SEPAX-2(BioSafe社、スイス)も試運転を繰り返し、分離中のインシデントがないように、事前に血液治療センター技師、NICU看護師・医師との間で協議を重ねた。以上の準備を徹底したところで本邦第1例を経験した。

2. 症 例

症例は日齢0男児。母体は25歳、初産。既往歴なし。妊娠経過中異常なし。常位胎盤早期剥離、胎児機能不全のため緊急母体搬送され、緊急帝王切開で出生。在胎38週0日、出生体重2,436g。アプガー・スコア1分2点、5分5点、15分8点。臍帯をクランプ切断後、

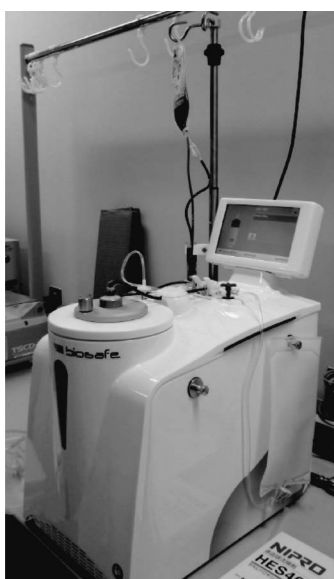


図2 臍帯血造血幹細胞供用遠心機 SEPAX (スイス BioSafe 社)

表 2 Sarnat 分類（上段：Ⅱ度）と Thompson の HIE スコア：12点

	軽症	中等度	重度
意識状態	☐ 不穏，過覚醒	☒ 嗜眠	☐ 昏迷，昏睡
自動運動	☐ 禁抑制，過反応	☐ 減少	☐ 消失
姿勢	☒ 軽度の遠位部屈曲	☐ 遠位部屈曲，全身伸展	☐ 除脳硬直
筋緊張	☐ 正常	☒ 低下	☐ 弛緩
吸啜反射	☐ 減弱	☐ 減弱	☒ 消失
モロー反射	☐ 亢進	☒ 不完全	☐ 消失
瞳孔	☐ 散瞳	☒ 縮小	☐ 散大，無反応
心拍	☐ 頻脈	☒ 徐脈	☐ 変動
呼吸	☐ 自発	☒ 周期性無呼吸	☐ 無呼吸
けいれん	☒ なし	☐ あり	☐ まれ

所見	0	1	2	3
筋緊張	☐ 正常	☐ 亢進	☒ 低下	☐ 弛緩
意識状態	☐ 正常	☐ 興奮・開眼	☒ 嗜眠	☐ 昏睡
けいれん発作	☒ なし	☐ 1日3回未満	☐ 1日3回以上	—
姿勢	☒ 正常	☐ ペダルこぎ・握りこぶし	☐ 遠位部屈曲	☐ 除脳硬直
モロー反射	☐ 正常	☐ 部分的	☒ なし	—
把握反射	☐ 正常	☐ 減弱	☒ なし	—
吸啜反射	☐ 正常	☐ 減弱	☒ なし	—
呼吸	☐ 正常	☐ 過呼吸	☒ 間欠的無呼吸	☐ 自発呼吸なし
大泉門	☒ 正常	☐ 膨隆	☐ 緊満	—

胎盤寄りの臍帯の表面を75%エタノール綿で清拭し、ポピドンヨード液をつけた消毒綿で穿刺する箇所を消毒した。臍帯血バッグ（抗凝固液としてCPD（citrate-phosphate-dextrose）添加）を穿刺部位より

も低くした状態で採血針を臍帯静脈に穿刺して、血液をバッグの中に流下させた。得られた臍帯血は77mLで、自動細胞分離装置SEPAX-2TM（図2）を使用し分離回路CS-430.1（BioSafe社，スイス），UCB-HES分離プログラムを用いて造血幹細胞を分離した。

児は蘇生後NICU入室。心拍数170/min，血圧48/38（43）mmHg，SpO₂ 99%（FiO₂ 0.30，SIMV）（上下肢差なし），体温37.2℃，皮膚色：蒼白，心雑音なし，肺音清明で空気の入り良，四肢の緊張低下していた。臍帯血pH7.255であったが，Tompson score12点，Sarnat分類で中等度以上のHIEと診断した（表2）。血液検査では，乳酸7.7mmol/L，CK 2,424 IU/L，CK-BB 71.5 IU/L（表3），前大脳動脈 resistance index 0.67，aEEGで中等度の抑制あり。人工呼吸管理下に日齢0から脳低体温療法を開始した。また，処理後の造血幹細胞液20mLを3パックに分注し，ご家族の同意の元，日齢1～3まで，1日1回，1時間で点滴投与した。児は日齢5には自発呼吸が出現し呼吸器から離脱。経口哺乳を開始した（図3）。日齢6の髄液NSE 62.0ng/mLで，日齢10の頭部MRIで異常なかった。児は日齢30に退院した。現在，外来で発達フォロー中で神経学的後遺症はなく，月齢相当の発達である。

表 3 入院時検査所見

臍帯動脈血ガス分析		生化学検査	
pH	7.225	CRP	0.049 mg/dL
pCO ₂	48.2 Torr	TP	5.8 g/dL
BE	－ 7.4 Torr	Alb	3.2 g/dL
Lactate	6.0 mmol/L	T.Bil	1.0 mg/dL
静脈血液ガス分析		AST	87 IU/L
pH	7.218	ALT	12 IU/L
pCO ₂	48.6 Torr	CK	771 IU/L
pO ₂	49.0 Torr	LDH	643 IU/L
BE	－ 7.8	UA	7.2 mg/dL
Lactate	7.7 mmol/L	BUN	8 mg/dL
血算		Na	140 mEq/L
RBC	476×10 ⁴ /μL	K	5.4 mEq/L
Hct	52.6 %	Cl	101 mEq/L
Hb	17.7 g/dL		
WBC	16,800 /μL		
PLT	19.4×10 ⁴ /μL		
APTT	75.5 sec		
PT	22.0 sec		
PT 活性	43.0 %		
PT-INR	1.90		

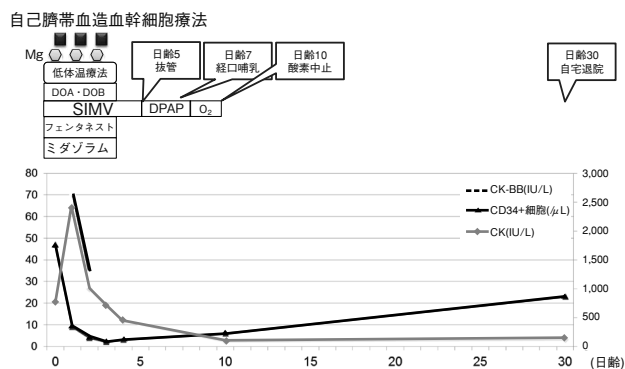


図3 児の臨床経過

IV. ま と め

HIEによる脳性まひに対しては、低体温療法が有効とされるが、脳性まひの抑制効果としては不十分である。臍帯血造血幹細胞療法は、脳性まひ児の発症をさらに減少する効果が期待される。本研究は今後、症例を重ね、安全性の確認に加え有効性を実証する必要がある。

文 献

- 1) Takata T, Nabetani M, Okada Y. Effects of hypothermia on the neuronal activity, Ca^{2+} accumulation and ATP levels during oxygen and/or glucose deprivation in hippocampal slices of guinea pigs. *Neurosci Lett* 1997 May 9 ; 227 (1) : 41-44.
- 2) Yuan J, Yankner BA. Apoptosis in the nervous system. *Nature* 2000 ; 407 : 802-809.
- 3) Wassink G, Gunn ER, Drury PP, Bennet L, Gunn AJ. The mechanisms and treatment of asphyxial encephalopathy. *Front Neurosci* 2014 ; 8 : 40.
- 4) Drury PP, Bennet L, Gunn AJ. Mechanisms of hypothermic neuroprotection. *Semin Fetal Neonatal Med* 2000 ; 15 : 287-292.
- 5) 田村正徳, 鍋谷まこと, 岩田欧介, 武内俊樹. Consensus2010に基づく新しい日本版新生児蘇生法ガイドラインの確立・普及とその効果の評価に関する研究. 我が国における脳低温療法の現状; 厚生労働科学研究(成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業) 藤村班, 重症新生児のアウトカム改善に関する多施設共同研究, 分担研究報告書. 2011.
- 6) Takenouchi T, Iwata O, Nabetani M, Tamura M. Therapeutic hypothermia for neonatal encephalopathy : JSPNM & MHLW Japan Working Group Practice Guidelines Consensus Statement from the Working Group on Therapeutic Hypothermia for Neonatal Encephalopathy, Ministry of Health, Labor and Welfare (MHLW), Japan, and Japan Society for Perinatal and Neonatal Medicine (JSPNM). *Brain Dev.* 2011/ 9 /17.
- 7) Meier C, Middelani J, Wasielewski B, Neuhoﬀ S, Roth-Haerer A, Gantert M, et al. Spastic paresis after perinatal brain damage in rats is reduced by human cord blood mononuclear cells. *Pediatr Res* 2006 ; 59 : 244-249.
- 8) Pimentel-Coelho PM, Magalhaes ES, Lopes LM, deAzevedo LC, Santiago MF, Mendez-Otero R. Human cord blood transplantation in a neonatal rat model of hypoxic-ischemic brain damage : functional outcome related to neuroprotection in the striatum. *Stem Cells Dev* 2010 ; 19 : 351-358.
- 9) Yasuhara T, Hara K, Maki M, Xu L, Yu G, Ali MM, et al. Mannitol facilitates neurotrophic factor up-regulation and behavioural recovery in neonatal hypoxic-ischaemic rats with human umbilical cord blood grafts. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2010 ; 14 : 914-921.
- 10) Geissler M, Dinse HR, Neuhoﬀ S, Kreikemeier K, Meier C. Human umbilical cord blood cells restore brain damage induced changes in rat somatosensory cortex. *PLoS One* 2011 ; 6 : e20194.
- 11) Rosenkranz K, Meier C. Umbilical cord blood cell transplantation after brain ischemia — From recovery of function to cellular mechanisms. *Annals of Anat* 2011 ; 193 : 371-379.
- 12) Bennet L, Tan S, Van den Heuvel L, Derrick M, Groenendaal F, van Bel F, et al. Cell therapy for neonatal hypoxia-ischemia and cerebral palsy. *Ann Neurol* 2012 ; 71 : 589-600.
- 13) Cotten CM, Murtha AP, Goldberg RN, Grotegut CA, Smith PB, Goldstein RF, Fisher KA, Gustafson KE, Waters-Pick B, Swamy GK, Rattray B, Tan S, Kurtzberg J. Feasibility of autologous cord blood cells for infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr* 2014 May ; 164 (5) : 973-979.