

原著

助産所における臍帯血採取の取組み

千葉貴子 大森厚子 高橋賢次 柏倉幾郎

抄録 全ての血球の源となる造血幹細胞を豊富に含む臍帯血は、幹細胞研究、再生医療研究さらには臍帯血移植へとその応用が進み、今や単なる医療廃棄物ではなく、社会の多様な需要の中でその重要性は益々高まっている。本研究では、造血幹細胞の基礎医学研究に資した臍帯血採取を実施した単一助産所における過去10年間の取組みから、助産所の臍帯血採取施設としての可能性の可否を含め、その内容を検討した。研究には、1998年から2007年の単胎正期産児を経産分娩した585名を対象とした。その結果、助産所出産の母子の概要は、国内における平均的な出産と大差なかった。平均臍帯血採取量は54.2 gであり、重回帰分析の結果、胎盤重量、胎盤体積、出生体重、羊水混濁及び臍帯の長さとの間に採臍帯血量との間に関連が見られ、これまでの報告と一致した。以上の結果から、助産所においても安全かつ確実に臍帯血採取が行えることが実証された。

弘前医学 60 : 12—17, 2009

キーワード：助産所；分娩；臍帯血；胎盤；造血幹細胞。

ORIGINAL ARTICLE

COLLECTION OF PLACENTAL/UMBILICAL CORD BLOOD AT A BIRTH CENTER

Takako Chiba, Atsuko Omori, Kenji Takahashi, and Ikuo Kashiwakura

Abstract Placental/umbilical cord blood (CB) containing hematopoietic stem cells are increasingly used in basic medical research, regenerative research and hematopoietic stem cell transplantation. CB is no longer considered a biological waste product, and its importance is increasing. Over the past decade, we have investigated various aspects of hematopoiesis using CD34+ cells obtained from CB which were collected at a single birth center. The purpose of this study is to examine the possibility of conducting CB collection at birth centers, while also describing the challenges of CB collection at birth centers. A total of 470 CB units obtained from single-birth and normal vaginal deliveries were analyzed. The outline of mothers and babies was closely similar to the domestic average birth. The mean net weight of the CB collected was 54.2 g. According to a multivariate regression analysis, the placental weight, placental volume, neonatal weight, the presence of meconium in the amniotic fluid and cord length all had a significant effect on the net weight CB. These results are consistent with the findings of most previous reports. The present study demonstrates that such birth centers can both safely and effectively collect CB.

Hirosaki Med. J. 60 : 12—17, 2009

Key words: birth center; delivery; umbilical cord blood; placenta; hematopoietic stem cells.

Hirosaki University Graduate School of Health Sciences

Correspondence: I. Kashiwakura

Received for publication, May 14, 2008

Accepted for publication, October 29, 2008

弘前大学大学院保健学研究科

別刷請求先：柏倉幾郎

平成20年5月14日受付

平成20年10月29日受理

I. 緒 言

胎盤と臍帯に含まれ、胎児の末梢血である臍帯血は、骨髄と同様に白血球や赤血球など全ての血球の源となる造血幹細胞を豊富に含んでいる¹⁾。その特質を生かし、造血幹細胞移植への応用を図る目的で、世界各国に臍帯血バンクが設立され、臍帯血採取、分離、品質管理、保存及び供給体制が整備され、白血病や先天性免疫不全症等の疾患に対する根治治療法として広く利用されている^{2,3)}。一方、公的臍帯血バンクとは別に、欧米や韓国で開始された、本人や家族の将来の疾病リスクに備えたプライベートバンクも日本国内に設立され、年々利用者数が増加している。また、臍帯血には造血幹細胞と共に間葉系幹細胞などの生体幹細胞が含まれており、それらを用いた細胞治療や再生医療研究も進められ⁴⁻⁷⁾、さらに現在では研究用臍帯血の供給も開始されている。このように、臍帯血は単なる医療廃棄物ではなくなり、多様な社会の需要の中、臍帯血の重要性は益々高まって来ている。しかしながら、臍帯血は主に人口100万人以上の大都市に位置する臍帯血バンク関連医療施設で採取されており、地方都市の医療機関とりわけ助産所における臍帯血採取の取組みに関する報告はほとんど為されていない。よって、少子化が急速に進む中で、助産所や助産師の臍帯血採取への貢献の可能性について検討することは極めて重要である。

著者らはこれまで、臍帯血造血幹・前駆細胞を用いて、主に巨核球・血小板造血機構の放射線感受性とサイトカインの作用及び造血制御因子の探索に関する基礎研究を行ってきた⁸⁻¹²⁾。これらの過程で扱った臍帯血は700例を超えるが、そのうちの600例近くは、隣接地域の単一助産所の協力を依り採取された。本研究では、著者らがこれまでの基礎研究に用いてきた臍帯血の中でも、最も多くの臍帯血を採取した隣接地域の助産所の過去10年間の取組みから、助産所の臍帯血採取施設としての可能性の可否を含め、その内容を検討した。

II. 研究方法

1. 対象

妊娠期間中、妊娠高血圧症候群や糖尿病などの

合併症がなく、助産所（福土助産所、青森県五所川原市）において単胎正期産児を経膣分娩した585名を対象とした。対象者は研究の趣旨を説明し、同意が得られた者とした。

2. 期間

1998年8月～2007年9月末

3. インフォームドコンセント

分娩前に臍帯血採取の承諾のため、臍帯血や採取後の用途について概説した資料を用いて臍帯血の説明や採取に伴う説明を行った。

インフォームドコンセントを行った後、臍帯血採取に関する同意書に署名捺印をお願いした。

4. 倫理的配慮

臍帯血採取に関しては、弘前大学医学部倫理委員会から「臍帯血由来造血幹細胞の分化・増殖ならびに制御因子に関する研究」という研究テーマで承認を得ている。それに基づき、提供頂いた臍帯血や得られたデータは研究目的以外に使用しないこと、提供者個人のプライバシーに関する研究は一切せず、提供者のプライバシーを保護することについて文書および口頭で説明を行った。また提供された臍帯血並びに分離された細胞等は、一切を保存することなく実験終了後医療廃棄物として処理する旨を文書に明記し、説明した。

5. 臍帯血採取及び細胞分離方法

臍帯血採取は東京臍帯血バンクのガイドライン¹³⁾に基づき行った。抗凝固剤 citrate-phosphate-dextrose 液入りの採血バッグ（CBC-20、ニプロ、大阪）を用いて、胎盤娩出後に臍帯から採取した。

採取された臍帯血は、研究室に移送し、24時間以内の臍帯血から有核細胞と造血幹細胞であるCD34陽性細胞を分離精製し、各種基礎研究に用いた。

6. 解析項目

臍帯血のデータと共に、妊娠・分娩に関連する母子のデータ解析を行った。解析した項目は助産録の項目に基づいた以下の通りである。1. 年齢、2. BMI、3. 体重増加量、4. 産科歴、5. 喫煙の有

表 1. 臍帯血採取母子の概要

事 項	数 値
母親の年齢 (歳)	26.6 ± 4.5
父親の年齢 (歳)	28.9 ± 5.6
初産経産 (%)	初産婦 38.5 経産婦 61.5
身長 (cm)	158.7 ± 5.6
BMI	21.2 ± 3.3
分娩時週数	39.4 ± 1.2
分娩所要時間 (分)	362.9 ± 251.9
出生体重 (g)	3215.1 ± 367.9
出生時身長 (cm)	49.7 ± 1.8
アプガースコア (1分後)	9.7 ± 0.5
胎盤重量 (g)	516.0 ± 87.1
臍帯の長さ (cm)	59.8 ± 13.4
臍帯血採取量 (g)	54.2 ± 21.9

各数値は平均値 ± 標準偏差を示す n = 470

表 2. 臍帯血採取量にかかわる因子 (重回帰分析)

独立変数	標準回帰係数 (β)
胎盤重量	0.295 ***
胎盤体積	-0.183 **
出生体重	0.219 ***
羊水混濁	-0.117 **
臍帯長	0.09 *

調整済み R² = 0.163
* p < 0.05
** p < 0.01
*** p < 0.001

無と本数, 6. 夫の年齢, 7. 夫の喫煙の有無と本数, 8. 妊娠経過 (初診週数, 子宮底・腹囲の増加, 血圧), 9. ヘモグロビン値, 10. 分娩経過 (分娩時週数, 分娩所要時間, 総出血量), 11. 新生児 (性別, アプガースコア, 出生体重, 身長, 頭囲, 胸囲), 12. 付属物 (胎盤重量, 胎盤の大きさ, 白色梗塞や石灰沈着の有無, 臍帯の長さ, 羊水混濁)

7. 統計処理

データ解析は変数の分布に応じて, Student's *t* 検定, Mann-Whitney 検定, Kruskal-Wallis 検定, 相関関係については Pearson's 相関係数検定を用いて検討した. 統計学的処理には SPSS12.0 J for Windows を使用し, 危険率 5%未満を有意水準とした.

Ⅲ. 結 果

1998年8月から2007年9月末までに, 本研究の趣旨に同意し採取した臍帯血は585例に達し

た. そのうち個人データに欠損値のない470例を分析対象とした.

1. 臍帯血採取母子の概要

臍帯血採取母子の概要を表1にまとめた. 母親の年齢は26.6 ± 4.5 (M ± SD) 歳で, このうち初産婦181名(38.5%)及び経産婦289名(61.5%)であった. 夫の年齢は28.9 ± 5.6歳であった. 平均分娩時週数は39.4 ± 1.2週, 分娩所要時間は362.9 ± 251.9分で初産婦517.1 ± 274.6分, 経産婦266.3 ± 178.6分であった. 新生児の出生体重は3215.1 ± 367.9 g, 身長49.7 ± 1.8 cm, 頭囲33.3 ± 1.3 cm, 胸囲31.7 ± 1.7 cm, アプガースコアは9.7 ± 0.5点であり, 胎盤重量は516.0 ± 87.1 g, 臍帯の長さ59.8 ± 13.4 cmであった. 得られた臍帯血の採取量は54.2 ± 21.9 gであった.

2. 臍帯血採取量と母親及び新生児因子との関連性

臍帯血採取量と対応する母子との関連性について検討する目的で, 重回帰分析を行った. その結果表2に示すように, 臍帯血採取量と関連した変数は, 胎盤重量, 胎盤体積, 出生体重, 羊水混濁及び臍帯長であった. このとき胎盤重量 (図1-A), 出生体重 (図1-B) と臍帯血採取量との間にそれぞれ有意な相関が認められた. 一方, 児の性別, 初・経産別, 年齢, 分娩回数, 分娩所要時間は臍帯血量に影響を与えなかった.

3. 母子間の関連性

初産婦と経産婦を比較検討してみると, BMI (図2-A) 及び出生体重 (図2-B) においては経産婦の方が有意に高く, 妊娠中の体重増加量 (図2-C) においては初産婦の方が有意に高かった. しかし, 胎盤重量や臍帯の長さには有意差はみられなかった. また, 前期破水ありとなしのグループを比較してみると, 前期破水ありの方が有意に母親の年齢が高い結果となった (p < 0.01). 児の性別では, 出生時身長 (図3-A) 及び頭囲 (図3-B) において男児が女児よりも有意に大きく, 臍帯 (図3-C) も有意に長かった.

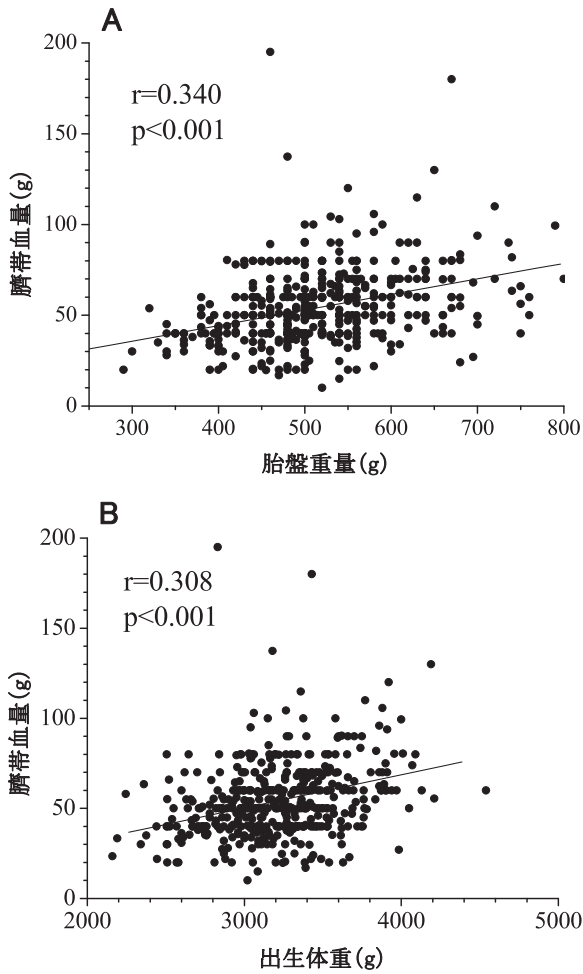


図1. 胎盤重量と臍帯血量及び出生体重と臍帯血量の相関性。
n = 470.

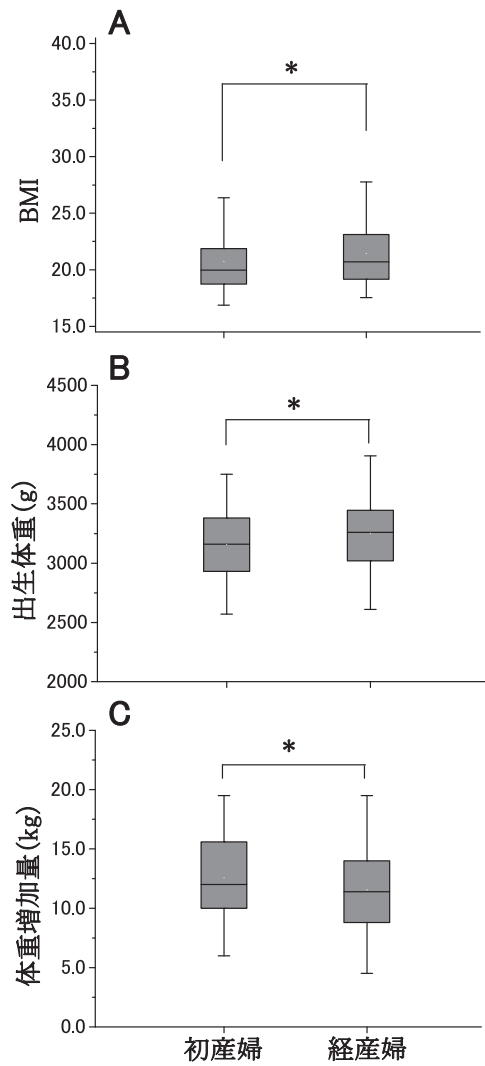


図2. 初産婦と経産婦によるBMI, 出生体重及び妊娠期の体重増加量の比較。
* $p<0.05$.

IV. 考 察

本研究対象となった助産所の出産における母子の概要に関しては(表1), 国内の母子保健に関するデータや正常値¹⁴⁻¹⁶⁾とほぼ一致し, 出産年齢が若干低く, 地方都市の特徴が示された。また, 初産婦と経産婦におけるBMI, 出生体重及び妊娠中の体重増加量における差(図2), さらに男児と女児による出生時身長, 出生時頭囲及び臍帯の長さにおける差(図3)についても既報¹⁵⁾とほぼ同様の結果を示し, 日本における平均的な出産である事が示された。重回帰分析の結果, 臍帯血量と関連が見られた因子は, 胎盤重量, 胎盤体積, 出生体重, 羊水混濁及び臍帯の長さであり(表2, 図1), これまでの幾つかの報告と一致し

た¹⁷⁻²⁰⁾。本研究で得られた平均臍帯血採取量は54.2 gであり, これまでの国内施設における経膈分娩の平均採取量が約60 mlであることから²¹⁾, ほぼ同等の採取量であった。しかしながら, 小川らの研究によると, 採取量60 ml未満での保存率は0~16.9%, 細胞数最低基準達成率は0~26.2%とともに低く, 60 ml以上での保存率は41.6~50.0%, 細胞数最低基準達成率は61.7~100%と高率となっている。また, 2007年4月に改定された細胞保存基準 8×10^8 個を満たすためには, 61.1 mlの採取が必要と予測している²²⁾。当該助産所スタッフは臍帯血採取に関する専門のトレーニングは受けておらず, 今後助産所での臍帯血採取の

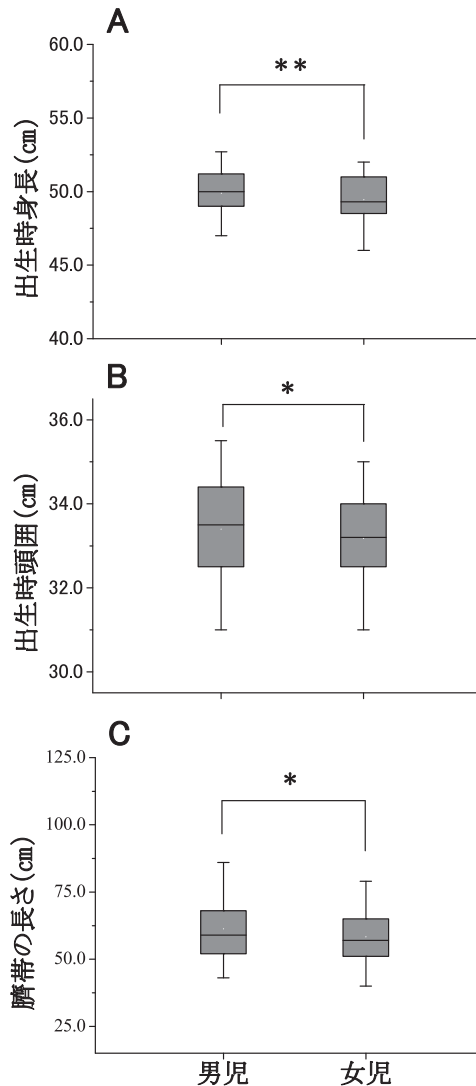


図3. 男児と女児による出生時身長, 出生時頭囲及び臍帯の長さの比較.
* $p<0.05$, ** $p<0.01$.

必要が生じた場合には, 採取に関する知識や技術の取得により十分臍帯血採取量の増加が期待できると考える。

臍帯血採取には, 母親の同意と共に同居家族の理解が重要であるが, 当該助産所における臍帯血採取において, インフォームドコンセントが得られなかった例は1例もなく, 全員が採取に協力的であった事は特筆すべき点と言える。少子高齢化が進み, 分娩そのものが貴重となり, 分娩がイベントと化している現在, 夫や家族の立会い分娩が多い中で, 臍帯血を採取することが憚られる場合もある。そのような中, 全例において臍帯血採取

が出来たことは, 本施設がそれまで30年に渡って助産活動を行っていた地域での信頼が, 大きく関与していることは否めない。地域に密着し, 妊娠期より妊婦やその家族との信頼関係を築いていく助産所の特徴とも言える。この事は, 分娩時に臍帯血採取に同意を求めるのではなく, 妊娠期より妊婦と良い信頼関係を構築する事の大切さを示しているとも言え, 臍帯血の有効利用を促進する上でも, 助産師の果たす役割は大きいと言える。また, 助産所における分娩は, 母子ともに順調な経過を伴うローリスク分娩例が多いため, 胎盤の状態も良好であることから, 助産所は臍帯血採取に適していることが示唆される。

1999年に「日本さい帯血バンクネットワーク」が設立されて以来, 現在では全国11ヶ所にバンクが活動している。しかしながら, 臍帯血採取病院は限られており, 小川らの研究によると, 臍帯血採取病院での出産を希望した妊婦や, 臍帯血採取を希望していたが, 出産病院が採取病院ではなかったという意見もあり, 臍帯血採取病院の増加を多くの妊婦(59%)が希望している²²⁾。本研究の結果, 助産所においても安全かつ十分な臍帯血採取が可能であることが明らかとなったことから, こうした妊婦の要望も含めた社会の多様な需要に応えられる体制も, とりわけ地方都市では将来的に増加していく可能性が考えられる。

V. 結 語

本研究により, 助産所においても安全かつ確実に臍帯血採取が行えることが実証された。

謝 辞

本研究に於いて, 臍帯血の採取・供与にご協力頂きました五所川原市富士助産所 富士千恵子先生ならびに富士レイ子先生に感謝申し上げます。また, 臍帯血採取・提供に快く同意をして頂きました全ての妊産婦の方々に感謝申し上げます。

文 献

- 1) Nakahata T, Ogawa M. Hemopoietic colony-forming cells in umbilical cord blood with extensive capability to generate mono- and multipotential hemopoietic progenitors. *J Clin Invest* 1982;70: 1324-1328.

- 2) Tse W, Laughlin MJ. Umbilical cord blood transplantation: a new alternative option. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2005;377-383.
- 3) Goldman JM, Schmitz N, Niethammer D & Gratwohl A. Allogeneic and autologous transplantation for hematological diseases, solid tumors and immune disorders: Current practice in Europe in 1998. Accreditation Sub-Committee of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998;21:1-7.
- 4) Ma N, Stamm C, Kaminski A, Li W, Kleine HD, Muller-Hilke B, Zhang L, *et al.* Human cord blood cells induce angiogenesis following myocardial infarction in NOD/scid-mice. *Cardiovasc Res* 2005;66:45-54.
- 5) Pozzi S, Lisini D, Podesta M, Bernardo ME, Sessarego N, Piaggio G, Cometa A, *et al.* Donor multipotent mesenchymal stromal cells may engraft in pediatric patients given either cord blood or bone marrow transplantation. *Exp Hematol* 2006;34:934-942.
- 6) Cetrulo CL Jr. Cord-blood mesenchymal stem cells and tissue engineering. *Stem Cell Rev* 2006;2:163-168.
- 7) Bobis S, Jarocha D, Majka M. Mesenchymal stem cells: characteristics and clinical applications. *Folia Histochem Cytobiol* 2006;44:215-230.
- 8) Kashiwakura I, Kuwabara M, Inanami O, Murakami M, Hayase Y, Takahashi TA & Takagi Y. Radiation sensitivity of megakaryocyte colony-forming cells in human placental and umbilical cord blood. *Radiat Res* 2000; 153:144-152.
- 9) Kashiwakura I, Inanami O, Takahashi K, Takahashi TA, Kuwabara M & Takagi Y. Protective effects of thrombopoietin and stem cell factor on X-irradiated CD34⁺ megakaryocytic progenitor cells from human placental and umbilical cord blood. *Radiat Res* 2003;160:210-216.
- 10) Kashiwakura I and Takahashi TA. Basic fibroblast growth factor-stimulated ex vivo expansion of hematopoietic progenitor cells from human placental and umbilical cord blood. *Brit J Haematol* 2003;122:479-488.
- 11) Kashiwakura I, Inanami O, Abe Y, Satoh K, Takahashi TA & Kuwabara M. Regeneration of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis in vitro from X-irradiated human hematopoietic stem cells. *Radiat Res* 2006;166:345-351.
- 12) Takahashi K, Monzen S, Eguchi-Kasai K, Abe Y, Kashiwakura I. Severe damage of human megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by heavy-ion beam radiation. *Radiat Res* 2007;168:545-551.
- 13) 平成8年度厚生省骨髄移植調査研究事業B班班長 浅野茂隆. 臍帯血プロセッシングと移植の適応に関する自主ガイドライン (平成9年5月).
- 14) 財団法人母子衛生研究会編. 母子保健の主なる統計. 平成19年度刊行. 母子保健事業団 (平成20年3月).
- 15) 仁志田博司著. 新生児学入門. 3版. 東京:医学書院; 2004.
- 16) 我部山キヨ子編. 助産学講座7. 4版. 東京:医学書院; 2007.
- 17) KK Ballen, M Wilson, J Wu, AM Ceredona, C Hsieh, FM Stewart, MA Popovsky, *et al.* Bigger is better: maternal and neonatal predictors of hematopoietic potential of umbilical cord blood units. *Bone Marrow Transplant* 2001;27:7-14.
- 18) Ryuji Nakagawa, Tsutomu Watanabe, Yoshifumi Kawano, Sachiyo Kanai, Hiroko Suzuya, Michiya Kaneko, Hiroyoshi Watanabe, *et al.* Analysis of maternal and neonatal factors that influence the nucleated and CD34⁺ cell yield for cord blood banking. *Transfusion* 2004;44:262-267.
- 19) Sabeen Askari, John Miller, Gayl Chrysler, Jeffrey McCullough. Impact of donor-and collection-related variables on product quality in ex utero cord blood banking. *Transfusion* 2005;45:189-194.
- 20) Mancinelli F, Tamburini A, Spagnoli A, Malerba C, Suppo G, Lasorella R, Fabritiis P, *et al.* Optimizing umbilical cord blood collection: impact of obstetric factors versus quality of cord blood units. *Transplant Proc* 2006;38:1174-1176.
- 21) 第48回日本母性衛生学会 ランチョンセミナー. 臍帯血～大いなる力と未来への挑戦～ (つくば国際会議場, 2007年10月).
- 22) 小川達博, 高取明正, 洲脇尚子, 石田 理. 当科における臍帯血採取の現状と課題. 広島医学. 2008;61(3):190-193.