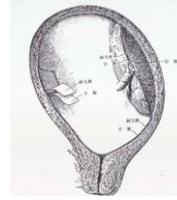


羊膜移植講習会

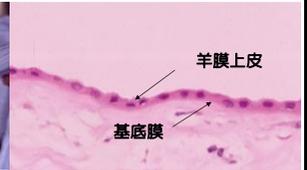
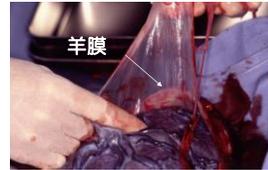
羊膜の採取、処理、保存

外園千恵
(京都府立医大 組織バンク)

羊膜 amniotic membrane

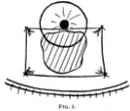


- 弾力性
- 伸縮性
- 生体適合性



羊膜移植の歴史

1940年 化学外傷による eyeball 癒着に羊膜移植
(de Rothら Arch Ophthalmol)



1950年 皮膚の難治性潰瘍
(Hansenら、Lancet)

1980年 皮膚の難治性潰瘍 (Falkら、Lancet)

1995年 眼表面疾患に羊膜移植を実施
(Tsegrら、Cornea)

【羊膜の取扱い】

羊膜は臓器移植法の対象外であり、組織提供や組織移植についてのガイドラインを日本組織移植学会が定めている

- H20(2008) 日本角膜学会 「羊膜取扱いガイドライン」
- H20(2008) 日本組織移植学会が羊膜(卵膜)を組織として承認
- H22(2010) 京都府立医科大学に組織バンクを設置
日本組織移植学会ガイドラインを順守
- H23(2011) 日本組織移植学会の認定バンクとなった
- H26(2014) 日本角膜学会 「羊膜取扱いガイドライン」を改定

臓器移植法

- 平成9年10月16日に施行
「臓器の移植に関する法律」

脳死後に提供できる臓器

- 心臓・肺・肝臓
- 腎臓・膵臓
- 小腸・眼球

心臓が停止した死後に提供できる臓器

- 腎臓
- 膵臓
- 眼球

組織移植

- 組織については法律の対象外
- 皮膚、血管、心臓弁、骨・靭帯、膵島、羊膜等の採取、保存について学会が規定

Since 2001.10.27

日本組織移植学会

Japanese Society of Tissue Transplantation



World Health Organization

HTH/ERT/CP/102

**AIDE-MÉMOIRE ON
KEY SAFETY REQUIREMENTS
FOR ESSENTIAL MINIMALLY PROCESSED
HUMAN CELLS AND TISSUES FOR TRANSPLANTATION**

- Frozen Bone and Tendon
- Freeze-dried Bone
- Human skin
- Human Amniotic Membrane
- Cryopreserved Cardiac Valve
- Human Cornea
- Fresh Haematopoietic Stem Cells (unrelated, bone marrow and peripheral blood)
- Cryopreserved cord blood stem cells (unrelated).

Product	
Human amniotic membrane	
Full Product Description	
Human amniotic membrane retrieved from a live donor and stored cool without processing, frozen with cell viability preserved (cryopreserved), frozen in a glycerol solution without cell viability or dried, with or without terminal sterilization	
Donor history	Donor Testing
In addition to the cross-cutting guidelines, the following exclusions will apply:	No additional product specific guidelines
<ul style="list-style-type: none"> • Any complications during the monitoring of the pregnancy which might compromise the tissue quality or safety 	
Processing	Storage, packaging and labelling
In addition to the cross-cutting guidelines, the following will apply:	Labelled with an expiry date of 2 years after donation for glycerolised tissue, for 5 years if the tissue or cells are cryopreserved and for 14 days for tissue that has not been subjected to a specific preservation process.
<ul style="list-style-type: none"> • Recovered from the placenta in aseptic conditions following caesarian section (or clean conditions following vaginal delivery or caesarian section if terminally sterilized) following thorough cleansing of donor site 	Stored at an appropriate temperature, as validated.
If cryopreserved:	
Records available to confirm addition of cryoprotectant and freezing using a validated protocol compatible with the maintenance of	

組織移植学会ガイドライン

- ヒト組織を利用する医療行為の倫理的問題に関するガイドライン
- ヒト組織を利用する医療行為の安全性確保・保存・使用に関するガイドライン

対象とするのは、心停止後に採取される脾臓、心臓弁、大血管・末梢血管、皮膚、骨・靭帯、網膜、羊膜（卵膜）等である。生体より採取される皮膚や骨、羊膜（卵膜）も含まれる。

ヒト組織を利用する医療行為の倫理的問題に関するガイドライン

遵守すべき基本原則

- A. ヒト組織の提供に係る任意性の確保
- B. ヒト組織の採取及び移植の際の十分な説明と同意（インフォームドコンセント）
- C. ヒト組織の提供の社会性・公平性及びドナーの尊厳の確保
- D. 無償の提供
- E. 提供されるヒト組織に係る安全性及び移植の有用性の確保
- F. 個人情報の確保
- G. 情報公開

羊膜の取り扱い

1. 羊膜の採取
2. 羊膜の処理
3. 羊膜の保存

羊膜取扱いガイドライン（2014）

倫理面および安全性、透明性、追認性

羊膜取扱いガイドライン（2014）

遵守すべき基本原則

- ① ヒト羊膜の提供に係る任意性の確保
- ② ヒト羊膜の採取及び移植の際の十分な説明と同意（インフォームドコンセント）
- ③ ヒト羊膜の提供の社会性・公平性及びドナーの尊厳の確保
- ④ ヒト羊膜の対価なしでの提供
- ⑤ 提供されるヒト羊膜に係る安全性の確保
- ⑥ 提供されるヒト羊膜に係る品質保持、規格設定
- ⑦ 個人情報の秘匿の確保と連結可能性の保持
- ⑧ 情報公開と透明性の確保
- ⑨ 業務従事者における規制関連情報の共有とその教育
- ⑩ ヒト羊膜利用に関わる全ての手続き・作業に関する標準業務手順書（SOP）の作成と遵守

倫理面および安全性、透明性、追認性

羊膜の取り扱い

1. 羊膜の採取
2. 羊膜の処理
3. 羊膜の保存

倫理面および安全性、透明性、追認性

ヒト組織を利用する医療行為の倫理的問題に関するガイドライン

組織の採取における説明と同意

- 説明を受ける側の立場に十分に配慮
 - 採取前に、予め当該ヒト組織の提供についてドナー・家族から自由意思に基づいた同意を書面にて得る
- ドナー側の任意性の確保
 - 同意を拒否する権利があること及び拒否することによりドナー側が不利益を受けないことを明確に説明
- 説明に係る中立性
 - 組織移植コーディネーター等の組織バンクに所属する者が説明を行う

羊膜取扱いガイドライン (2014)

羊膜移植医療における品質及び安全性確保

- 1) ドナー適応基準の明確化
- 2) 処理過程での汚染防止と適切な微生物クリアランス
- 3) 処理、使用の各段階での試験、検査などの実施
- 4) 妥当性の確認された方法による不活化
- 5) これらの記録の保存 (20年間)

羊膜取扱いガイドライン (2014)

ドナー適格性基準

帝王切開が予定されている妊婦
眼球提供と共通の除外項目の他、以下を除く

- 多胎妊娠
- 羊水混濁 (染色体異常を含む)
- 輸血、臓器移植、組織移植の既往

※ 新生児仮死、破水、新生児の外表面奇形等の際は採取を行わない

羊膜取扱いガイドライン (2014)

ドナー適格性基準

適格性検査は採取予定日から3ヶ月以内に実施

- 1) 感染症検査
 - B型肝炎 (HBV)、HBs抗原陽性
 - C型肝炎 (HCV)、HCV抗原陽性、HCV抗体陽性、
或いはHCV・RNA定性陽性
 - ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染症
 - 成人T細胞白血病 (ATL)、HTLV-1抗体 (HTLV) 陽性
 - 梅毒

羊膜取扱いガイドライン (2014)

問診

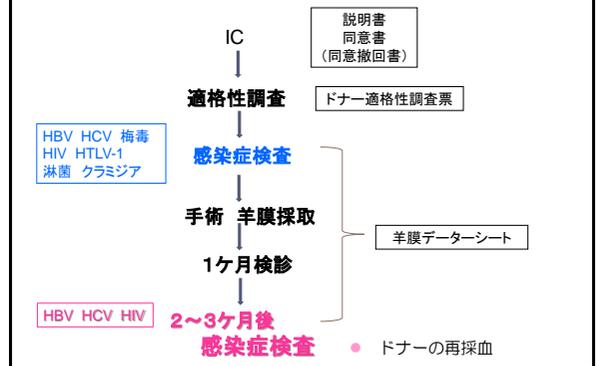
- パルボウイルスB19感染症の疑い
- 西 (ウエスト) ナイルウイルス感染症の疑い
- 新型肺炎SARS (重症急性呼吸器症候群) 感染症の疑い
 - 疑われたら検査
- クロイツフェルト・ヤコブ病 (変異型を含む) とその疑い
- 狂犬病

羊膜取扱いガイドライン (2014)

WPを考慮した感染症検査

ウイルス	検査法	WP
HBV	HBs Ag	約59日
HBV	NAT(HBV DNA)	約34日
HCV	HCV Ab	約82日
HCV	NAT(HCV RNA)	約23日
HIV	HIV1,2 Ab	約22日
HIV	NAT(HIV RNA)	約11日

羊膜採取フロー



羊膜の取り扱い

1. 羊膜の採取
2. 羊膜の処理
3. 羊膜の保存

倫理面および安全性、透明性、追認性

京都市立医大 組織バンク

未処置羊膜の細切加工

未処置羊膜の絨毛膜剥離

1) 微生物学的安全性試験用「採取時」試料の採取

未処置羊膜を室温で解凍した後、ステンレスパットに移し、端の部分から約3cm×3cmを手術用メスで採取し、ゲンタマイシン無添加羊膜保存液1 mLを入れた2 mL容量の外ねじバイアルチューブに入れて密栓する。管理番号と「採取時」を表示したラベルを貼付する。

2) 未処置羊膜の洗浄および絨毛膜剥離

ステンレスパットに生理食塩液約250 mLを加え、絨毛膜側を上面にし、指先で羊膜を均一に広げ、表面を撫でるようにして絨毛膜及び付着血液を除去する。除去後、生理食塩液を取り除き、これに新たに生理食塩液約250 mLを加える。付着した血液および絨毛膜を完全に取り除くことができるまで、この操作を2~4回繰り返す。

絨毛膜剥離羊膜の細切加工

指先の触感及び目視観察にて血管跡、微孔が無く、凹凸が少ない領域の羊膜を手術用メスで約3cm×3cmに裁断する

京都市立医大 組織バンク

未処置羊膜の細切加工

細切加工羊膜の外観検査

裁断した羊膜を1枚ずつゲンタマイシン添加リン酸緩衝生理食塩液(PBS(-)) 30 mLを入れた100 mm径のペトリディッシュに移し、肉眼にて外観検査を行い、以下の規格に適合しているものを細切加工ヒト羊膜とし、不適合のものを学内規則に従って廃棄する

検査部位	検査項目	規格
上皮側	血管跡、微孔の有無	血管跡・微孔が無いこと
	繊維状組織の有無	繊維状組織が無いこと
絨毛膜側	血管跡、微孔の有無	血管跡・微孔が無いこと

京都市立医大 組織バンク

未処置羊膜の細切加工

細切加工ヒト羊膜の洗浄

- 細切加工ヒト羊膜をゲンタマイシン添加PBS30mLを入れた50 mL 遠心チューブに移して洗浄する。さらに、これらの羊膜をゲンタマイシン添加羊膜保存液30 mLを入れた50 mL 遠心チューブに移し、洗浄する。

細切加工ヒト羊膜の充填

- 羊膜保存液で洗浄した細切加工ヒト羊膜をゲンタマイシン添加羊膜保存液1 mLを入れた2 mL容量の外ねじバイアルチューブに1枚ずつ入れて密栓する。

京都府立医大 組織バンク

微生物学的安全性試験

- ・ 無菌テスト：一般細菌・真菌（嫌気性菌、淋菌、*Lactobacillus* sp.、*Bifidobacterium* sp.、*Gardnerella vaginalis*を含む）
- ・ クラミジア トラコマチス核酸増幅同定
- ・ アデノウイルス核酸増幅同定
- ・ 単純ヘルペスウイルス核酸増幅同定

必要により実施

- ・ マイコプラズマ否定試験、パルボウイルスB19、サイトメガロウイルス、EBウイルス

京都府立医大 組織バンク

細切加工ながれ

（原料羊膜のサイズが20×20cm以上であることの確認）

原料羊膜を広げ、手術用メスにて3×3cm1枚を裁断 ⇒ 採取時検体

1. 絨毛膜、付着血液の除去
2. 3×3cmに裁断
3. 実体顕微鏡による外観検査

検査部位	検査項目	規格
上皮側	血管跡、微孔の有無	血管跡、微孔が無い
絨毛膜側	繊維状組織の有無	繊維状組織が無い
	血管跡、微孔の有無	血管跡、微孔が無い

4. 洗浄(GM加PBS(-)) ⇒ 外観検査(液に着色がない)、洗浄(羊膜保存液)
5. 充填(羊膜保存液)
6. 外観検査(異物の混入がない)
7. ラベル貼付、包装 ⇒ 保存前検体

羊膜の取り扱い

1. 羊膜の採取
2. 羊膜の処理
3. 羊膜の保存

倫理面および安全性、透明性、追認性

羊膜取扱いガイドライン(2014)

細切加工ヒト羊膜の保存

- ・ 細切加工ヒト羊膜は-80℃以下の臨床用に準備した冷凍庫内に保存する。
- ・ 羊膜にはロット番号を付し、ドナー羊膜と資料した患者情報が連結できるようにし、文書保管する。
- ・ 羊膜保存は採取から2年以内とし、ウィンドウペリオドを考慮した採血結果の後に使用する。

羊膜取扱いガイドライン(2014)

羊膜提供の基準

- ① 公正に提供。移植の機会の公平性を保つ。
- ② ドナー適格性検査等について情報提供。
- ③ 羊膜幹旋機関においては、羊膜の移植施設への供給に係る記録を保存・管理し、ドナー、レシピエントの記録について必要に応じて確認できる体制を整備。また、各記録を保存する期間は最低20年間。
- ④ 羊膜を移植に用いる際には、レシピエント側の書面による同意を得ること。担当医師により羊膜の移植に係る潜在的危険性を含めた安全性、移植の有用性等についてレシピエント側に十分説明すること。
- ⑤ 移植施設において羊膜を移植に用いた場合には、診療録等に提供を受けた羊膜幹旋機関名、当該機関より設定されている提供された羊膜の識別番号等を記録し、必要に応じて情報管理者を置き、その下で溯及調査及び追跡調査を行うことが可能となるような体制を整備すること。
- ⑥ 羊膜幹旋機関及び移植施設においては、情報を厳格に管理し、それらの情報が漏洩することがあってならない。

羊膜取扱いガイドライン(2014)

羊膜の廃棄

- ・ 感染のおそれのある感染性廃棄物としての取り扱い基準に従って廃棄すること。
- ・ 平成16年3月16日環境省通知環廃産発第040316001号「感染性廃棄物の適正処理について」に記載されている廃棄物処理法に基づく感染性廃棄物処理マニュアルに準拠した取扱いが望ましい。