

A 羊膜採取に関する標準手順書

平成 22 年 9 月 22 日 作成

平成 23 年 8 月 23 日 改訂

平成 28 年 5 月 10 日 改訂

1.0 目的

本標準手順書は、羊膜移植等臨床応用される羊膜の品質を確保すると共に、羊膜採取に同意した妊産婦及び胎児・新生児の安全を確保するために、京都府立医科大学の再生医療・細胞治療研究センターに付置する組織バンクが定める。

2.0 適用範囲

本標準手順書は、羊膜の採取、搬送および保管に係る作業に適用する。

3.0 羊膜の採取前提

3.1 羊膜採取前に必要な手続き

3.1.1 ヒト羊膜供給に関する契約の締結

組織バンクは、京都府立医科大学に対して、協力病院間で「ヒト羊膜供給に関する契約書」に基づいた締結を依頼する。（京都府立医科大学側の窓口は、研究支援課。）契約締結後は契約書の写しを組織バンク室に保管する。

協力病院の産科医師は、組織バンク長より任命され、組織摘出補助医として組織バンク員にならなくてはならない。また、組織バンクの摘出医の責任の下、標準手順書に準拠し採取を行う。

3.1.2 ドナーの選定

組織バンクは産科医師に依頼し、以下の条件を満たす妊婦の紹介を受ける。

- ・ 妊娠経過中の検査により、下記の感染症が否定されていること、キャリアでないことが確認されていること。
B型・C型肝炎、ヒト免疫不全症候群（A I D S）、成人T細胞性白血病、梅毒、クラミジア感染症、淋病
- ・ 妊娠経過に異常がなく、母児共に健康であること。
- ・ 帝王切開による分娩を予定している者であること。

3.1.2 ドナーの適格性の確認

組織バンクは、紹介を受けた妊婦に対して、「羊膜提供についての説明書」（様式A1）に基づいて説明を行い、羊膜の提供に同意を得たことを確認した上で、「羊膜提供の同意書」（書式A2）を整える。同意書の1枚はドナーに渡し、1枚は産科カルテと共に保管される。この際、同意の撤回によって何ら不利益を被ることがないこと、分娩までは撤回が可能であることを十分説明し、「同意撤回書」（様式A3）を渡さなければならない。また、産科担当医が問診、診断及び検査によ

って以下の全てを否定しており、適格性を有することを「ドナー適格性調査票」(様式 A 4)及び「羊膜データシート」(様式 A 5)にて確認する。

以下の項目は、術前 1 ヶ月以内の検査によって、感染を否定されていること。

B型肝炎 (HBV)、C型肝炎 (HCV)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染
ヒト T 細胞白血病 (HTLV-1)、梅毒、クラミジア、淋菌感染

以下の項目は、問診、診断、必要に応じて検査を行い、感染、現症、疑いあるいは既往が否定されていること。

結核感染、進行性の肺炎、重症急性呼吸器症候群

敗血症及びその疑いあるいは全身性感染症 (インフルエンザ感染症を含む)

悪性腫瘍ならびに白血病、悪性リンパ腫などの血液腫瘍 (既往を含む)

代謝・内分泌疾患、血液疾患 (原因が明らかに妊娠による一時的な代謝・内分泌異常症、低ヘモグロビン血症は除く)

膠原病等の自己免疫疾患

肝疾患 (ウイルス性肝炎、原因不明の黄疸や肝腫大等) の既往

臓器移植、組織移植の既往

輸血、血液製剤投与による治療、

在胎週数に比して胎児が明らかに低体重もしくは巨大児であることが、確認されている
多胎妊娠

羊水検査において胎児の染色体異常が認められている、もしくは、その疑い

痴呆症、クロイツフェルト・ヤコブ病 (変異型を含む) と、その疑い

具体的には、厚生労働省の指針に該当するかどうかで判断する。

- ・クロイツフェルト・ヤコブ病の症状である痴呆や原因不明の中樞神経症状を有する者
- ・血縁者にクロイツフェルト・ヤコブ病及び類縁疾患と診断された人がいる
- ・ヒト由来成長ホルモンの投与を受けたことがある
- ・角膜移植を受けたことがある
- ・硬膜移植を伴う脳外科手術を受けたことがある
- ・ヒト胎盤エキス (プラセンタ) の投与を受けたことがある
- ・以下の海外渡航歴 (対象国と滞在歴) に該当する

英国に 1980 年から 1996 年までに 1 ヶ月以上、1997 年から 2004 年までに 6 カ月以上滞在
アイルランド、イタリア、オランダ、スペイン、ドイツ、フランス、ベルギー、
ポルトガル、サウジアラビアに 1980 年から 2004 年までに 6 カ月以上滞在
スイスに 1980 年以降に 6 カ月以上滞在
オーストラリア、ギリシャ、スウェーデン、デンマーク、フィンランド、

ルクセンブルグに 1980 年から 2004 年までに 5 年間以上滞在
アイスランド、アルバニア、アンドラ、クロアチア、サンマリノ、スロバキア、
スロベニア、セルビア、モンテネグロ、チェコ、バチカン、ハンガリー、ブルガリア、
ポーランド、ボスニア・ヘルツェゴビナ、マケドニア、マルタ、モナコ、ノルウェー、
リヒテンシュタイン、ルーマニアに 1980 年以降 5 年以上滞在

パルボウイルス B19 感染症の疑い

西（ウェスト）ナイルウイルス感染症の疑い（4 か月以内の渡航歴がある）

サイトメガロウイルス感染症及びエプスタイン・バーウイルス感染症の疑い

重症急性呼吸器症候群（SARS）感染症の疑い

狂犬病ウイルス感染の疑い（過去 7 年以内の海外渡航歴があり、その際に哺乳動物による咬傷
の受傷歴がある）

その他妊娠に伴う合併症を有する、または、ジカ熱等羊膜の感染に関して危険性や疑いのある
妊婦（産婦人科担当医の見解を求め、これらを否定すること）

3.1.3 ドナーID の付与

羊膜提供病院は、ドナーの匿名化の為ドナーに対して個別のドナーID を付与し、この ID を以て
ドナー情報を管理する。ドナーの氏名とドナーID の対応表は、羊膜提供施設において厳重に管理
されなくてはならない。保存期間は提供病院の規約に準ずるが、可能ならば、延長して管理する。

ドナーID は、2 桁の数字による採取年（2015 年の場合は、15）、2 桁の数字による年内採取順、
または、採取同意を得た順（1 例目の場合は、01）によって構成される。

また、組織バンクが必要と判断した場合には、ID の初めに、3 文字からなる羊膜提供病院コード
を付けることもできる。

例：三菱京都病院にて、2015 年に採取された 1 例目のドナーID

M K T 15-01

3.2 羊膜の採取

3.2.1 必要な採取用器材

羊膜提供病院の産婦人科担当医より、予定帝王切開の手術日時の連絡を受けた採取医師、または、
採取医師から指示されたバンク員は、器材を確認する。

- ① 滅菌されたグローブ
- ② 生理食塩水 500m l
- ③ 清浄コンテナ 250m l の滅菌された広口円筒容器
- ④ 羊膜保存液 40m l 入り 125m l サイズ角型培地瓶

羊膜保存液：ダルベッコMEM培地とグリセリン（滅菌済み）の1：1（容量比）混合溶液
に、ゲンタマイシン硫酸塩濃度が5 μ g/ml になるようにゲンタマイシン溶液

を添加したもの。4℃にて保存する。

- ⑤ 滅菌された医療用袋
- ⑥ 清潔な布または容器（胎盤から羊膜を剥離する際に使用する）
- ⑦ 滅菌された鑷子またはピンセット
- ⑧ 滅菌されたクーパー

①～⑤は、バンク室にて用意される。物品の補充はNPO 法人 再生医療支援機構が行う。

①～⑤は、必要に応じて、羊膜提供病院へ届けられ、羊膜提供病院が保管することができる。

④は、バンク室クリーンベンチ内で調合の上、角型培地瓶に分注される。4℃バンク用薬品保存庫内で保管される。使用期限は、調合された培地の使用期限とする。

①～⑤は、適宜 Co. が羊膜提供病院へ運び、羊膜提供病院内の適切な場所で保管することもできる。

⑥～⑧は、病院の備品を用い、病院のマニュアルに従って滅菌されたものを使用する。

3.2.2 羊膜の採取

羊膜の採取は、採取医師が以下の手順に沿って、手術室内で行う。

① 試薬・器具の用意(手術室内)

生理食塩水、洗浄コンテナ、羊膜保存液入り角型培地瓶、滅菌済手袋、滅菌済袋、清潔な布（もしくは、ステンレス容器等）、滅菌済鑷子またはピンセットを、用意する。

生理食塩水 100m l を、洗浄用コンテナに入れる。

バックテーブルを清潔な布（ドレープ等）で覆う。ステンレス容器を用意する。

② 胎盤摘出、羊膜剥離

分娩後に摘出された胎盤を清潔な布（もしくは、ステンレス容器）の上に置く。

胎盤組織の摘出直後に羊膜を採取することが困難な場合は、胎盤組織に生理食塩水を適宜掛け、乾燥を防ぐ。

滅菌手袋を新たに装着し、用手的に羊膜組織を胎盤より剥離する。（用手的に羊膜を触りながら取掛かりを見つけ、そこから剥離していく。）

③ 羊膜洗浄

剥離した羊膜を生理食塩水の入った洗浄コンテナに入れ、適宜鑷子またはピンセットを用いて3～4回振とうし、血液を洗浄する。

洗浄液を廃液し、新たに生理食塩水を注ぎ、洗浄する。これを3～4回繰り返す、血液を十分に洗い流す。

洗浄液の処理は、羊膜提供病院の手術室マニュアルに従う。

④ 羊膜提供病院における一次保存

洗浄した羊膜を、鑷子またはピンセットを用い、羊膜保存液入りの角型培地瓶に入れる。

角型培地瓶の蓋を閉め、羊膜に保存液が行き渡るように転倒混和させる。

羊膜を納めた角型培地瓶を滅菌済袋に入れ、袋の口を閉める。袋には、ドナーID と羊膜採取日を、油性マジック等で記入する。

滅菌済袋の口を閉めた後は、袋の口をゆるめたり開けたりしてはならない。

3.2.3 採取施設における羊膜の保存

羊膜を納めた角型培地瓶は、滅菌済袋に入れられた形のままで、 -25°C 以下の医療用フリーザー内で保管される。フリーザー本体、もしくはフリーザーの設置されている部屋については、安全管理について、十分に考慮されなくてはならない。

4.0 羊膜採取（帝王切開）後の組織検査と母体・新生児に対する検査

4.1 生後1か月検診

帝王切開手術（羊膜採取）の約1か月後に実施される母体及び新生児の1か月検診の結果を、「羊膜データシート」に記入する。

4.2 核酸増幅法による再検査

帝王切開手術前の母体に対する、3.1.2に挙げた項目の検査結果が陰性の場合であっても、感染のウィンドウ・ピリオドを考慮して、手術後60～90日の間に、核酸増幅法による血清検査を行い、その結果を「羊膜データシート」に記入する。検査項目は3.1.2に準ずる。

なお、この検査に提出するための血清から、約1mlを別のスピッツ管に取り分け、管理番号と採血日を記入し、バンク室冷凍庫内で凍結保存する。保存期間は、20年以上とするが、出来るだけ長期間保存する。

4.3 1か月検診及び「4.2 核酸増幅法による検査」結果の適用

「4.1 生後1か月検診」あるいは「4.2 核酸増幅法による検査」において、異常または陽性の項目があった場合には、そのドナーから提供された羊膜は、移植に使用してはならない。

5.0 採取された羊膜の搬送と保存

5.1 羊膜の搬送

羊膜を採取施設からバンク室へ搬送する際には、羊膜が凍結状態にある事を確認し、専用の運搬ボックスあるいは発泡スチロール容器等を用い、充分量のドライアイスや専用の保冷材等と共に搬送する。

搬送先に到着後は、保存液が凍結状態を維持していることを確認の上、速やかに冷凍庫に移動する。

5.2 羊膜の保存・管理

機構に搬送された羊膜は、組織バンク室内冷凍庫にある機構専用ラック内に保管され、組織バンクの保管する羊膜とは厳重に隔離される。

機構の扱う羊膜は、組織バンク員によって管理される。

組織バンク員は、超低温槽内の羊膜保存場所を、「羊膜保存場所リスト」に記載する。

5.3 バンク室、超低温フリーザー等の管理

全ての羊膜は、温度記録計・自動冷却補助装置付き超低温槽で保管する。設定温度はマイナス 80°C とする。

組織バンク員は毎日 1 回以上、超低温槽の温度表示部、及び、温度記録計の記録にて、正常に稼動していることを確認し、確認者はバンク室内のカレンダーにサインする。また、組織バンク員は適宜温度記録計の記録用紙を交換し、記録用紙を保管しなくてはならない。保管期間は、20 年間とするが、出来るだけ長期間保管する。

組織バンクのコーディネーターは、日本組織移植学会のレジストリー調査票を随時更新する。

組織バンク室には、健康状態に問題がある者（上気道感染症に罹患または、その危険性がある者、手指等に外傷のある者、下痢や嘔吐等の消化器症状のある者等）は入室してはならない。

組織バンク室に入室する者は、「健康管理票」に記入する。また、外部業者の作業員が入室する場合には、バンク室員が入室者の健康状態を確認し、「健康管理票」にもその旨記載する。

6.0 提供施設との連携

6.1 提供施設との連携においては、双方で調整を行い、必要に応じて現場マニュアルを作成することができる。