

7.1.1. 自己血清調製（外来）

1) 採取時期・場所

移植術日の6～10週間前間に、医学部附属病院輸血細胞治療部において行う。採取当日に血球検査および血圧測定を行い男性でHb11.0g/dL未満、女性で10.0g/dL未満あるいは収縮期血圧90mmHg未満であれば採取を延期し、1週後に再度採取を試みる。再び採取前に血球検査および血圧測定を行い、条件を満たしている場合は採取し、満たしていない場合は、試験を中止する。

2) 採取方法

左右何れかの肘窩部皮静脈より、輸血用バッグを用いて400mlの採血を行い、200mlの血清を分離する。採取した血清はCCMTの冷凍保管庫において-20℃で冷凍保存する。

（詳細については「自己骨髄間葉系幹細胞に関する概要書」参照のこと。）

7.1.2. 骨髄液採取（外来）

1) 採取時期・場所

移植術予定日の4週～8週間前間に、医学部附属病院デイ・サージャリー診療部の手術室において試験担当医師あるいは試験細胞作成者が採取する。

2) 採取方法

- ① 麻酔科医により全身麻酔を施した後、仰臥位とする。
- ② 予め1mLのヘパリン(1,000U/mL)を入れた20mLのシリンジを用意する。
- ③ 仰臥位の患者の片側腸骨に骨髄採取針(18G)を刺入し、固定が得られた上で②のシリンジを取り付け、陰圧をかけて骨髄を10mL吸引採取する。
- ④ 約10mL採取後、シリンジを別のものに交換し、深さを変え、再度吸引採取を繰り返す。この操作を、陰圧をかけても骨髄が吸引できなくなるまで繰り返す。
- ⑤ 骨髄採取針を抜去し、他の部位より刺入し、同様の操作を行う。
- ⑥ 対側の腸骨稜から同様の操作を行い、合計40mLの骨髄液が採取された時点で終了する。

7.1.3. 細胞培養施設への運搬

7.1.2.で採取した骨髄液は、滅菌袋に入れ、速やかに試験細胞作成者によりCCMTへ運搬される。運搬時の温度は常温（20℃～25℃）とする。

7.1.4. 移植細胞（MSC）の調製

細胞の調製・保存・運搬については製造管理者の監督の下、製造管理責任者または試験細胞作成者が行う。

1) 細胞の分離・培養

CCMTに搬送後直ちに、骨髄液からMSCを単離し、培養を開始する。培養は骨髄液採取

後20日まで*とし、 2.0×10^7 個以上の細胞が確保できた時点で、培養を終了する。

詳細については「自己骨髄間葉系幹細胞に関する概要書」参照のこと。

※この期間中に細胞数が必要細胞数まで達さない場合、細胞の品質を保証することが出来ないため。

2) 細胞の凍結保存

予定数に到達後、培養皿よりMSCを回収、速やかに凍結する。凍結細胞は、CCMT内の冷凍保管庫にある -150°C の超低温槽保存容器内にて保管する。細胞の取り違えがないように照合認識システム（メルコードシステム[®]）と台帳を用いて製造管理者が管理する。

詳細については「自己骨髄間葉系幹細胞に関する概要書」参照のこと。

3) 凍結細胞の解凍・再培養

移植術予定日の7日前に、超低温槽保存容器内から凍結細胞を取り出し、 37°C のヒートブロックで解凍する。解凍後、培養を再び開始する。

詳細については「自己骨髄間葉系幹細胞に関する概要書」参照のこと。

4) 移植細胞の調製

手術当日、細胞移植術の施行30分前に、PBSにて細胞を洗浄後、リコンビナントトリプシン/EDTA混合液を加え、培養皿から細胞を回収する。細胞数を 1.0×10^7 個に調製し0.5mlの生理食塩水に懸濁し、滅菌チューブに移す。

5) 細胞の品質確認

3.1.に準じて細胞の品質を確認する。

6) 余剰細胞の取り扱い

余剰細胞は手術延期時の移植用及び細胞の品質管理用にCCMT内で凍結保存する。保存にあたっては細胞の取り違えがないように照合認識システム（メルコードシステム[®]）と台帳を用いて製造管理者が管理する。

① 手術延期時の移植用

1) 移植細胞の解凍・培養再開後に患者の理由により手術が延期された際には予定移植細胞は破棄する。

2) 再度、設定された移植日に合わせて凍結時の余剰細胞を解凍し、移植に用いる。

② 細胞の品質管理用

「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」にもとづいて、10年間 CCMT内で凍結保存し、何らかの理由により、解析が必要となった場合に備える。

保存期間を過ぎた余剰細胞については匿名のまま（誰の細胞か分からない状態で、密閉容器にいれて廃棄または焼却処分を行う。

7.1.5.細胞移植施設への運搬