

## 解 説

## 自己末梢血幹細胞移植術の実際

河 野 嘉 文

徳島大学医学部小児科

**Key words:** peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT), apheresis, high-dose chemotherapy

## 1. 緒 言

自己末梢血幹細胞移植術 (PBSCT) は、抗癌剤に感受性を有する各種悪性腫瘍の治療における幹細胞救済療法として急速に普及してきた<sup>1)</sup>。根治を目指した大量化学療法後に、凍結保存した造血幹細胞を再輸注することで、平均 10~12 日で顆粒球数 500/ $\mu$ l に達する迅速な造血回復がえられる。これにより汎血球減少期間の短縮と無菌管理などの支持療法の簡略化が可能になり、結果として患者の負担軽減が図れる。しかし、PBSCT の原理や実際の手技において誤解されている面もあり、その特徴を正確に理解したうえで癌治療計画を立てる必要がある。

本稿では実際に PBSCT を行う場合に重要と思われる点について、経験的に得られた情報を中心に論じることとする。個々の疾患における PBSCT の特徴や注意点などは、最近刊行されている成書を参照されたい<sup>2)</sup>。

## 2. 対 象 疾 患

PBSCT は開発当初に白血病や悪性リンパ腫などの造血器腫瘍の治療方法として報告されたため、従来の同種骨髄移植術とその方法や成績を対比されがちである。しかし、自己 PBSCT は自己骨髄移植術の変法というべき移植術であり、対象疾患や治療成績は自己骨髄移植術と比較して考えるべきである。したがって、造血器腫瘍以外に乳癌、卵巣癌、精巣癌、神経芽細胞腫、脳腫瘍、肺小細胞癌などが対象となる。これらは etoposide (VP-16) や carboplatin (CBDCA) など、骨髄抑制が容量依存性の副作用である薬剤が適応にな

る疾患である。流血中に腫瘍細胞の存在が指摘されているものもあるが、神経芽細胞腫を除いては比較的骨髄浸潤が少ないため、治療開始時点から計画的に末梢血幹細胞 (PBSC) 採取および移植時期を決定できる。

一方、造血器腫瘍の場合には完全寛解状態にあることが PBSCT を計画するための必須条件である。非寛解状態で採取した PBSC 分画には大量の腫瘍細胞が混入しており、移植後早期再発の原因となる。すなわち、通常の血液学的な検査で末梢血中に腫瘍細胞の存在が確認される状態では、PBSCT を併用した治療の対象とならない。しかも、寛解導入後に一定の期間強化療法を繰返してから PBSC 採取および PBSCT を施行する必要がある<sup>3,4)</sup>。

## 3. PBSC 採取レジメン

PBSC 採取の方法はサイトカインの臨床応用によって大きく変わってきた。G-CSF が使用される以前は、骨髄抑制が強くその後の急速な造血回復が期待できる大量 Ara-C (HD-AraC) や大量 Cyclophosphamide (HD-CY) 療法が動員効果が大きいとして好んで用いられてきた。固形腫瘍で頻用されるプラチナ製剤を使用すると経験的に PBSC 採取効率が悪いとされ、CY に対する感受性が小さい場合や、出血性膀胱炎や心機能障害のために大量 CY が使用できない固形腫瘍例では PBSC 採取が困難なことも多かった。

G-CSF が臨床応用されてからは強化療法と PBSC 動員を兼ねて、HD-AraC+G-CSF あるいは HD-CY+G-CSF で治療されることが多い<sup>5)</sup>。しかし、G-CSF を PBSC 動員目的で投与する場合の至適投与量は患者ごとに大きく異なり、未だ確立されていない。

表1 末梢血幹細胞動員化学療法例 (PBSC 研究会)

|                               |                         |                              |             |
|-------------------------------|-------------------------|------------------------------|-------------|
| 【小児】                          |                         |                              |             |
| 急性リンパ性白血病                     | Cytosine Arabinoside    | 2 g/m <sup>2</sup> ×2/day    | day 1～5     |
|                               | Etoposide               | 100 mg/m <sup>2</sup>        | day 1～3     |
| 進行神経芽腫                        | 1. Vincristine          | 1.5 mg/m <sup>2</sup>        | day 1       |
|                               | Cyclophosphamide        | 1,000 mg/m <sup>2</sup>      | day 2, 3, 4 |
|                               | Pirarubicin             | 30 mg/m <sup>2</sup>         | day 5       |
|                               | 2. Cyclophosphamide     | 1,200 mg/m <sup>2</sup>      | day 1, 2    |
|                               | Etoposide               | 100 mg/m <sup>2</sup>        | day 1, 2, 3 |
|                               | Pirarubicin             | 30 mg/m <sup>2</sup>         | day 3       |
| 【成人】                          |                         |                              |             |
| 急性骨髄性白血病                      | 1. Cytosine Arabinoside | 500 mg/m <sup>2</sup> ×2/day | day 1～6     |
|                               | Etoposide               | 100 mg/m <sup>2</sup> /day   | day 1～5     |
| 急性リンパ性白血病および<br>高度悪性非ホジキンリンパ腫 | 2. Cytosine Arabinoside | 3 g/m <sup>2</sup> ×2/day    | day 1, 2    |
|                               | Etoposide               | 500 mg/m <sup>2</sup> /day   | day 2～4     |
|                               | IT (MTX, Ara-C, PSL)    |                              | day 1       |
|                               |                         |                              |             |

表2 G-CSF 単独刺激による末梢血幹細胞動員

| 症例                             | 投与開始前      |           | 5 日目       |           |
|--------------------------------|------------|-----------|------------|-----------|
|                                | 白血球数 (/μl) | CD 34 (%) | 白血球数 (/μl) | CD 34 (%) |
| 1 (150 μg/m <sup>2</sup> /day) |            |           |            |           |
|                                | 4,100      | 0.19      | 39,200     | 1.05      |
| 2 (150 μg/m <sup>2</sup> /day) |            |           |            |           |
|                                | 5,300      | 0.11      | 31,600     | 2.00      |
| 3 (200 μg/m <sup>2</sup> /day) |            |           |            |           |
|                                | 11,600     | 0.10      | 53,000     | 0.96      |

骨髄浸潤のない固形腫瘍患者で、治療開始前に G-CSF を 1 日 2 回皮下注し、PBSC を動員した。

また、急性骨髄性白血病患者への投与については、腫瘍細胞が G-CSF 受容体を発現し G-CSF 投与により増殖する可能性もあり、一定の見解は得られていないのが現状である。今後これらの点についてプロスペクティブ検討で明確にする必要がある。PBSC 動員方法の一例として PBSC 研究会 (小川一誠代表) で採用されている採取レジメンを表 1 に示した。

G-CSF の PBSC 動員効果は固形腫瘍において特に有効である。前述したようにプラチナ製剤使用時に採取量が少ないことがあり、最近では G-CSF 単独で PBSC 動員・採取する方法が採用されつつある<sup>9)</sup>。この方法では化学療法や放射線療法によって骨髄疲弊を来す前に、PBSC を計画的に動員採取できる。徳島大学小児科と PBSC 研究会小児部門で行った初発固形腫瘍 3 例における動員効果を表 2 に示した。この場合も至適投与量の設定や腫瘍細胞の末梢血中への動員な

ど、まだまだ解明すべき問題点が残されているが、PBSC 動員効果は確実である。

#### 4. 採取時期と方法

化学療法後の骨髄回復期に採取する場合は、血小板が最もよい指標になると思われる。特に G-CSF を併用した場合には白血球数の増加が先行するが、血小板が回復していない段階では PBSC 採取を行っても効率が悪い。最近では CD 34 陽性細胞数を測定しながら採取日を決定する方法をとる施設もあり、よりよい条件で採取が可能になっている。しかし、実際の臨床の場では採取・保存に関わる時間と労力を考慮すると、いつでも採取および保存が可能というわけではない。また、G-CSF を併用しても白血球数 2,000/μl 以上に回復するのに 2 週間以上要するような骨髄機能が疲弊した状態では、アフエレシスを施行しても PBSC 採取効率は極めて悪い。一方、G-CSF 単独刺激による動員は、注射開始後 5 日目にピークがくることが健常人例で確認されており、この刺激で PBSC が動員されない症例では、骨髄疲弊は進行しており PBSC 採取対象にならないと考えてもよさそうである。いずれにせよ、G-CSF 単独動員法は今後多くの施設で採用されることになると思われる。

アフエレシスによる PBSC 採取において重要な要素は一定のスピードで (30～80 ml/分) で採取および返血ができることにある。効率的な採取に関する要素はいろいろあるが、表 3 に代表的なものを挙げた。高脂

血症は簡単に解決できないが、貧血や採血スピードは対応が可能であり配慮する必要がある。また表には載せていないが、処理血液スピードが 70 ml/分以上になると効率が悪くなるとする報告もある<sup>7)</sup>。基本的に採取 PBSC 量は動員効率に比例するが、従来の計算では処理血液中に含まれる PBSC の約 60% が回収されることがわかっている<sup>8)</sup>。効率的に採取するために 1 回に大量処理をすべきか、少量処理を繰り返すべきか症例によって異なるが、アフエレシスによって PBSC が末梢血中に動員される症例があり、最低でも成人例で 10 L、小児例で 300 ml/kg 処理を実施したい。

小児例における問題点は体外循環量の多さである。機種にもよるが、通常 200~300 ml になるために、体重 20 kg 以下の小児では赤血球製剤によるプライミングが必要である。筆者らは赤血球 1 単位でプライミングし、CS 3000 (バクスター社) の small volume collection chamber (SVCC) の使用時に、採取中の血中ヘモグロビン値が 6~7 g/dl になることを観察した。採取終了後にはプライミングに使用した血液も返血するためにヘモグロビン値は 10~12 g/dl になっており、この循環動態の変動はかなりの負担になっていると思われる。最近では small volume separation chamber (SVSC) を SVCC の対側にセットし、体外循環量を 200 ml 以下に抑えられるようになった。これにより 10kg 未満の乳幼児例からの採取もより安全になった。

アフエレシスに起因するトラブルに、抗凝固剤として用いられるクエン酸ナトリウムによる低カルシウム血症がある (ACD 中毒)。これは口周囲のしびれから始まり、嘔気・嘔吐、不整脈、重篤な場合にはショックも起こしうる。患者個々の ACD 感受性に大きな差があり、10 L 処理後も何の症状もでない患者から、1 L 処理時には嘔吐する患者もいる。小児では症状の表現ができないために、あらかじめ 200 ml 処理に 1 ml の割合でカルシウム製剤の注入を行っているが、それでも嘔吐する場合がある。全身麻酔下の骨髓穿刺に比較

して安全であることを強調するには、この副作用の管理に細心の注意が払われなければならない。

## 5. 移植前大量療法

自己 PBSCT の治療効果を左右する要素は、大量化学療法で残存腫瘍の根絶ができるかどうかと、再輸注する細胞に腫瘍細胞の混入があるかどうかの 2 つである。前者は投与化学療法剤の選択と投与量の設定が鍵となり、後者は PBSC 採取時期が最も影響する。自己移植術を併用した治療において、移植前大量化学療法の重要性は認識されながらも、その効果を正確に判定し、いくつかのプロトコルを比較するためには長期の観察を必要とする。現在使用されているプロトコルも最善であるとは言えないかもしれない。

白血病などの造血器腫瘍においては、同種移植術の経験に基づくプロトコルが多く、ある程度確立されている。小児に多い急性リンパ性白血病 (ALL) の場合には、筆者らが開発した MCVAC 療法の効果は認められているが、同種移植術で症例が蓄積されてきた Busulfan (Bu) + Melphalan (L-PAM) さらに大量 Ara-C や大量 VP-16 を追加したレジメンも使われている。全身放射線照射を併用する方法も行われているものの、その効果は免疫抑制が主であることや晩期障害を考慮した場合に自己移植術に採用すべきかどうか議論の余地があると考えている。

一方、成人領域の ANLL では、福岡 BMT グループや PBSCT 研究会造血器腫瘍部門で行われている G-CSF 併用療法の成績が良好である。最終結論はプロスペクティブ検討で証明される必要があるが、白血病細胞が G-CSF 受容体を持つことを利用した賢明な方法である。いずれにせよ、PBSCT にはこのレジメンという発想ではなく、この症例ではこの化学療法剤の組み合わせが適当であろうという決定方法が求められる。

固形腫瘍では大量投与が可能な CBDCA と VP-16、

表 3 アフエレシスによる末梢血幹細胞採取効率に影響する因子

| 因子         | 理由                |
|------------|-------------------|
| ヘマトクリット低値  | 分離バッグを満たすのに時間がかかる |
| 高脂血症       | 単核球分画を見分けられない     |
| 採血流量の変動    | ライン閉塞の原因          |
| ライン閉塞による中断 | 赤血球と白血球の境界の攪拌になる  |

CS 3000 plus を使用した場合の影響因子を記載した。

表 4 大量化学療法に用いられる抗癌剤と幹細胞救済療法時の最大耐用量

| 薬剤               | 最大投与量 | 規制因子      |
|------------------|-------|-----------|
| Cyclophosphamide | 7,500 | 心毒性       |
| Etoposide        | 2,400 | 粘膜毒性、肝毒性  |
| Carboplatin      | 2,000 | 腎毒性、肝毒性   |
| Melphalan        | 225   | 粘膜毒性      |
| Thiotepa         | 1,125 | 粘膜毒性、中枢毒性 |
| Mitoxantron      | 75    | 粘膜毒性      |

文献 9 より引用。

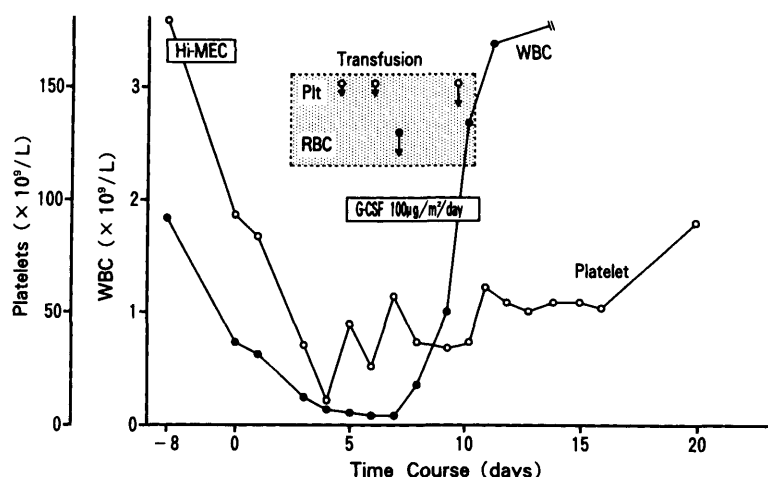
Autografting with Peripheral Blood CD34<sup>+</sup> Cells (Case3 :  $2 \times 10^6/\text{kg}$ )

図1 純化 CD34 陽性細胞移植術後の造血回復

神経芽腫の2歳男児で、大量化学療法後 CD 34 陽性細胞  $2 \times 10^6/\text{kg}$  を輸注した。赤血球・血小板輸注回数も少なく、極めて速やかに造血機能が回復した。

L-PAM, CY あるいは Ifomide などが投与される<sup>9)</sup>。PBSCT などの幹細胞救済を行った場合の各薬剤の最大投与量を表4に示す。これらに放射線治療を併用することもあるが、その場合には照射域の臓器毒性に留意して投与量を減じる必要もある。

## 6. 今後の展開

PBSC 採取におけるサイトカイン特に G-CSF の有効性が確立された現在では、必要な移植細胞数に達しないために PBSCT 施行を断念する症例はないと思われる。したがって次の段階では、移植細胞としていかに適切な細胞を採取するかが重要になってくる。その工夫の一つとして、CD 34 陽性細胞純化とそれによる移植術がある。腫瘍細胞が CD 34 抗原を持たない癌では *ex vivo* purging 効果があり、かつ細胞輸注にともなう副作用の軽減や細胞保存場所の節減などが可能である。純化 CD 34 陽性細胞だけで PBSCT を行っても、図1に示すような迅速な造血回復がえられるため、今後 PBSCT の主流になる可能性もある。

いずれにせよ、PBSCT 併用療法の対象と目的を整理し、正確な方法で PBSC 採取や大量化学療法を実施することが肝要である。

## 文 献

- 1) Gale RP, Reiffers J, Juttner CA: What's new in blood progenitor cell autotransplants? Bone Marrow Transplant **14**: 343-346, 1994
- 2) 原田実根, 藺田精昭, 高上洋一(編): 末梢血幹細胞移植術: 基礎から臨床まで, 南光堂, 東京, 1995
- 3) 高上洋一, 河野嘉文: 末梢血幹細胞移植術の現状と展望. 日小血会誌 **9**: 67-77, 1995
- 4) 渡辺 新: 末梢血幹細胞移植. 日本輸血学会誌 **41**: 396-398, 1995
- 5) Shimazaki C, Yamagata N, Tatsumi T, et al: Mobilization of peripheral blood progenitor cells by high-dose Ara-C, VP-16 and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: factors affecting progenitor cell yields. Bone Marrow Transplant **15**: 763-767, 1995
- 6) Bensinger W, Singer J, Appelbaum F, et al: Autologous transplantation with peripheral blood mononuclear cells collected after administration of recombinant granulocyte stimulating factor. Blood **82**: 3158-3163, 1993
- 7) Lin JS, Burgstaler EA, Pineda AA, et al: Effects of whole blood flow rates on mononuclear cell yields during peripheral blood stem cell collection using Fenwal CS 3000 plus. J Clin Apheresis **10**: 7-11, 1995
- 8) Valbonesi M: Hematopoietic stem cells: Technical and methodological considerations. Stem Cells **11**: 58-63, 1993
- 9) 向山雅人: 固形腫瘍に対する末梢血幹細胞移植術. 血液・腫瘍科 **31** (suppl): 231-240, 1995