

解説

ヘモネティクスマルチコンポーネントシステムによる 末梢血幹細胞採取

比留間 潔*,**・伊藤 道博*・浅井 隆善*

*千葉大学医学部附属病院輸血部, **現在: 東京都立駒込病院輸血科

要旨 間欠血流式で濃縮のためのポンプを有する Haemonetics Multi Component System (Multi) を用いて悪性腫瘍患者 5 症例につき, 12 回の末梢血幹細胞 (PBSC) を採取した。3 または 4 回の濃縮を含む 12 から 18 回のサイクルで単核細胞を採取した。採取の所要時間は, 259.9±37.9 分, 全血処理量 101.0±15.2 ml/kg で, 採取物は容量 106.3±20.6 ml, 全有核細胞数 $2.86\pm0.75\times10^8/kg$, 単核細胞数 $2.64\pm0.80\times10^8/kg$, CD 34 陽性細胞数 $0.79\pm0.93\times10^6/kg$ であった。単核細胞と CD 34 陽性細胞の採取効率はそれぞれ 195.8±127.6 および 102.5±41.9% であった。これらの成績を当院にて Spectra を用いて行った 5 症例 11 回の PBSC 採取と比較したところ, 単核細胞および CD 34 陽性細胞の採取細胞数, 採取効率はほぼ同様であった。我々の経験から Multi は以下のような利点があるものと考えられた。移動性がよい, 血管確保は 1 経路でよい, 全自動である, および騒音, 振動が少ないなどである。

Summary The purpose of this study was to evaluate our experience with peripheral blood stem cell (PBSC) collection using the Haemonetics Multi Component System (Multi), a discontinuous flow cell separator with a third pump for concentrating harvested cells. PBSCs were collected 12 times from 5 adults with malignant diseases. Mononuclear cells (MNCs) were collected during 12-18 draw-and-return cycles including 3-4 concentration procedures. The PBSC procedure lasted 259.9±37.9 minutes on average. We processed 101.0±15.2 ml/kg of whole blood to obtain a final product of 106.3±20.6 ml, and obtained a mean yield of $2.86\pm0.75\times10^8/kg$ for nucleated cells, $2.64\pm0.80\times10^8/kg$ for MNCs, and $0.79\pm0.93\times10^6/kg$ for CD 34⁺ cells. The collection efficiency percent of MNCs and CD 34⁺ cells were 195.8±127.6, and 102.5±41.9%, respectively. In addition, we compared these data with the data of 11 leukapheresis products collected from 5 adults on the Cobe Spectra in our hospital. The number of MNCs and CD 34⁺ cells collected by the Multi or Spectra, and the collection efficiency of MNCs and CD 34⁺ cells for each instrument was not significantly different. Our experience suggests that the cell separator has some advantages. The Multi is easily moved, operates with a single vascular access, is fully automated, and runs very quietly.

Key words: peripheral blood stem cell collection, Multi Component System

1. 緒 言

近年, Haemonetics 社より Multi Component System (MCS 3 P, 以下 Multi と略す) が開発された。末梢血幹細胞 (peripheral blood stem cell, PBSC) 採取用のプログラムも開発されているが¹⁾, 我が国においては, まだ本機種による PBSC 採取の報告はない。今回, 我々は Multi を用いて PBSC を採取する機会を得たので本機種の有用性, 特徴につき検討した。また, 当院における Spectra (Cobe Laboratories) による PBSC 採取の内容とも比較したので報告する。

2. 対象および方法

2.1 症 例

千葉大学医学部附属病院, および関連病院に入院した 5 症例につき, Multi を用いて 12 回の PBSC を採取した。症例の内容は表 1 に示した。なお, 当院では従来より Spectra により PBSC を採取しているので, 最近の連続 5 症例, 計 11 回の Spectra による PBSC 採取の内容と比較, 検討した。

2.2 末梢血幹細胞採取

回路は小用量 (125 ml) レーサムボウルを含むマルチコンポーネントセット (L/N 871) を用いた。図 1 に示すように血液ポンプによって採血された血液は ACD-

表1 症例

Case	Age	Sex	Diagnosis	PBSC mobilization	Apheresis number
SI	44	M	NHL	G-CSF alone	1
KK	48	M	NHL	G-CSF alone	1
TM	32	F	MLT	G-CSF alone	2
AM	46	M	NHL	Chemotherapy+G-CSF	6
KY	19	M	ALL	Chemotherapy+G-CSF	2

M, male; F, female; NHL, non Hodgkin's lymphoma; MLT, metastatic lung tumor; ALL, acute lymphoblastic leukemia.

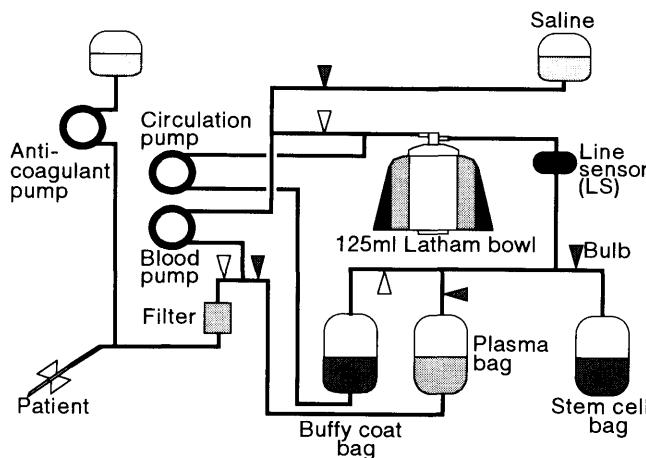


図1 マルチコンポーネントシステム (Multi) の PBSC 回路

PBSC 用の回路 (L/N 871) には、血液を遠心分離する 125 ml のレーサムボウルが組み込まれている。Multi には血液ポンプ、抗凝固剤ポンプ、循環ポンプの 3 個のポンプがあり、採取された単核細胞は第 3 のポンプ (循環ポンプ) によって再びボウルに流入し濃縮される。

A 液と混合されレーサムボウルに流入し遠心される。上層の血漿は血漿バッグに貯留し、バフィーコート層はラインセンサー (LS) で感知される透光度によって制御され、バフィーコートバッグに採取される。図 2 に LS によって規定される採取条件を示した。血漿の透光度を 100% とし、細胞の混濁を感知し採取開始する条件、赤血球を感知する条件、そして赤血球を感知してから採取する量の 3 条件によって採取内容を調節することができる。

このようにして採取されたバフィーコートは、数回分がバッグに貯留された後、循環ポンプによって再びレーサムボウルに流入し、採血全血によって押し上げられ濃縮される。そして、最終的に濃縮された単核細胞がステムセルバッグに採取される。今回の PBSC 採取の条件を表 2 に示した。採取を 3 または 4 回行った後に 1 回濃縮を行い、このサイクルを 3 または 4 回繰り返したので、全採取サイクルは平均 15 回である。また、低カルシウム血症の予防には、採取の中間の返血

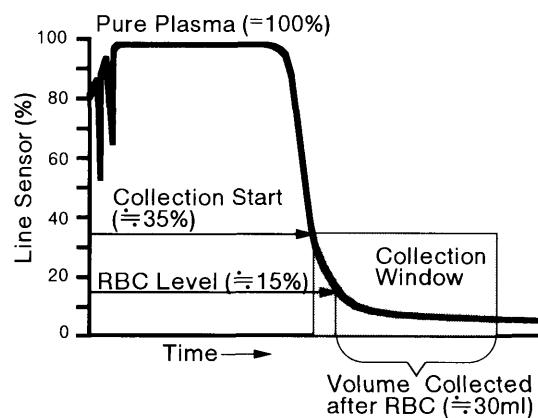


図2 ラインセンサー

ラインセンサーが流出する血液成分の透光度を測定し適切な単核球層を採取するよう制御している。採取される単核球部分 (Collection Window) は採取を開始する時点の透光度 (Collection Start), 赤血球として感知する透光度 (Red Cell Level) および Red Cell Level からさらに採取する量 (Volume Collected after RBC) によって規定される。

表2 マルチの採取条件

Parameters	Mean	Range
Draw pump speed (ml/min)	70.4	30~90
Return pump speed (ml/min)	77.1	50~90
ACD-A/blood ratio	1:12.1	1:12~13
Total cycle number	15.0	12~18
Number of concentration cycles	3.4	3~4
Collection start (%)	36.9	35~45
Red blood cell level (%)	12.0	12
Red blood cell collection (ml)	24.3	22~30

時にグルコン酸カルシウム 850 mg (カルチコール 10 ml) を返血ラインより緩徐に注入した。

2.3 PBSC 採取の評価

採取に要した時間 (採取開始より抜針まで), 全血処理量, 一般的な本機種の特徴および, 採取 PBSC の内容について評価した。CD 34 陽性細胞は抗 CD 34 抗体 (FITC 結合 HPCA-2, Becton Dickinson) を用いてフローサイトメトリー (FACScan) にて測定した。CFU-GM は Stem Cell CFU Kit (Baxter) を用いて測定した。

さらに, 患者の身長, 体重より推定された循環血液量²⁾より採取前の循環単核細胞数, 循環 CD 34 陽性細胞数を計算し, 採取単核細胞数, 循環 CD 34 陽性細胞より以下のように採取効率を計算した。

単核細胞 (CD 34 陽性細胞) 採取効率 (%) = [採取単核細胞数 (採取 CD 34 陽性細胞数) / 採取前循環単核細胞数 (CD 34 陽性細胞数)] × 100.

3. 結 果

3.1 一般的な特徴

Multi は重量が 28 kg で、他の汎用機種 Spectra³⁾ の 177 kg, CS-3000 plus⁴⁾ (Fenwall) の 315.2 kg, AS-104⁵⁾ (Fresenius AG) の 145 kg に比し小型軽量で移動性に優れており、ベッドサイドにおける PBSC 採取も容易であった。また、ボウルによる遠心のため他の機種と比較して騒音が少なく、間欠血流式のため血管確保は 1 経路で済み、プライミングが約 1 分と短時間

であった。

3.2 採取内容 (表 3)

採取開始より抜針までの所要時間は、Spectra と比較して有意に長時間であったが、全血処理量は Spectra と比し約半量であった。

採取物の内容に関しては、全用用量が平均 106.3 ml と小用量であった。全有核細胞数、CD 34 陽性細胞数、CFU-GM 数は、表 3 に示すように、Spectra と比較し少ない傾向があったが、症例による差異も大きく統計学的には有意差を認めなかった。単核細胞比率、混入

表 3 PBSC 採取成績

	Multi	Spectra	Welch's <i>t</i> -test
Apheresis number	12	11	
Procedure duration (min)	259.9±37.9	224.8±29.3	<i>p</i> <0.05
Blood volume process (ml)	5,399.8±833.5	10,254.6±721.6	<i>p</i> <0.05
Blood volume process (ml/kg)	101.0±15.2	200.0±0	<i>p</i> <0.05
Products			
Volume (ml)	106.3±20.6	238.0±22.7	<i>p</i> <0.05
TNC ($\times 10^8$ /kg)	2.86±0.75	3.26±1.82	NS
MNC (%)	92.2±10.6	94.9±6.9	NS
CD34 positive cells ($\times 10^6$ /kg)	0.79±0.93	2.26±2.50	NS
CFU-GM ($\times 10^4$ /kg)	1.17±2.22	3.47±3.07	NS
Total red blood cell mass (ml)	11.1±4.3	8.5±4.9	NS
Platelets ($\times 10^{10}$)	15.2±3.6	20.1±4.9	NS

TNC, total nucleated cells; MNC, mononuclear cells; NS, not significant.

表 4 単核細胞と CD34 陽性細胞の採取効率

Case	MNC			CD34 ⁺ cells		
	Pre. $\times 10^8$ /kg	Product $\times 10^8$ /kg	Collection efficiencies(%)	Pre. $\times 10^6$ /kg	Product $\times 10^6$ /kg	Collection efficiencies(%)
TM	3.23	3.05	83.9	2.00	1.65	82.5
SI	1.51	1.70	112.1	0.74	0.82	110.8
AM-1	9.06	2.99	31.8	6.53	2.68	41.0
AM-2	6.17	3.63	58.8	6.58	2.18	33.1
KK-1	0.78	2.20	282.1	0	0	NA
KK-2	0.90	1.97	218.9	0	0	NA
KK-3	1.25	1.95	156.0	0	0	NA
KY-1	1.43	1.57	109.8	0.36	0.41	114.5
KY-2	1.24	2.29	184.7	0.83	1.10	132.2
KK-4	1.00	3.15	315.0	0.15	0.22	146.7
KK-5	0.91	4.03	442.9	0.20	0.29	145.0
KK-6	0.93	3.17	340.9	0.06	0.07	116.7
Mean	2.37	2.64	194.7	1.45	0.79	102.5
SD	±2.61	±0.80	±127.4	±2.45	±0.93	±41.9
Spectra (n=11)	2.53 ±2.43	3.06 ±1.72	154.8 ±47.9	3.19 ±3.08	2.26 ±2.56	92.0 ±59.1
<i>t</i> -test	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS, not significant; NA, not available; SD, standard deviation.

赤血球および混入血小板数は Spectra と比して、ほぼ同等であった。

3.3 単核細胞、CD 34 陽性細胞の採取効率

造血幹細胞の採取量は、当然、採取前の患者循環血液中に動員される幹細胞量に依存するので、機種の採取効率を評価するためには、採取前に動員された幹細胞量を考慮する必要がある。そこで、前述したように採取前の末梢血液中および採取 PBSC 中に存在する単核細胞数、CD 34 陽性細胞数から採取効率を計算し、表 4 に示した。

採取前に動員されている CD 34 陽性細胞数は Multi 群で少ない傾向にあったが、採取効率は Multi 群、Spectra 群でそれぞれ 102.5 ± 41.9 (%)、 92.0 ± 59.1 (%) とほぼ同様であった。単核細胞の採取効率は、Multi 群で良好の傾向にあったが有意差はなかった。

3.4 採取中の副作用

低カルシウム血症に関しては全症例にカルチコール 10 ml を採取中に投与したが、口唇のしげれ感等の症状は認められなかった。その他、特記すべき副作用もなく安全に PBSC 採取を遂行できた。

4. 考 察

Multi は間欠血流式の採取であるため、他の持続血流式の汎用機種と比較して、より多くの所要時間を要する点が問題となるが、以下のように利点も多い。①血管確保は 1 経路でよい。②小型で軽量であるため移動性がよい。③騒音、振動が少ない。④ベッドサイドでも使用が可能である。⑤全自动である。⑥プライミング時間が約 1 分と短い、等である。また、費用の面では、Multi は本体、回路ともに安価であり、医療費節約の観点からも一つの利点と言えよう。

今回、採取された PBSC の内容としては、CD 34 陽性細胞数、CFU-GM 数とともに、Spectra を用いて採取した成績より少ない傾向にあったが、これは、採取前の循環 CD 34 陽性細胞が少ないと起因するものと思われた。CD 34 陽性細胞の採取効率を計算すれば、Spectra 群と同等であり、採取前に、CD 34 陽性細胞が十分動員されている症例 (AM-1, AM-2) では、必要とされる $2.5 \times 10^6 / \text{kg}$ 以上の CD 34 陽性細胞⁶⁾ が得

られていた。むしろ、所要時間の制限から、全血処理量が少ないにもかかわらず、Spectra と同等の採取効率を得られたことは興味深く、検討に値するものと思われた。

一方、間欠血流式の問題点として、体外循環量が多く、循環血液量の変化が大きい点が挙げられる。持続血流式においてはプライミングに赤血球を用いて開始すればよいが、間欠血流式の場合、困難であり、小児等、循環血液量の少ない症例には使用し難い。しかし、今回の検討では、採取中、低血圧や頻拍等の脱血に伴う副作用は全くなく、成人においては問題ないものと思われる。

Multi を用いた PBSC 採取の報告はまだ少なく、最良の採取条件の検討や採取プログラムの改良等、まだ改善の余地も残されているものと思われる。間欠血流式の欠点はあるものの、多くの利点もあり、今後、Multi による PBSC 採取を検討していくことは意義あることと考える。

文 献

- 1) Konigorski SH, Jones SA, Watts MJ, et al: Peripheral blood progenitor cell collection using the Haemonetics MCS 3 P. Bone Marrow Transplantation **15** (Suppl 2): 45, 1995
- 2) 藤田達士: 輸血の方法と手技、輸血学、遠山博(編), 中外医学社, 東京, 1989, p. 957-995
- 3) Dzieczkowski JS, McGonigal M, Cook J, et al: A comparison of peripheral blood stem cell apheresis using the Fenwal CS 3000 plus and COBE Spectra. Transfus Sci **16**: 71-77, 1995
- 4) Rosenfeld CS, Cullis H, Tarosky T, Nemunaitis J: Peripheral blood stem cell collection using the small volume collection chamber in the Fenwal CS-3000 Plus blood cell separator. Bone Marrow Transplant **13**: 131-134, 1994
- 5) Pierelli L, Menichella G, Paoloni A, et al: Evaluation of a novel automated protocol for the collection of peripheral blood stem cells mobilized with chemotherapy or chemotherapy plus G-CSF using the Fresenius AS 104 cell separator. J Hematother **2**: 145-153, 1993
- 6) Bensinger WI, Longin K, Appelbaum F, et al: Peripheral blood stem cells (PBSCs) collected after recombinant granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF): An analysis of factors correlating with the tempo of engraftment after transplantation. Br J Haematol **87**: 825-831, 1994