

原著論文

自家末梢血幹細胞採取前因子と採取 CD34 陽性細胞との
関連について川口 一夫^{*1}・高崎 啓孝^{*2}・小林 徹^{*1}
本村 茂樹^{*2}・酒井 リカ^{*2}^{*1} 神奈川県立がんセンター医療技術部, ^{*2} 同腫瘍内科

Analysis of Predictive Value for Autologous Peripheral Blood CD34+ Cell Collection

Kazuo Kawaguchi^{*1}, Hiroataka Takasaki^{*2}, Toru Kobayashi^{*1}, Shigeki Motomura^{*2} and Rika Sakai^{*2}^{*1} Department of Clinical Engineering Technology, and ^{*2} Department of Medical Oncology, Kanagawa Cancer Center

Summary To perform peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) successfully, a sufficient number of CD34+ stem cells collection for engraftment is necessary. However, an optimal of timing peripheral blood stem cell harvest (PBSCH) is still unclear. The purpose of the present study was to analyze an optimal timing for PBSCH retrospectively. Among 47 patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), a total number of 63 PBSCHs were performed in our institute from October 2000 to May 2012. We analyzed the associations between the total number of CD34-positive cells per each PBSCH and several clinical factors such as patient age, past history of treatment for DLBCL, number of leukocytes, mononuclearcytes, myeloblasts, and promyelocytes of peripheral blood just before PBSCH by a factor analysis of correlational data. The number of myeloblasts and promyelocytes were significantly correlated with the total number of CD34-positive cells ($R=0.500$ and $R=0.716$, respectively). In conclusion, the sufficient number of CD34+ stem cells to be collected might be able to be predicted from the number of myeloblasts and promyelocytes in peripheral blood just before PBSCH.

Key words: CD34, PBSCH, myeloblast

要旨 自家末梢血幹細胞移植後に、速やかな生着を得るために必要な CD34 陽性細胞数は $2.0 \times 10^6 / \text{kg}$ 以上とされている。十分量の幹細胞を得るため、幹細胞採取効率の向上を図ることは重要である。そこで、2000 年 10 月から 2012 年 5 月までにびまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 47 名に施行した Auto Peripheral Blood Stem Cell Harvest: Auto-PBSCH 63 回を対象として、採取前因子（年齢、前治療歴、採取当日の白血球数、単核球数、骨髓芽球数、前骨髓球数）と CD34 陽性採取細胞数の関連について後方視的に検討した。強い相関関係を認めた採取前因子は、前骨髓球数 ($R=0.500$)、骨髓芽球数 ($R=0.716$) であった。また、採取当日の末梢血中に骨髓芽球を認めた 40 回中 39 回 (98%) で採取が可能であった。採取当日の末梢血分画で骨髓芽球や前骨髓球の出現を確認することは、十分量の造血幹細胞を採取する至適な時期を見極める簡便な指標になりうると考えられた。

1. 緒 言

造血幹細胞は、主に骨髓中に存在しており、造血幹細胞が含まれる CD34 陽性細胞は末梢血中単核球の約 0.2% 程度と報告されている¹⁾。その後、化学療法後の造血回復期に一過性に末梢血中へ造血幹細胞が動員さ

れることが確認され、顆粒球コロニー刺激因子 (colony-stimulating factor: G-CSF) を投与することでさらに効率よく末梢血中へ造血幹細胞が動員されることが明らかにされた^{2,3)}。全身麻酔下での造血幹細胞採取が不要である末梢血幹細胞移植 (Peripheral Blood Stem Cell Transplantation: PBSCT) は、移植後の造血能の回復が早いことから広く普及した。悪性リンパ腫において、自家末梢血幹細胞移植 (Auto-

2012 年 12 月 27 日受付, 2013 年 6 月 11 日受理。

PBSCT) は、主に 65 歳以下の化学療法に感受性のある再発例で有用性が示されており⁴⁾、若年、未治療、高リスク例に対する治療効果も検討されている^{5,6)}。Auto-PBSCT 後に速やかな生着を得るために必要な CD34 陽性細胞数は $2.0 \times 10^6/\text{kg}$ 以上とされている。十分量の CD34 陽性細胞数を得るため、自家末梢血幹細胞採取 (Auto Peripheral Blood Stem Cell Harvest: Auto-PBSCH) 効率を上げるために、PBSCH を行う至適な時期を予測することは重要である。今回、我々は自施設でこれまでに施行した Auto-PBSCH 例を対象に、至適 Auto-PBSCH 採取時期を予測する因子を検討した。

2. 対象と方法

2000 年 10 月から 2012 年 5 月までに、神奈川県立がんセンター腫瘍内科において 47 名のびまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 (Diffuse Large B-cell Lymphoma: DLBCL) に対し、施行した Auto-PBSCH 計 63 回を対象として、採取前因子 (年齢、前治療歴、採取当日の白血球数、単核球数、骨髓芽球数、前骨髓球数) と採取 CD34 陽性細胞数の関連について後方視的に検討した。自家末梢血幹細胞採取レジメンには、etoposide (VP-16) 療法 ($500 \text{ mg}/\text{m}^2/\text{day}$: day1~3, G-CSF: day14~17, Auto-PBSCH 予定日: day18)⁷⁾ や cytarabine (Ara-C) 大量療法を含む化学療法 ($2 \text{ g}/\text{m}^2/\text{day}$: day1~2, G-CSF: day15~18, Auto-PBSCH 予定日: day19) が主に選択され、Auto-PBSCH 施行予定日 4 日前より Lenograstim $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ または Filgrastim $400 \mu\text{g}/\text{m}^2$ を皮下投与または経静脈持続投与を行い、Hematocrit 25% 以上、血小板数 $50,000/\text{mm}^3$ 以上の維持を目標に輸血も施行した。Auto-PBSCH は、当日の白血球数 $5,000/\mu\text{l}$ 前後を目安に施行した。Auto-PBSCH 施行の際には、Frese-nius 社の血液成分分離装置 AS.TEC-204, COM.TEC を用い、白血球数 $20,000/\mu\text{l}$ 未満では C4Y 回路、白血球数 $20,000/\mu\text{l}$ 以上では P1Y 回路を使用した。また、1 回の血液処理量は $150 \sim 200 \text{ ml}/\text{kg}$ を目安として、当施設では $10,000 \text{ ml}$ を目標処理量に設定した。

白血球数および単核球数はフローサイトメトリー法 (自動測定法)、骨髓芽球数および前骨髓球数は目視法、CD34 陽性細胞数はベックマン・コールター社の Stem-Kit を用いたデュアルプラットフォーム法により測定を行い、測定結果はいずれも採取当日に報告が可能であった。採取 CD34 陽性細胞数が $2.0 \times 10^6/\text{kg}$

以下の場合には、翌日も Auto-PBSCH を行い、最大で 3 日間まで Auto-PBSCH を施行した。統計の解析には SPSS を用いて相関係数を求めた。

3. 結 果

3.1 患者背景

患者背景を表 1 に示す。年齢中央値は 49 歳 (範囲: 21~64)。男性 27 名 (57%)、女性 20 名 (43%)。若年 (65 歳以下)、国際予後因子 (International Prognostic Index: IPI) High-intermediate risk (HI), High risk の未治療 DLBCL の症例が 25 名 (up front PBSCT 群)、救済化学療法に奏功した再発 DLBCL の症例が 22 名 (salvage 群) であった。Auto-PBSCH の前治療方法は、up front PBSCT 群は全例で VP-16 療法であったが、salvage 群では VP-16 療法以外に Ara-C 大量療法を含む化学療法も行われた。

3.2 前治療別の CD34 陽性採取細胞数

Auto-PBSCH は 47 名に対して、計 63 回行われた。前治療方法は、VP-16 療法 52 回 (82%)、Ara-C 大量療法を含む化学療法 8 回 (13%)、その他 3 回 (5%) であった。前治療方法別に CD34 陽性採取細胞数は、VP-16 療法は $6.10 \times 10^6/\text{kg}$ (範囲: 0.21~62.00)、Ara-C 大量療法を含む化学療法 $3.00 \times 10^6/\text{kg}$ (範囲: 0.10~26.10) であった (表 2)。また、VP-16 療法を施行した 52 件のみに限定し、up front PBSCT 群 (33

表 1 患者背景 (n=47)

年齢中央値 (範囲)		49 (21~64)
性別	男	27
	女	20
病期	初発	25
	再発	22
PBSCH 前 抗がん剤治療	VP-16	39
	Ara-C base	6
	Other	2
血液検査 (採取時)	白血球数 ($/\mu\text{l}$)	13,200 (2,100~69,900)
	単核球数 ($/\mu\text{l}$)	1,744 (177~6,990)
	骨髓芽球数 ($/\mu\text{l}$)	66 (0~1,213)
	前骨髓球数 ($/\mu\text{l}$)	132 (0~3,012)

VP-16: etoposide, Ara-C: cytarabine.

表 2 治療方法と採取 CD34 陽性細胞数

治療方法 (件数)	採取 CD34 陽性細胞数 ($\times 10^6/\text{kg}$)
VP-16 (n=52)	6.10 (0.21~62.00)
Ara-C (n=8)	3.00 (0.10~26.10)
Other (n=3)	2.20 (2.00~9.85)

VP-16: etoposide, Ara-C: cytarabine.

表3 採取時期と採取 CD34 陽性細胞数

	採取回数	採取 CD34 陽性細胞数 ($\times 10^6/\text{kg}$)	<i>p</i>
up front PBSCT 群	33	8.30 (1.85~62.00)	0.0037
salvage 群	19	3.78 (0.21~15.80)	

PBSCT: Peripheral Blood Stem Cell Transplantation.

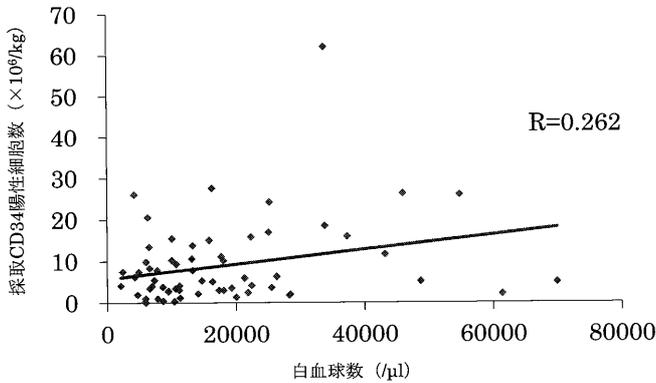


図1 白血球数と CD34 の相関関係

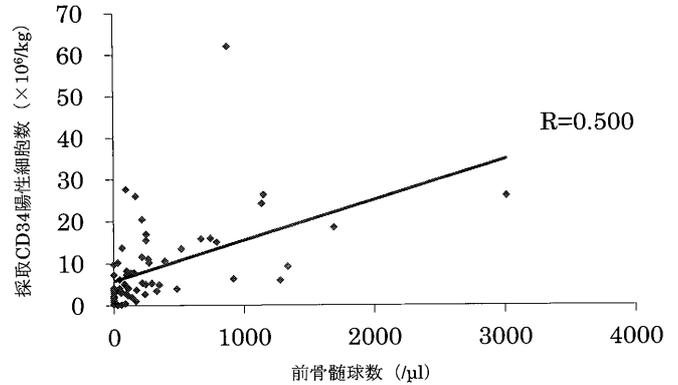


図3 前骨髄球数と CD34 の相関関係

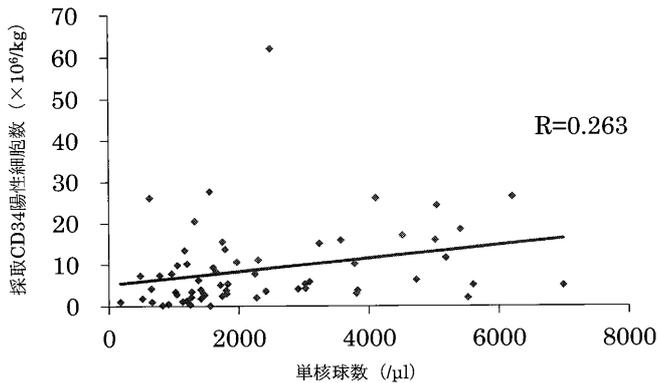


図2 単核球数と CD34 の相関関係

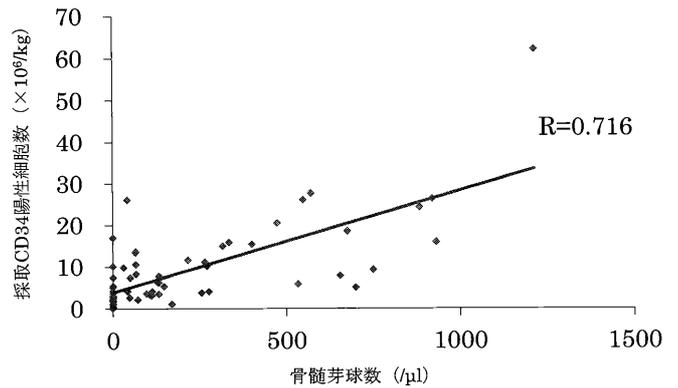


図4 骨髄芽球数と CD34 の相関関係

件) と, salvage 群 (19 件) との比較では, 前者が $8.30 \times 10^6/\text{kg}$ (範囲: 1.85~62.00), 後者は $3.78 \times 10^6/\text{kg}$ (範囲: 0.21~15.80) であり, up front PBSCT 群で有意に CD34 陽性細胞の採取が良好であった ($p=0.0037$, 表 3).

3.3 採取前因子との関連

患者年齢および採取当日の白血球数, 単核球数, 骨髄芽球数, 前骨髄球数と CD34 陽性採取細胞数の関連について検討した結果, 年齢と CD34 陽性採取細胞数の相関関係は認められなかった ($R=0.187$). 白血球数 ($R=0.262$), 単核球数 ($R=0.263$) は CD34 陽性採取細胞数と弱い相関関係を認めた (図 1, 2). CD34 陽性採取細胞数と前骨髄球数 ($R=0.500$) は相関関係を認め (図 3), 骨髄芽球数 ($R=0.716$) につ

いては強い相関関係を認めた (図 4). 採取当日の末梢血中に骨髄芽球を認めた 40 件中 39 件 (98%) で $2.0 \times 10^6/\text{kg}$ 以上の CD34 陽性細胞数の採取が可能であった. また, 採取当日に骨髄芽球を認めなかった 23 回を検討した場合, 前骨髄球を認めた症例で採取 CD34 陽性細胞が多い傾向を認めたが有意差は得られなかった (前骨髄球有群 ($n=13$); $3.78 \times 10^6/\text{kg}$ (範囲: 0.10~16.90), 前骨髄球無群 ($n=10$); $1.83 \times 10^6/\text{kg}$ (範囲: 0.37~4.20), $p=0.056$).

4. 考 察

今回の検討で, CD34 陽性採取細胞数と採取前因子の関連について検討した結果, up-front PBSCT 群であること, および, 採取当日の末梢血中に骨髄芽球,

前骨髄球といった幼若球を認める場合に効果的に CD34 陽性細胞を採取できることが示された。

幹細胞採取効率を検討した過去の報告では、末梢血中の CD34 陽性細胞数が有用な指標であることが示され、詳細な検討がなされてきた^{8~11)}。末梢血 CD34 陽性細胞が 40/ μ L 以上の場合は、1 回の Auto-PBSCH で 2.5×10^6 /kg 以上の採取が可能であるのに対して、5/ μ L 以下である場合、十分量の幹細胞採取は困難であることが確認されている⁹⁾。しかし、Auto-PBSCH 当日に末梢血中の CD34 陽性細胞を測定することが容易ではないため、実施可能な施設は限られている。

他の幹細胞採取効率に関する有用な指標には、末梢血分画の骨髄芽球、前骨髄球、骨髄球、後骨髄球、赤芽球の総和が有用な指標であったと報告がある^{12~14)}。本検討では、Auto-PBSCH 施行日の末梢血分画の中で骨髄芽球数が CD34 陽性細胞採取数と最も強い関連を認め、骨髄芽球の出現を認めた例では、98% で採取が可能であった。また、骨髄芽球の出現を認めない場合は、前骨髄球の出現を確認することで、効果的に CD34 陽性細胞を採取できることが示唆された。PBSCH 当日の末梢血分画で骨髄芽球、前骨髄球の幼若球の出現が確認できるケースにおいては、十分量の CD34 陽性細胞を採取する至適な時期を見極める簡便な指標になりうると考えられた。

当施設では、DLBCL に対する Auto-PBSCT の適応年齢は 65 歳以下としている。今回の検討では、年齢による採取効率の低下は認めなかった。また、VP-16 療法により前治療例に限定して検討した結果では、up front PBSCT 群で CD34 陽性細胞の採取効率が良好であった。melphalan, cisplatin といった一部の抗がん剤では、造血幹細胞自体に対する毒性により、PBSCH の採取効率を低下されることが知られており^{15,16)}、抗がん剤総投与量の蓄積は自家末梢血幹細胞の採取にマイナスの影響を与えらる。しかし、ハイリスク DLBCL に対する up front PBSCT の有用性は現在まで確定されておらず、臨床試験の位置付けで行われるべきと考えられている¹⁷⁾。このため、日常臨床レベルでは DLBCL に対する PBSCH は再発後の救済化学療法に奏功する症例が対象となる。このような症例に対して、適切な採取時期を逃さずに採取を施行することは重要である。

PBSCH 施行日の血液検査の骨髄芽球数、前骨髄芽球数の確認は比較的簡便な方法であり、臨床上有用であると考えられた。しかし、本検討は限定的な疾患、

治療方法における解析結果であるため、他の疾患や PBSCH 採取レジメンについても同様の結果が得られるか検討を行う必要があると考えられた。

5. 結 論

過去には、末梢循環 CD34 陽性細胞数、骨髄芽球、前骨髄球、骨髄球、後骨髄球、赤芽球の総和などが、採取 CD34 陽性細胞と関連を認める有用な指標と報告されている。本検討では、幹細胞採取当日の末梢血中に骨髄芽球、前骨髄球といった幼若球を認めることが採取 CD34 陽性細胞数との相関関係を認めた。幹細胞採取当日に末梢血検査で幼若球の有無を確認することは、十分量の CD34 陽性細胞数を採取する簡便な指標と考えられた。

著者の利益相反 (conflict of interest : COI) 開示 : 本論文発表内容に関連して特に申告なし。

文 献

- 1) Bender JG, Unverzagt KL, Walker DE, et al : Identification and comparison of CD34-positive cells and their subpopulations from normal peripheral blood and bone marrow using multicolor flow cytometry. *Blood* 1991 ; **77** : 2591-6
- 2) Socinski MA, Cannistra SA, Elias A, et al : Granulocyte-macrophage colony stimulating factor expands the circulating haemopoietic progenitor cell compartment in man. *Lancet* 1988 ; **1** : 1194-8
- 3) Dührsen U, Villeval JL, Boyd J, et al : Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood* 1988 ; **72** : 2074-81
- 4) Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, et al : Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1995 ; **333** : 1540-5
- 5) Tarella C, Zanni M, Di Nicola M, et al : Prolonged survival in poor-risk diffuse large B-cell lymphoma following front-line treatment with rituximab-supplemented, early-intensified chemotherapy with multiple autologous hematopoietic stem cell support : A multicenter study by GITIL (Gruppo Italiano Terapie Innovative nei Linfomi). *Leukemia* 2007 ; **21** : 1802-11
- 6) Fitoussi O, Belhadj K, Mounier N, et al : Survival impact of rituximab combined with ACVBP and upfront consolidation autotransplantation in high-risk diffuse large B-cell lymphoma for GELA. *Haematologica* 2011 ; **96** : 1136-43
- 7) Reiser M, Josting A, Draube A, et al : Successful peripheral blood stem cell mobilization with etoposide (VP-16) in patients with relapsed or resistant lymphoma who failed cyclophosphamide mobilization. *Bone Marrow Transplant* 1999 ; **23** : 1223-8
- 8) Haas R, Möhle R, Frühauf S, et al : Patient characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood progenitor cells in malignant lymphoma. *Blood* 1994 ; **83** : 3787-94

- 9) Schwella N, Beyer J, Schwaner I, et al: Impact of preleukapheresis cell counts on collection results and correlation of progenitor-cell dose with engraftment after high-dose chemotherapy in patients with germ cell cancer. *J Clin Oncol* 1996; **14**:1114-21
 - 10) Schots R, Van Riet I, Damiaens S, et al: The absolute number of circulating CD34+ cells predicts the number of hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis. *Bone Marrow Transplant* 1996; **17**:509-15
 - 11) Elliott C, Samson DM, Armitage S, et al: When to harvest peripheral-blood stem cells after mobilization therapy: Prediction of CD34-positiv cell yield by preceding day CD34-positiv concentration in peripheral blood. *J Clin Oncol* 1993; **14**:970-3
 - 12) Ikeda K, Kozuka T, Harada M: Factor for PBSC collection efficiency and collection predictors. *Transfus Apher Sci* 2004; **31**:245-59
 - 13) Teshima T, Sunami K, Bessho A, et al: Circulating immature cell counts on the harvest day predict the yields of CD34+ cells collected after granulocyte colony-stimulating factor plus chemotherapy-induced mobilization of peripheral blood stem cell. *Blood* 1997; **89**:4660-1
 - 14) Kozuka T, Ikeda K, Teshima T, et al: Predictive value of circulating immature cell counts in peripheral blood for timing of peripheral blood progenitor cell collection after G-CSF plus chemotherapy-induced mobilization. *Transfusion* 2002; **42**:1514-22
 - 15) Dreger P, Klöss M, Petersen B, et al: Autologous progenitor cell transplantation: Prior exposure to stem cell-toxic drugs determines yield and engraftment of peripheral blood progenitor cell but not of bone marrow grafts. *Blood* 1995; **86**:3970-8
 - 16) Boccadoro M, Palumbo A, Bringhen S, et al: Oral melphalan at diagnosis hampers adequate collection of peripheral blood progenitor cells in multiple myeloma. *Haematologica* 2002; **87**:846-50
 - 17) Stiff PJ, Unger JM, Cook J, et al: Randomized phase III U.S. /Canadian intergroup trial (SWOG S9704) comparing CHOP±R for eight cycles to CHOP±R for six cycles followed by autotransplant for patients with high-intermediate (H-Int) or high IPI grade diffuse aggressive non-Hodgkin lymphoma (NHL). *J Clin Oncol* 2011; **29** (suppl): abstr 8001
- 連絡先：〒241-8515 神奈川県横浜市旭区中尾1-1-2 地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立がんセンター 川口一夫 E-mail: kawaguchik@kcch.jp