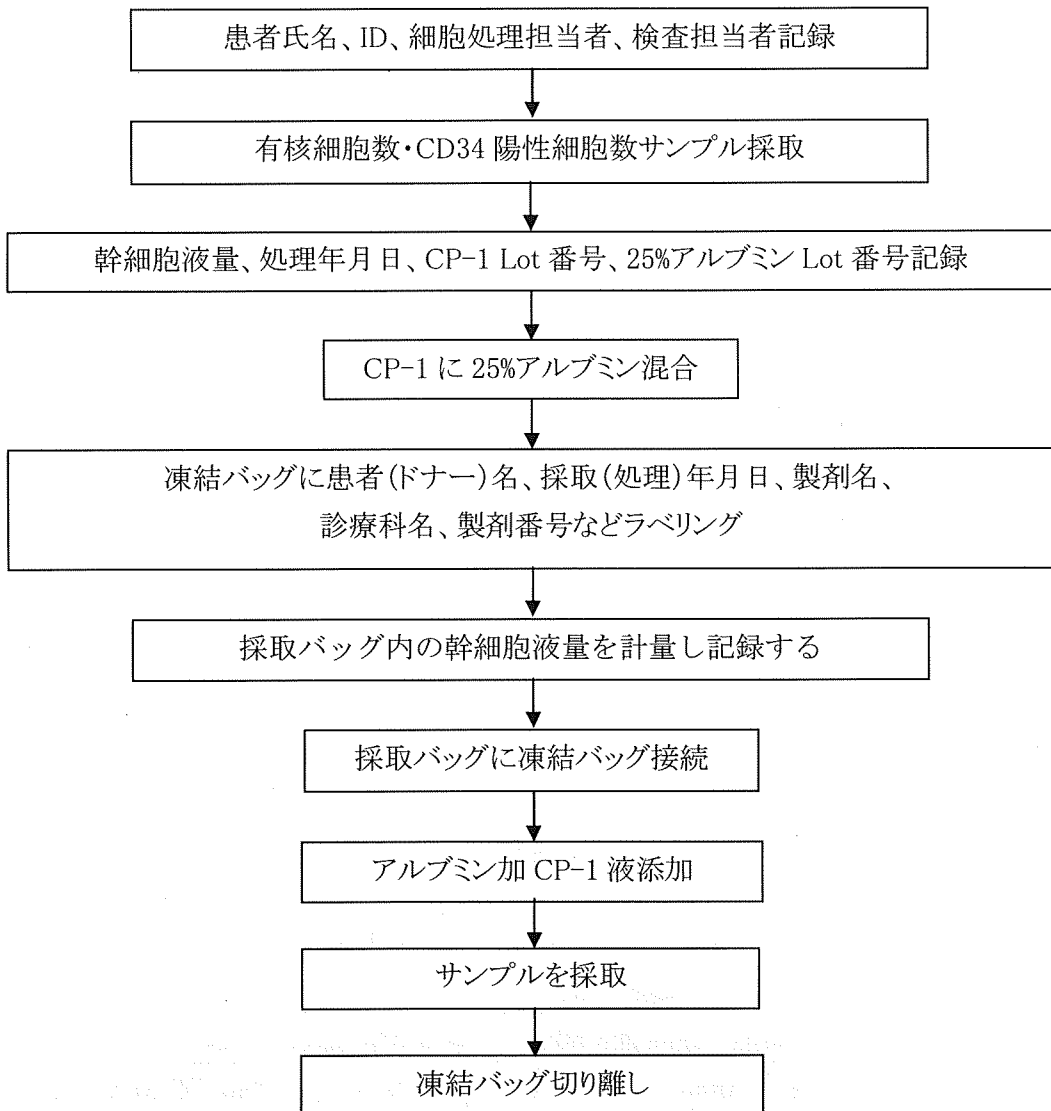
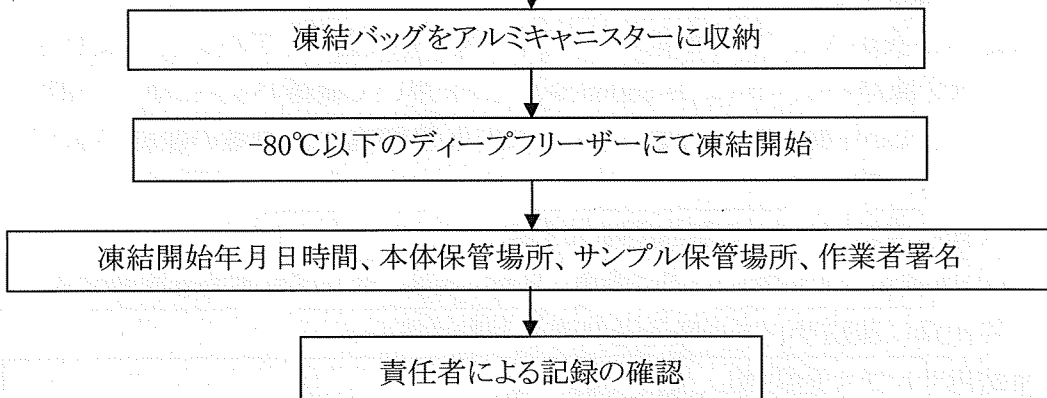


<末梢血幹細胞凍結保存フローチャート(CP-1使用の場合)>

(A) 細胞処理



(B) 凍結保存



## 自家・同種末梢血幹細胞凍結保存 作業手順書(例)

## &lt;処理前&gt;

作業内容	チェック
造血細胞処理工程記録に患者名、ID、PBSC 採取をした担当者、処理担当者、検査担当者を記録する	

## &lt;処理作業&gt;

番号	作業内容	チェック
1-1	PBSC採取バックから有核細胞数算定およびCD34陽性細胞測定用サンプルを無菌的に採取する。	
1-2	検査担当者に引き渡す。	
2-1	採取幹細胞液量、処理開始年月日時間、CP-1 Lot番号、25%アルブミンLot番号などを記録する。	
2-2	印刷されたラベルがある場合にはそれを添付しておく。	
3-1	CP-1(100mL用)を専用保冷容器(4℃)に入れ十分冷やしておく。	
3-2	上記のCP-1に、50mLシリンジで25%アルブミン32mLをゆっくり混和しながら加え合計100mLにする。アルブミンを加えた後に、CP-1容器の重量を量り記録する(通常、アルブミン添加後の重量はグロスで181g)。そのまま専用保冷容器(4℃)で保管する。	
4-1	凍結バッグに患者(ドナー)名、採取(処理)年月日、製剤名、診療科名、製剤番号を記載する。印刷されたラベルがある場合にはそれを添付する。	
4-2	作業記録に製剤番号(複数の場合はそれぞれ)を記録する。	
5-1	採取バッグに凍結バッグを接続する。	
5-2	採取バッグ内の幹細胞浮遊液量を50mLシリンジで計量し、記録する。	
5-3	採取幹細胞浮遊液が100mLに足りない場合にはヘパリン2mL加RPMI液を加えて計102mLとする。ヘパリンとRPMI液を使用した場合にはLot番号を記録する。	
6-1	細胞浮遊液が入っている凍結バッグを4℃保冷剤で包み、アルブミン加CP-1液を凍結バッグラインから50mLシリンジを用いて凍結バックにゆっくり混和しながら加える。(必要に応じて末梢血幹細胞液は複数の凍結バッグに分ける)	
6-2	注入後は凍結バックから気泡を除去する。	
7-1	2本の凍結サンプルチューブに所属、日付、氏名、サンプル番号を記録する。	
7-2	工程記録に凍結サンプルNoをそれぞれ記録する。	
7-3	凍結用サンプルを採取し、量を記録する。	
7-4	幹細胞液入り凍結バッグをチューブシーラーにてシールし、切り離す。	
7-5	サンプル採取後の凍結本体液量を記録する。	

8-1	処理終了年月日時間を記録する。	
-----	-----------------	--

<凍結保存作業>

番号	作業内容	チェック
9-1	幹細胞液入り凍結バッグを規定のアルミキャニスターに入れる。	
9-2	凍結サンプルもできるだけ同一条件になるようにする(同一凍結速度になるような凍結容器を使用する)。	
9-3	-80℃以下のディープフリーザーで凍結を開始する。 (プログラムフリーザーを用いる場合は、本体・凍結サンプルを庫内に入れ、適切な条件で凍結を開始する。)	
10-1	凍結開始年月日時間を記録する。	
10-2	本体保管場所、サンプル保管場所、および凍結作業者氏名を記録する。 (本体・サンプルが複数の場合はそれぞれ記録する。)	

## 自家・同種末梢血幹細胞凍結保存 作業記録

## &lt;処理前&gt;

患者所属		ドナー所属		PBSC採取担当者	
患者氏名		ドナー氏名		処理担当者	
患者ID		ドナーID		凍結担当者	
患者体重		ドナー体重		検査担当者	

## &lt;処理作業&gt;

手順書番号	記録項目	記録	備考
1-1	処理前サンプル採取量	mL	
2-1	採取幹細胞液量	mL	
	処理開始年月日時間		
	CP-1 Lot番号		
	25%アルブミンLot番号		
3-2	25%アルブミン量	mL	
4-2	1) 製剤番号		
	2) 製剤番号		
5-2	幹細胞浮遊液量	mL	
5-3	ヘパリン加RPMI液量	mL	
	ヘパリンLot番号		
	RPMI Lot番号		
7-2	1) 凍結サンプル番号		
	2) 凍結サンプル番号		
7-3	1) 凍結サンプル量	mL	
	2) 凍結サンプル量	mL	
7-5	凍結本体液量	mL	
	全有核細胞数	$\times 10^9$ 個	$\times 10^9$ 個/kg(患者)
	全CD34陽性細胞数	$\times 10^6$ 個	$\times 10^6$ 個/kg(患者)
8-1	処理終了年月日時間		

## &lt;凍結保存作業&gt;

10-1	凍結開始年月日時間		
10-2	本体保管場所 1)		
	本体保管場所 2)		
	サンプル保管場所 1)		
	サンプル保管場所 2)		

### 3. 骨髄液からの赤血球除去手順

#### <目的>

骨髄液からの赤血球除去

#### <対象>

1. ABO 血液型メジャー不適合同種骨髄移植
2. レシピエントの不規則抗体がドナーの赤血球に反応する同種骨髄移植
3. レシピエントが Rh 陰性で抗 D 抗体を有しドナーが Rh 陽性の同種骨髄移植
4. 自家骨髄移植

#### <解説>

ドナーとレシピエントに ABO 血液型メジャー不適合 (例えば、ドナーが A 型、レシピエントが O 型) がある場合、ドナーの骨髄液に含まれる赤血球はレシピエントの抗 A 抗体や抗 B 抗体と反応し血管内溶血を起こす。また、レシピエントにドナーの赤血球に対する不規則抗体がある場合、ドナーの骨髄液に含まれる赤血球はレシピエントの不規則抗体と反応し血管外溶血を起こす。あるいは、レシピエントが Rh 陰性で抗 D 抗体を有しドナーが Rh 陽性の場合、ドナーの骨髄液に含まれる Rh 陽性赤血球はレシピエントの抗 D 抗体と反応し血管外溶血を起こす。上記の組み合わせの骨髄移植を行う場合、ドナーの骨髄液から赤血球を除くことが必要である。レシピエントが Rh 陰性で抗 D 抗体を有していない場合、ドナーの骨髄液に含まれる Rh 陽性赤血球によって D 抗原に感作され抗 D 抗体が産生される可能性が否定できないため、ドナーの骨髄液から赤血球を除いても良いと考えられる。最近ではほとんど行われなくなったが、自家骨髄移植を行うためには、予め採取した自家の骨髄液から赤血球と顆粒球を除き単核細胞に分離し凍結する必要がある。

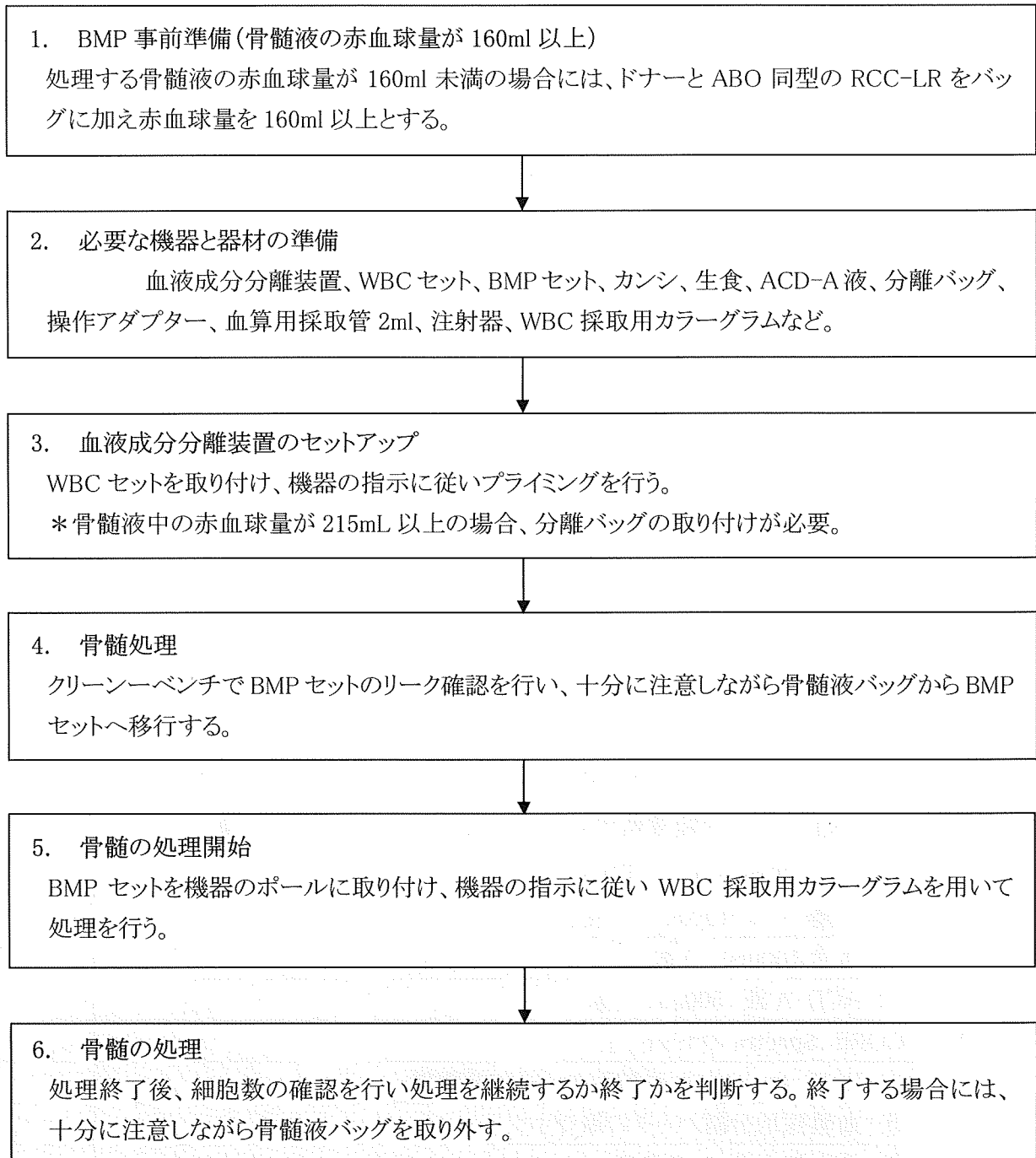
骨髄液から赤血球を除去 (単核細胞分離) する方法には、大別して器械を使う方法<sup>1)</sup>と手作業を含む用手法の2つがある。赤血球除去に用いられる器械には、血液成分分離装置の Spectra と COM.TEC、供血用遠心機の SEPAX 等がある。用手法には、Ficoll を用いた比重遠心法<sup>2)</sup>と赤血球沈降促進剤の hydroxyl ethyl starch (HES)<sup>3)</sup>を用いた方法がある。今回提示する作業工程書には、赤血球除去に最も汎用されている Spectra を用いた方法と赤血球の混入が少ない Ficoll を用いた比重遠心法を示した。Spectra を用いて骨髄液から赤血球除去を行う際には、Spectra に付属している「骨髄液処理 (BMP) 手順書」を必ず参照すること。なお、なるべく無菌的に処理できる器械による方法が推奨されるが、いずれの方法でもリアルタイムに幹細胞回収率を評価することが難しく、総有核細胞数などから推測するのが実際的である。

#### <参考文献>

1. Larghero J, et al: ABO-mismatched marrow processing for transplantation: results of 114 procedures and analysis of immediate adverse events and hematopoietic recovery. Transfusion. 2006; 46 : 398-402

2. Jin NR, et al: Preparation of red-blood-cell-depleted marrow for ABO-incompatible marrow transplantation by density-gradient separation using the IBM 2991 blood cell processor. *Exp. Hematol.* 1987; 15 : 93-98
3. Warkentin PI, et al: Transplantation of major ABO-incompatible bone marrow depleted of red cells by hydroxyethyl starch. *Vox. Sang.* 1985; 48 : 89-104

<単核細胞分離のフローチャート(スペクトラを用いた場合)>



## 骨髄液からの赤血球除去(スペクトラを用いた場合) 作業手順書(例)

## &lt;処理前&gt;

患者所属		ドナー所属	
患者氏名		ドナー氏名	
患者ID		ドナーID	
処理開始年月日時間			
処理担当者		処理責任者	

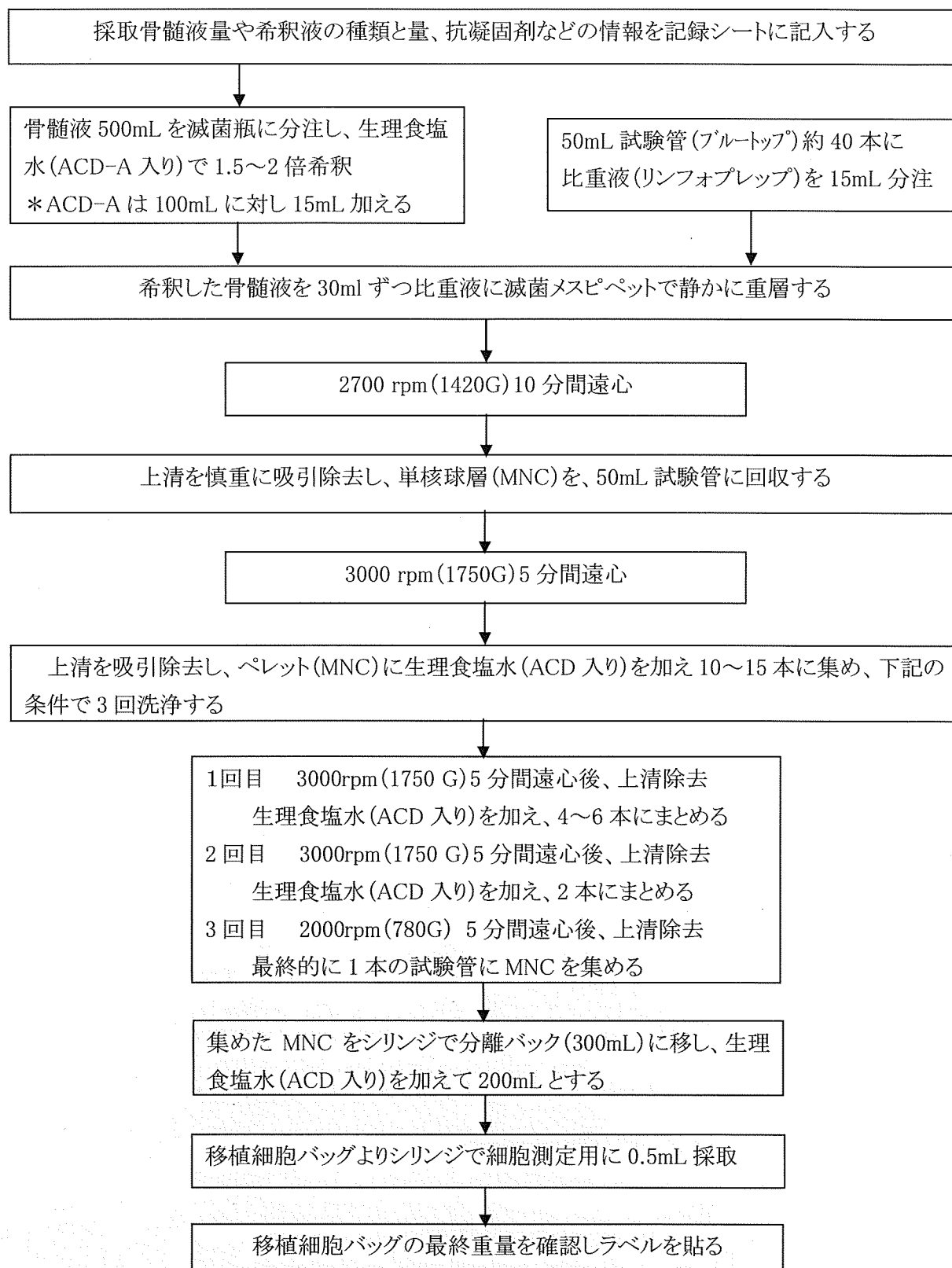
番号	作業内容	チェック
1-1	赤血球量が 160mL 未満の場合には、ドナーと同型の RCC-LR をバッグに加え赤血球量を 160mL 以上とする。	
1-2	必要な機器と器材	
	① COBE Spectra	
	② シングルステージフィルター(白血球用)	
	③ 無菌接合器	
	④ チューブシーラー	
	⑤ カンシ 5 本、ローラーペンチ	
	⑥ クリーンベンチ	
1-3	必要なキット類	
	① WBC セット(白血球採取セット)CATNo70600 6 セット 1 箱	
	② BMP セット(骨髄濃縮用セット)CATNo70630 6 セット 1 箱	
	③ WBC 採取用カラーグラム	
	④ 分離バッグ 1000mL 1枚	
	⑤ 生食 1000mL 1本	
	⑥ ACD-A 液 500mL 1本	
2	COBE Spectra のセットアップ	
	① WBC セット(白血球採取セット)の前準備	
	② 血漿採取分離バッグの取り付け	
	③ 採血返血ラインの処理	
	④ AC ラインの閉鎖	
	⑤ BMP バッグのリークテスト	
3	骨髄処理	
3-1	骨髄液バッグから BMP バッグへ移行	
3-2	WBC セット(白血球採取セット)の取り付け	
3-3	キー入力操作	



3-4	処理操作	
4	ラベル発行	
5	作業終了	

製剤番号		製剤量(mL)	
処理終了年月日時間			

＜単核球分離のフローチャート(用手法の場合)＞



## 骨髄液からの赤血球除去(用手法の場合) 作業手順書(例)

## &lt;処理前&gt;

患者所属		ドナー所属	
患者氏名		ドナー氏名	
患者ID		ドナーID	
処理開始年月日時間			
処理担当者		処理責任者	

番号	作業内容	チェック
1-1	滅菌生理食塩水 500mL バックに、ACD-A 液を 75mL 加える。 (*ACD-A は 100mL に対し 15mL 加える)	
1-2	必要な機器と器材	
	①シリンジ(2.5mL、10mL、30mL)(各 1 本)	
	②針 18G (約 3 本)	
	③操作アダプター(1 個)	
	④連結管(1個)	
	⑤分離バック(300mL) (1 バック)	
	⑥コップェル(1個)	
	⑦滅菌済みハサミ(各施設で滅菌したもの1個)	
	⑧滅菌広口ビン(500mL)(各施設で滅菌 2 本)	
	⑨滅菌試験管(50mL)(約 60 本)	
	⑩試験管ラック(約 10 本立て 5 個)	
	⑪滅菌ディスポメスピペット(25mL または 10mL)(約 5 本)	
	⑫電動ピペッターまたは滅菌ゴム帽(ディスポメスピペット用)	
	⑬吸引装置(可能であれば)	
	⑭チューブシーラー	
1-3	必要な試薬	
	①ACD-A 液(250mL)(1 バック)	
	②生理食塩水(500mL)(2 バック)	
	③比重液(リンフォプレップ、250mL)(3 本)	
	④消毒アルコール綿	
2	骨髄処理	
2-1	採取骨髄液を生理食塩水(ACD 入り)で希釈	
2-2	50mL 試験管に比重液を約 15mL 分注し希釈した骨髄液を重層	

2-3	2700rpm(1420G)で遠心後、単核球層(MNC)を回収し、次に3000rpm(1750G)遠心し、上清を捨て約15本にMNCを集める	
2-4	1回目3000rpm(1750G)遠心後、上清除去し生理食塩水(ACD入り)を加え、約6本にMNCを集める	
2-5	2回目3000rpm(1750G)遠心後、上清除去し生理食塩水(ACD入り)を加え、約2本にMNCを集める	
2-6	3回目2000rpm(780G)遠心後、最終的に1本の試験管にMNCを集める	
2-7	移植単核球をシリンジで分離バック(300mL)に移す	
2-8	滅菌生理食塩水(ACD入り)を加えて、200mLにする	
2-9	移植細胞バックよりシリンジで細胞を抜く	
3	ラベル発行	
4	作業終了	

製剤番号		製剤量(mL)	
処理終了年月日時間			

骨髓血から単核球分離 結果報告書

<情報>

移植患者名 \_\_\_\_\_ 院内 ID \_\_\_\_\_ バンク ID \_\_\_\_\_

年齢 \_\_\_\_\_ 歳 性別 男・女 体重 \_\_\_\_\_ kg 病棟 \_\_\_\_\_

ABO 血液型 \_\_\_\_\_ Rh \_\_\_\_\_ 不規則抗体 無・有 (抗 \_\_\_\_\_)

ドナー名 \_\_\_\_\_ 院内 ID \_\_\_\_\_ バンク ID \_\_\_\_\_

年齢 \_\_\_\_\_ 歳 性別 男・女 体重 \_\_\_\_\_ kg 病棟 \_\_\_\_\_

ABO 血液型 \_\_\_\_\_ Rh \_\_\_\_\_ 不規則抗体 無・有 (抗 \_\_\_\_\_)

<処理前 採取された骨髓細胞>

- ① 骨髓採取量 \_\_\_\_\_ mL
- ② 希釈液 \_\_\_\_\_ mL 生食 RPMI その他( \_\_\_\_\_ )
- ③ 抗凝固剤 ヘパリン \_\_\_\_\_ 単位 ACD-A 液 \_\_\_\_\_ mL
- ④ 総量 ① + ② + ③ = Total \_\_\_\_\_ mL

細胞濃度 \_\_\_\_\_  $\times 10^4 / \mu L$  CD34 陽性率 \_\_\_\_\_ %  
 総有核細胞数 \_\_\_\_\_  $\times 10^9 =$  \_\_\_\_\_  $\times 10^8 / kg$  (患者体重)  
 総単核細胞数 \_\_\_\_\_  $\times 10^9 =$  \_\_\_\_\_  $\times 10^8 / kg$  (患者体重)  
 総 CD34 陽性細胞数 \_\_\_\_\_  $\times 10^8 =$  \_\_\_\_\_  $\times 10^6 / kg$  (患者体重)

特記事項 \_\_\_\_\_

<処理後 骨髓単核細胞結果>

- ① 処理後の量 \_\_\_\_\_ mL
- ② 希釈液 \_\_\_\_\_ mL 生食 RPMI その他( \_\_\_\_\_ )
- ③ 抗凝固剤 ヘパリン \_\_\_\_\_ 単位 ACD-A 液 \_\_\_\_\_ mL
- ④ 総量 ① + ② + ③ = Total \_\_\_\_\_ mL

最終細胞濃度 \_\_\_\_\_  $\times 10^4 / \mu L$  CD34 陽性率 \_\_\_\_\_ %  
 総単核細胞数 \_\_\_\_\_  $\times 10^9 =$  \_\_\_\_\_  $\times 10^8 / kg$  (患者体重)  
 総 CD34 陽性細胞数 \_\_\_\_\_  $\times 10^8 =$  \_\_\_\_\_  $\times 10^6 / kg$  (患者体重)

特記事項 \_\_\_\_\_

処理担当者 \_\_\_\_\_ 処理日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日  
 責任者 \_\_\_\_\_ 確認日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

#### 4. 骨髓液からの上清除去手順

##### 〈目的〉

骨髓液からの上清除去および濃縮

##### 〈適応〉

1. ABO minor mismatch の同種骨髄移植
2. 骨髄輸注時に中等度以上のアレルギー反応などの有害事象が出現した場合
3. ドナー血清中に臨床的に問題となる不規則抗体がある場合

##### 〈解説〉

バッグ遠心法は骨髓液の上清除去・濃縮に汎用される標準的な方法であり、血液バッグを遠心するための機器や器具を備えた施設であれば実施可能である。なお、自動血漿分離機器(BioSAFE 社の Sepax<sup>®</sup>など)を利用した上清除去も可能であるが、処理量やコストの面から、通常の骨髄移植における細胞処理にはあまり適さない。

バッグ遠心法において、細胞の回収率や血漿の除去率を最も左右するのは遠心分離の回数である。遠心分離の回数によって1回法と2回法の2つの方法があり、どちらを選択するかについて明確な基準はない。通常、遠心分離を1回実施する毎に血漿量を10%程度にまで減量することが可能であり、通常のABO minor mismatch 同種骨髄移植における上清除去では、1回法によって临床上問題となる溶血性副作用はほぼ回避できる。ただし、抗IgA抗体を有するIgA欠損症患者や過去に輸血後アナフィラキシー反応の既往がある患者など、少量の血漿が含まれていても重篤な副作用を起こす可能性がある場合は、2回法によってより副作用が予防・軽減できる可能性がある。なお、1回の遠心分離によって移植細胞を約10%程度ロスする可能性があるが、一般的に生着率への影響はない。

骨髓液からの上清除去 作業手順書(例)

1. 必要な機器と器具類

- バッグ用遠心機
- 無菌接合機 TSCD
- チューブシーラー
- はかり
- 分離スタンド
- コッヘル
- スライドクランプ

2. 必要な滅菌資材ならびに医薬品類

- 分離バッグ(600mL, 1000mL)
- 連結管
- 操作アダプター
- シリンジ
- 注射針(18G)
- 生理食塩液
- ACD-A 液 またはヘパリン Na 5000 単位

3. 手順

- 処置指示書と患者情報、骨髓ドナー情報を照合し、作業記録書に記入する。
- 骨髓液の入った骨髓バッグを消毒してクリーンベンチ内に入れ、よく混和してサンプルを採取する。一部で細胞数のカウント①を、残りで血液型検査を行う。
- 重量②を測定する。
- 骨髓バッグと遠心用分離バッグを接合し、分離バッグ(600mL)に取り分ける。それに空の分離バッグ(600mL)を接合し、バケットに入れて重量を調整後、遠心分離する(遠心条件の目安は 20℃、500g、10 分)。
- 10%の ACD-A 添加生理食塩液を作成する(またはヘパリン Na 添加生理食塩液)。
- 遠心済み骨髓バッグの上清を分離スタンドで空バッグに移し、クランプ、シールする。
- 10%ACD 生食(またはヘパリン生食)を入れて細胞を浮遊させる。1 回洗浄で複数バッグに分けて遠心した場合は 1000mL 分離バッグにまとめる。
- 2 回洗浄が必要な場合は遠心、上清除去、10%ACD 生食をもう一度実施する。
- サンプルを採取し、細胞数をカウントする。
- 重量を測定する。
- 血漿除去骨髓液を登録し、患者ラベルを骨髓バッグに貼付する。
- 照合の読み合わせを行い出庫する。輸血管理システムに出庫登録する。

骨髓液の血漿除去 結果報告書

- 血縁ドナー
- 非血縁ドナー
- 1回洗浄
- 2回洗浄

<情報>

移植患者名 \_\_\_\_\_ 院内ID \_\_\_\_\_ バンクID \_\_\_\_\_

年齢 \_\_\_\_\_ 歳 性別 男・女 体重 \_\_\_\_\_ kg 病棟 \_\_\_\_\_

ABO血液型 \_\_\_\_\_ Rh \_\_\_\_\_ 不規則抗体 無・有 (抗 \_\_\_\_\_)

ドナー名 \_\_\_\_\_ 院内ID \_\_\_\_\_ バンクID \_\_\_\_\_

年齢 \_\_\_\_\_ 歳 性別 男・女 体重 \_\_\_\_\_ kg 病棟 \_\_\_\_\_

ABO血液型 \_\_\_\_\_ Rh \_\_\_\_\_ 不規則抗体 無・有 (抗 \_\_\_\_\_)

処理前骨髓液

①WBC \_\_\_\_\_  $\times 10^3$

②重量 \_\_\_\_\_ g

総有核細胞数 = \_\_\_\_\_  $\times 10^9$  = ③ \_\_\_\_\_  $\times 10^8$ /kg(患者体重)

処理後骨髓液

④WBC \_\_\_\_\_  $\times 10^3$

⑤重量 \_\_\_\_\_ g

総有核細胞数 = \_\_\_\_\_  $\times 10^9$  = ⑥ \_\_\_\_\_  $\times 10^8$ /kg(患者体重)

回収率 = ⑥/③ $\times 100$  = \_\_\_\_\_ %

特記事項 \_\_\_\_\_

処理担当者 \_\_\_\_\_ 処理日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

責任者 \_\_\_\_\_ 確認日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日



## 5. 凍結細胞の解凍・輸注の手順

### <目的>

#### 凍結細胞の解凍と輸注

### <適応>

1. 末梢血幹細胞移植
2. 骨髄移植
3. 臍帯血移植
4. ドナーリンパ球輸注(DLI)など

### <解説>

解凍時、細胞外の水分が細胞内より先に解け始め浸透圧が低下し、水分が細胞内へと流入して細胞が膨張して障害を受ける。また、固相から液相に移る場合に時間がかかると、「融解⇔凍結」の平衡状態が生じ、再氷晶形成が起こり、細胞障害がおこる。これらの障害を回避するには 37～40℃程度に保った恒温槽で急速に解凍することが必要である。この時、DMSO や HES などの凍害防止剤が含まれていると、浸透圧低下に伴う細胞内への水分流入が抑制される。その結果、細胞膨張による障害や細胞凝集による回収率の低下が抑えられる。解凍後、DMSO や HES を除くための希釈・洗浄操作を行うと、細胞の凝集塊ができて輸注が困難になったり、無視できない量の細胞損失が生じることが多い。これは浸透圧差などにより細胞が障害され、死細胞から析出した粘着性に富む DNA やフィブリン析出などによると考えられている。DMSO 投与による副作用は軽微であり、解凍後に短時間 DMSO などに暴露されても細胞障害は無視できる範囲なので、解凍後の洗浄操作は一般的に不要である<sup>1)</sup>。また、解凍時に凍結バッグの破損が見つかることがあるので、滅菌処理された外装バッグの中に入れて解凍することが望ましい。なお、一般的に DMSO は室温で細胞毒性があることが知られているので解凍後はなるべく早く患者に投与する。

DMSO の生体への毒性については、凍結解凍された造血幹細胞とともに投与された場合、アレルギー反応、低血圧、発疹、呼吸困難、腹痛、嘔気、下痢などが起こりうることが報告されている。凍結細胞中に赤血球が多く混入していた場合には、輸注後にヘモグロビン尿を来し、腎機能障害を起こす可能性がある。細胞小凝集塊による低酸素血症、容量負荷に伴う高血圧や頭痛、不整脈などが起こる可能性もある。DMSO の総量が患者体重当たり 10mL あるいは 1g を超える場合には、午前・午後あるいは 2 日に分けて輸注するほうが安全である。

なお、DMSO、HES、RPMI などの試薬は一般的には人体内投与などの臨床での使用は認められておらず、医師の裁量権のもとに使用されているのが現状である。なるべく COA (certificate of analysis) が添付される GMP grade またはそれに準じた製品の使用が望ましい。

<参考資料>

1. Rowley SD, et al: Effect of DMSO exposure without cryopreservation on hematopoietic progenitor cells. Bone Marrow Transplant. 1993; 11: 389-393
2. Branch DR, et al: Hematopoietic progenitor cells are resistant to dimethyl sulfoxide toxicity. Transfusion 1994; 34: 887-890

凍結細胞の解凍・輸注(臍帯血以外) 作業手順書(例)

※臍帯血移植では臍帯血バンクの指針に従うこと。

1. 必要な機器と機材

トレイ 1 個、恒温器 1 台、温度計 1 本、心電図モニター、非観血的動脈酸素濃度モニター(ベッドサイド)、血圧計(ベッドサイド)

2. 必要なキット類など

ビニール袋(大) 1 枚、滅菌保護袋 輸注バッグ数分、キムタオル 1~2 枚、細胞生存率測定セット、赤血球輸血セット(ベッドサイド)

3. 事前準備

- 解凍するバッグの保管場所と数を確認する。
- 患者に最も近い(中心)静脈ライン接続部に生食でプライミングした赤血球輸血セットを接続する。
- 患者に心電図モニターと非観血的酸素モニターを装着する。

4. 解凍処理操作

- 患者の準備ができていることを確認したうえで、担当医は該当の細胞を 1 バッグずつ取り出し解凍する。介助者は金属キャニスターに入ったバッグを患者氏名と採取日を確認して1つ取り出し、担当医が持ったビニール袋に入れる。担当医はビニール袋ごと完全に恒温槽につけ、周囲が少し解けた時点で速やかにビニールを取り出して、キャニスターから細胞の入ったバッグを取り出し、滅菌保護袋に移し、再度袋ごと完全に恒温槽につけシャーベット状になるまで急速にほぼ完全に解かす。
- 担当医は、細胞の入った袋の外観を観察し、液漏れなどが無いことを確認し、袋の水滴をキムタオルで拭き取り、速やかにベッドサイドに細胞を持って行く。
- 担当医は、ベッドサイドで、細胞の入った袋のラベルの患者およびドナー氏名、採取日などを患者・家族および看護師と声出し照合し、赤血球輸血セットを用いて経静脈的に輸注を開始する。
- 初め 5 分はゆっくりとバイタルサインを観察しながら投与し、問題がなければ投与速度を上げ、100mL を 10~15 分で投与する。
- 以上の操作を輸注バッグ分繰り返す。
- 介助者は、担当医が解凍している間に、キャニスターに貼付してあるバーコードによりコンピューター照合をする。また、保管場所にチェックを入れ、取り出したことを記録する。
- 輸注バッグが返却されたら、バッグ内の細胞液を回収し細胞生存率を測定する。すなわち、バッグ内に残っている細胞液を 2.5ml シリンジで回収し、トリパンブルー染色液で 100~200 倍希釈し、以下の式に従って細胞生存率を算出する。細胞生存率が 50%以下であった場合は、管理責任者に報告する。

$$\text{生存率(\%)} = [\text{生細胞数} \div (\text{生細胞数} + \text{死細胞数})] \times 100$$

解凍・輸注 結果報告書

- PBSC 輸注 (自家・血縁同種・非血縁同種)
- 骨髄輸注 (自家・血縁同種・非血縁同種)
- CB 輸注
- DLI 輸注 (非血縁・血縁)

<情報>

移植患者名 \_\_\_\_\_ 院内 ID \_\_\_\_\_ バンク ID \_\_\_\_\_

年齢 \_\_\_\_\_ 歳 性別 男・女 体重 \_\_\_\_\_ kg 病棟 \_\_\_\_\_

ABO 血液型 \_\_\_\_\_ Rh \_\_\_\_\_ 不規則抗体 無・有 (抗 \_\_\_\_\_)

ドナー名 \_\_\_\_\_ 院内 ID \_\_\_\_\_ バンク ID \_\_\_\_\_

年齢 \_\_\_\_\_ 歳 性別 男・女 体重 \_\_\_\_\_ kg 病棟 \_\_\_\_\_

ABO 血液型 \_\_\_\_\_ Rh \_\_\_\_\_ 不規則抗体 無・有 (抗 \_\_\_\_\_)

製剤種類	採取日	製造番号	輸注日	生存率 (%)	外観・備考など

総輸注量 = \_\_\_\_\_ mL

総有核細胞数 = \_\_\_\_\_ x10<sup>9</sup> = \_\_\_\_\_ x10<sup>8</sup>/kg(患者体重)

総 CD34 陽性細胞数 = \_\_\_\_\_ x10<sup>8</sup> = \_\_\_\_\_ x10<sup>6</sup>/kg(患者体重)

特記事項 \_\_\_\_\_

処理担当者 \_\_\_\_\_ 処理日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

責任者 \_\_\_\_\_ 確認日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日