

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患等政策研究事業（免疫アレルギー疾患等政策研究事業（移植医療基盤整備研究分野））））  
分担研究報告書

造血幹細胞採取の効率化・適正化に関する研究

研究分担者 上田恭典

公益財団法人 大原記念倉敷中央医療機構 倉敷中央病院  
血液内科・血液治療センター 外来化学療法センター 主任部長

研究要旨

非血縁者間末梢血幹細胞移植（URPBSCT）数は緩徐ながら増加傾向にあり、2016年には200例を超えた。2016年10月11日時点での骨髄バンクでの末梢血幹細胞採取は231件で、1日で採取終了は196件、2日採取例は35件、総採取CD34陽性細胞数の平均値はそれぞれ、 $5.48 \times 10^6/\text{kg}$ （患者体重）、 $2.94 \times 10^6/\text{kg}$ であり、2日採取でも $1 \times 10^6/\text{kg}$ に満たなかったのは2例のみであった。血液処理量の中央値は、1回の採取当たりおおむね200ml/kg（ドナー体重）であった。採取に要した時間の中央値は、1回採取245分、2回採取434分、2日採取を要したドナーの割合は4日目採取開始で17%、5日目開始で14%であった。当院では50ml/kg処理時に採取CD34陽性細胞数を測定し、血液処理量を決定しているが、Spectra Optiaで4日目に採取した血縁ドナー31例は、全例1日で終了し、中央値で採取CD34陽性細胞 $4.4 \times 10^6/\text{kg}$ 血液処理量133.9ml/kg、採取時間171分と、骨髄バンクでの報告より短時間で同程度のCD34陽性細胞が採取可能であった。骨髄バンクでの末梢血幹細胞採取は、おおむね順調に患者への幹細胞提供が行われているが、採取CD34陽性細胞を採取中に測定し血液処理量を決定することで、ドナーの負担を大幅に軽減出来る可能性がある。

A. 研究目的

末梢血幹細胞採取（PBSCH）はドナーに連日G-CSFを投与し、通常4日目ないし5日目に、遠心式血液成分分離装置で幹細胞採取を行い、不十分であれば翌日も採取を繰り返す。特にボランティアドナーから採取し、採取施設と移植施設が異なる非血縁者間の採取においては、採取方法を標準化し、できる限り1日で採取が終了出来るような設定を行うことは重要である。我々は昨年までの検討で、採取途中に採取CD34陽性細胞数を測定することで、目標血液処理量の設定が可能になることを示してきたが、今年度は骨髄バンクでのURPBSCTが200例を超えた機会に、非血縁ドナーからのPBSCHの現状を把握するとともに、PBSCHにおいて、ドナーの負担を減らし、1日で採取が終了する件数を増加させるための方策について、採取後血液処理量が約50ml/kgのところ、CD34陽性細胞数を測定し、当日の最終処理量を決定する我々の施設の方法と比較しながら検討した。

B. 研究方法

骨髄バンクで、2016年10月11日までに、末梢

血幹細胞移植が行われた231例について、採取施設から骨髄バンクへの報告書に基づいて得られた患者体重、ドナーの体重、性別、採取開始日、採取所要時間、血液処理量、採取CD34陽性細胞数などのDataより、そのドナーの対象患者あたりの採取CD34陽性細胞数の分布、血液処理量、採取所要時間の分布、Poor mobilizerの数、血液処理量を増加させた場合にどの程度のCD34陽性細胞採取が採取可能かについて調査した。また、自施設で、血縁ドナーからのSpectra Optiaを用いたPBSCHにおいて、採取開始後血液処理量50ml/kg（ドナー体重）時点でのCD34陽性採取量（/患者体重）に基づいて、当日の血液処理量を決定する方法で採取を行った31例について、同様の検討を行い、骨髄バンク採取の場合と比較した。

C. 研究結果

1日で採取が終了した196例の集計を表1-a、2日採取を要した36例の集計を表1-bに示した。1日で終了した場合の採取CD34陽性細胞数の中央値は、 $5.48 \times 10^6/\text{kg}$ （患者体重）、2日採取の中央値は $2.94 \times 10^6/\text{kg}$ であった。2日間採取してもCD34

陽性細胞数が  $1.0 \times 10^6/\text{kg}$  未満の例は 2 例のみであった。G-CSF 投与開始 4 日目に採取を開始した場合と 5 日目に採取を開始した場合の 1 日目の採取量を表 2 に示した。5 日目採取開始例は 22.2% であった。初日の採取量の中央値は 5 日目採取のほうが多かったが、2 日間採取を要したドナーの割合は、4 日目開始 17%、5 日目開始 14% と大きな差はなかった。

表 1-a 骨髄バンクPBDドナー  
1回採取196例の採取状況

	中央値(最小値-最大値)
総処理血液量(ml)	12529 (5490 - 20369)
総処理血液量/ドナー体重(ml/kg)	197 (84 - 276)
総処理血液量/患者体重(ml/kg)	207 (56 - 582)
採取血液量(ml)	205 (60 - 500)
CD34陽性細胞絶対数( $10^6$ )	2.77 (0.92 - 11.44)
CD34陽性細胞数( $\times 10^6$ /患者体重kg)	4.57 (1.33 - 21.4)
CD34陽性細胞数 $4.0 \times 10^6/\text{kg}$ に必要な推定総処理血液量/ドナー体重(ml/kg)	161 (34 - 556)
血小板(採取前)( $\times 10^9/\mu\text{l}$ )	20.4 (12.0 - 40.0)
血小板(採取後)( $\times 10^9/\mu\text{l}$ )	12.7 (4.9 - 30.3)
CD34陽性細胞数 $4.0 \times 10^6/\text{kg}$ 採取した場合の血小板推定値( $\times 10^9/\mu\text{l}$ )	13.3 (2.0 - 32.0)

表 1-b 骨髄バンクPBDドナー  
2日間採取35例の採取状況

	2回目採取の1日目 中央値(最小値-最大値)	2回目採取の2日目 中央値(最小値-最大値)
総処理血液量(ml)	12026 (5398 - 18000)	10265 (3930 - 15042)
総処理血液量/ドナー体重(ml/kg)	200 (87 - 250)	185 (82 - 261)
総処理血液量/患者体重(ml/kg)	190 (65 - 273)	168 (55 - 286)
採取血液量(ml)	177 (50 - 396)	160 (59 - 359)
CD34陽性細胞絶対数( $10^6$ )	0.73 (0.06 - 1.30)	1.10 (0.14 - 5.44)
CD34陽性細胞絶対数( $\times 10^6$ /患者体重kg)	1.10 (0.11 - 1.83)	1.50 (0.29 - 9.38)
CD34陽性細胞数 $2.0 \times 10^6/\text{kg}$ に必要な推定総処理血液量/ドナー体重(ml/kg)	329 (100 - 4391)	206 (32 - 1803)
血小板(採取前)( $\times 10^9/\mu\text{l}$ )	19.8 (12.6 - 25.6)	14.6 (6.0 - 19.2)
血小板(採取後)( $\times 10^9/\mu\text{l}$ )	13.4 (6.1 - 20.4)	10.2 (5.0 - 16.9)
CD34陽性細胞数 $2.0 \times 10^6/\text{kg}$ 採取した場合の血小板推定値( $\times 10^9/\mu\text{l}$ )	8.4 (0.1 - 19.4)	9.3 (1.8 - 16.1)

表 2 採取開始日と、採取1日目の  
CD34陽性細胞数( $\times 10^6$ /患者体重kg)

G-CSF投与後	中央値 (最小値-最大値)	第1四分位 第3四分位	平均値	症例数 (うち2回採取)
4日目採取	3.82 (0.11 - 21.4)	2.21 - 6.18	4.57	175 (30)
5日目採取	5.30 (0.76 - 13.9)	2.86 - 7.67	5.58	50 (7)

処理総血液量を表 3 に示す。1 日目の採取も 2 日を要した場合の採取も、1 回の採取量の中央値は 200ml/kg であり、骨髄バンクの PBSCH に関する

マニュアルに記載された標準的血液処理量が意識されていることがわかる。表 4 に採取に要した時間をまとめたが、中央値は 1 日で採取が終了した場合 245 分、2 日に及んだ場合 434 分かかっており長時間の採取を受けていた。一方当院で Spectra Optia を用いて、G-CSF 開始 4 日目で行われた、31 例の血縁ドナーからの、50ml/kg 処理時の CD34 陽性細胞採取量を基に当日の最終血液処理量を決定する方法で行われた PBSCH においては全例が 1 日採取で終了しており、採取 CD34 陽性細胞数は、 $4.4 \times 10^6/\text{kg}$ 、血液処理量 133.9ml/kg、採取時間 171 分であった。(表 5)

表 3 総血液処理量

	総処理血液量/ドナー体重(ml/kg) 中央値(最小値-最大値)	症例数
1回のみ採取	197 (84 - 276)	196
2回採取 1日目	200 (65 - 273)	35
2回採取 2日目	185 (82 - 261)	35

表 4 バンクドナー採取時間

	中央値 (最小値-最大値)	第1四分位 第3四分位	平均値	症例数
1回のみ採取	245 (120 - 470)	213 - 284	248	185
2回採取 1日目	229 (164 - 368)	200 - 257	233	33
2回採取 2日目	210 (127 - 360)	189 - 247	219	33
2回採取 合計	434 (370 - 608)	406 - 508	454	32

#### D. 考察

今回の検討では、2 日間採取で  $1 \times 10^6/\text{kg}$  未満しか採取できなかった例は 2 例のみであり、凍結保存せず採取に引き続いて移植する現在の方法は、レシピエントへの幹細胞提供という面では、問題は生じていないと思われる。一方、231 例中 35 例 15.1% の例が 2 日間採取を要した。血液処理量に比例して採取 CD34 陽性細胞数が増加すると仮定した場合、1 日目の採取 CD34 陽性細胞数が  $2 \times 10^6/\text{kg}$  未満の 38 例について個別に検討した結果

を表6に示す。すなわち、血液処理量を非血縁ドナーの上限である250ml/kgまで増加させると7例、血縁ドナーの上限とされる300ml/kgまで増加させると15例が1日で採取終了可能となる。また、表5に示したように自施設の方法での検討では、全例が1日採取で終了しており、採取CD34陽性細胞数は骨髄バンクの結果とほぼ同程度であるが、処理血液量は約7割、採取時間は約6割であった。これは採取CD34陽性細胞数を途中で測定することで、十分採取できている場合に、適切な時期に採取を終了することが可能であったためと思われる。骨髄採取での採取中の有核細胞数測定と同様に、採取CD34陽性細胞を採取中に測定し血液処理量を決定することで、不必要な長時間採取を行わず、不必要な2日間採取を減らすことが可能となると思われる。

表6 1日目CD34陽性細胞数 $2 \times 10^6$ /患者体重(kg)未達の38例が血液処理量を増した場合の想定

CD34陽性細胞数 ( $\times 10^6$ /患者体重kg)	中央値 (最小値-最大値)	第1四分位数 -第3四分位数	平均値	症例数 (うち2回採取)
$2.0 \times 10^6$ /kg未達の症例	1.14 (0.11-1.92)	0.84-1.34	1.11	38(35)



CD34陽性細胞数( $\times 10^6$ /患者体重kg)	総処理量/ドナー体重(ml/kg)を下記とした場合		
	250ml/kg	300ml/kg	350ml/kg
$1.5 \times 10^6$ /kg以上となる症例数	21	27	30
$2.0 \times 10^6$ /kg以上となる症例数	7	15	22

## E. 結論

骨髄バンクでの末梢血幹細胞採取は、おおむね順調に患者への幹細胞提供が行われているが、採取CD34陽性細胞を採取中に測定し血液処理量を決定することで、ドナーの負担を大幅に軽減出来る可能性がある。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Yokoyama H, Kanda J, Fuji S, Kim SW, Fukuda T, Najima Y, Ohno H, Uchida N, Ueda Y, Eto T, Iwato K, Kobayashi H, Ozawa Y, Kondo T, Ichinohe T, Atsuta Y, Kanda Y; HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of Human Leukocyte Antigen Allele

Mismatch in Unrelated Bone Marrow Transplantation with Reduced-Intensity Conditioning Regimen. Biol Blood Marrow Transplant. 2017 Feb;23(2):300-309. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.11.009. Epub 2016 Nov 11.

- 2) Yasuda T, Tsuzuki S, Kawazu M, Hayakawa F, Kojima S, Ueno T, Imoto N, Kohsaka S, Kunita A, Doi K, Sakura T, Yujiri T, Kondo E, Fujimaki K, Ueda Y, Aoyama Y, Ohtake S, Takita J, Sai E, Taniwaki M, Kurokawa M, Morishita S, Fukayama M, Kiyoi H, Miyazaki Y, Naoe T, Mano H. Recurrent DUX4 fusions in B cell acute lymphoblastic leukemia of adolescents and young adults. Nat Genet. 2016 May;48(5):569-74. doi: 10.1038/ng.3535. Epub 2016 Mar 28.
- 3) Miyakawa Y, Imada K, Ichinohe T, Nishio K, Abe T, Murata M, Ueda Y, Fujimura Y, Matsumoto M, Okamoto S. Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy. Int J Hematol. 2016 Aug;104(2):228-35. doi: 10.1007/s12185-016-2019-x. Epub 2016 May 17.
- 4) Sumiko Kobayashia, Yasunori Ueda., Yasuhiro Annaya, Hirohiko Shibayama, Hideto Thmurae, Kiyoyuki Ogatae'f, Yoshiki Akatsukag, Kensuke Usukih, Ybshikazuloi, Masaya Okada, Thka HiroSuzukil, TbmokoHatal, Akira Matsudam, KamTbhyaman, MjiKakumotoo, DaisukeKogap, KinukoMitaniq, TbmokiNaoer's, Haruo Sugiyamat andFUmimaroTakakuu. Prognostic significance of Wilms tumor 1 mRNA expression levels in peripheral blood and bone marrow in patients with myelodysplastic syndrome. Cancer Biomarkers 17 (2016) 21-32.
- 5) 上田恭典 36 血液製剤の使用指針 Emergency Care 2017年新春増刊(通巻382号)看護師・研修医必携 救急・ICUですぐに役立つガイドラインこれだけBOOK 株式会社メディカ出版 pp224-229.
- 6) 上田恭典 Ph陽性急性リンパ性白血病 日本臨牀74(10)p.264-269 白血病学(下)最新

の基礎、臨床研究 日本臨牀社

- 7) 上田恭典 1後天性TTP 1)診断 血栓性微小血管症(TMA)診断・治療実践マニュアル 宮川義隆編 2016年 p.20-30 医薬ジャーナル社
  - 8) 上田恭典 造血幹細胞移植 血栓と循環 vol 24.No.1pp. 53-58 2016-7 メディカルレビュー社
- 2.学会発表
- 1) 上田恭典 Q&A(細胞取扱いテキストに準じて) 第64回日本輸血・細胞治療学会総会 京都 テクニカルセミナー
  - 2) 上田恭典 血小板減少症とADAMTS13 第23回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム 金沢 ランチョンセミナー
  - 3) 上田恭典 血栓性微小血管症(TMA)に対する

アフエレスス 第27回日本急性血液浄化学会 学術集会 東京 シンポジウム

- 4) 上田恭典 末梢血幹細胞採取における安全性確保とメディカルスタッフの役割 第37回日本アフエレスス学会学術大会 横浜 ワークショップ
- 5) 上田恭典 自験例から見たわが国における非血縁者間同種末梢血幹細胞移植について 第39回日本造血細胞移植学会総会 島根 ワークショップ

H.知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)  
なし