

第11回新潟自己造血幹細胞 移植研究会

日 時 平成9年1月24日(金)
午後6時～8時
会 場 新潟大学医学部
有壬記念館 2F

一 般 演 題

1) (Technical Report) MethoCult および ProCOUNT による末梢血造血幹細胞の 評価

岸 賢治・塚田 信弘
丸山 聡一・鳥羽 健
成田美和子・青木 定夫
相沢 義房 (新潟大学第一内科)
井藤ヒロミ・高橋 芳右 (同 輸血部)

悪性腫瘍の自己造血細胞移植 (ABCT) 併用化学療法の際には、十分量の造血幹細胞 (HSC) の輸注が必要とされるが、末梢血幹細胞を用いた場合、採取時期により HSC の保存量に変動が多く、そのため従来より採取末梢血の CD34 および in vitro colony 形成能の検討が必要である。これらの検査の標準化を目的とした測定キットが市販されていることから、これらの実際の方法及び成績について検討を行った。

材料及び方法：CD34 細胞絶対数の測定には、ProCOUNT™ (Becton Dickinson) を用い、新鮮細胞および凍結細胞について検討した。解凍細胞における非特異的結合を排除するため、25% human albumin 製剤あるいは免疫グロブリン製剤 (Venoglobulin IH) を用いて前孵置後、同様の labeling を行った。colony 形成能は MethoCult™ GF+H4435 (0.9% methyl-cellulose, 10^{-4} M mercaptoethanol, 2 mM 1-glutamine, 30% fetal bovine serum, 3 U/ml rh Erythropoietin, 50 ng/ml rh stem cell factor, 20 ng/ml rhGM-CSF, 20 ng/ml rhIL-3, 20 ng/ml rhIL-6, 20 ng/ml G-CSF 含む, Stem Cell Technologies Inc., Veritas) を用い、解凍した保存末梢血を培養液にて 100~300 倍に希釈し ($2-4 \times 10^5$ /ml), MethoCult 4 ml に対し 0.4 ml 添加し、35 mm 培養皿あたり 1.1 ml を培養した。培養12日に倒立顕微鏡下に CFU-GM, BFU-E, CFU-Emix を測定した。

成績：従来からの方法による CD34 細胞数測定と従来法による CFU 形成の比較では、CFU-GM, CFU-GM+CFU-Emix 各々と CD34 との間に一次相関を認め、

CD34/CFU 比率で各々 4.4, 4.2 であった。MethoCult 法による培養においても、これらの比率はほぼ同様であった。これに対し、ProCOUNT により測定した CD34 数と CFU 形成の比率では、CD34/CFU-GM=3.5, CD34/(CFU-GM+CFU-Emix)=3.3 となり (n=3)、従来の方法による CD34 測定に比較して ProCOUNT による方法は非特異的結合による誤差を排除できると考えられた。一方、凍結保存末梢血を用いた ProCOUNT による CD34 測定は抗体の非特異的結合が強く、特に block 蛋白を加えない場合、著しい誤差を生じた。これによって得られた CD34 数は上述新鮮細胞による測定の 3~4 倍となった。これを避ける方法を検討のため蛋白を添加してみたが、albumin の添加により非特異的結合は約 1/2 に減少したに留まり、非特異的結合は排除できなかった。

結論：MethoCult による CFU 測定は比較的容易で、従来の方法とはほぼ同様のコロニー形成を示した。ProCOUNT による CD34 測定は新鮮材料では非特異的結合を排除することができ定量性に優れていたが、凍結保存サンプルの解凍後では非特異的結合が強く解析は困難であった。

2) 小細胞肺癌に対する PBSCT 併用 cyclic dose intensive chemotherapy

—特に採取末梢血幹細胞に関して—

若林 昌哉・高橋 正明
田中 純太・田中 洋史
吉澤 弘久・鈴木 栄一
荒川 正昭 (新潟大学第二内科)
土屋 俊晶 (国療西新潟中央
病院内科)
丸山 佳重 (燕労災病院内科)

治療早期より従来の化学療法より高い dose intensity (DI) が得られる可能性を考え、末梢血幹細胞移植 (PBSCT) を cyclic に併用した、cyclic dose intensive chemotherapy の dose escalation study を小細胞肺癌 (SCLC) ED 症例を対象に開始した。3日間の ICE (Ifosphamide: IFX, Carboplatin: CBDCA, Etoposide: VP-16) regimen による化学療法後、G-CSF 下の骨髄回復期に、Fresenius 社の AS-104 を用いて末梢血幹細胞採取 (PBSCC) を行い、凍結保存した。2 コース目以降は PBSCC 終了後、可能な限り早急に同じ regimen を行い、終了翌日に PBSCT を行った。治療は 4~6 コースとし、IFX を主に dose escalation を行い、現在 level 4 が進行中である。これまでに15症例が entry