

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

され、level 3 までの12症例で、dose limiting toxicity (DLT) は認めなかった。全例 PS を下げることなく、約16日の interval で治療を進めることができた。level 4 では 30g/body/M 前後の IFX を使用しているが、一部の症例では軽度の中樞神経症状などの非血液毒性が出現しており、maximum tolerable dose (MTD) に近づいている可能性が考えられる。entry された15例に対して、計約 140 回の PBSCC と60数回の PBST を安全に行うことが出来た。Sysmex 社の自動血球分析装置 SE-9000 で検出される Immature Information (以下 IMI) %を採取日の末梢血を用いて測定し、末梢血幹細胞 (PBSC) 中の CD34 及び CFU-GM との相関を検討した。採取された PBSC に関しては大塚アッセイ研究所との共同研究で、採取時の PBSC 中の CD34⁺45^{dim} を測定した。凍結解凍後の PBSC についても 7-AAD を用いて死細胞分画を除いた CD34 陽性率を測定した。ほとんどの cycle で $1 \times 10^5/\text{kg}$ 以上の CFU-GM が採取可能であった。末梢血中の IMI %と得られた PBSC 中の凍結前の CD34 陽性率、CFU-GM は共に高い相関を示し、PBSC の評価に有用と考えられた。凍結解凍した PBSC を用いた CD34 陽性率と CFU-GM も高い相関を示し、凍結検体においても CD34 陽性率は得られた CFU-GM 数の予測に有用と考えられた。

3) 限局型小細胞性肺癌 (LD-SCLC) に対する自己末梢血幹細胞移植併用大量化学療法

竹内 学・市川 喜一
石黒 卓朗・塚田 裕子
三間 聡・張 高明 (新潟県立がんセン)
横山 晶・栗田 雄三 (ター病院内科)

【目的】LD-SCLC に対する標準的治療に末梢血幹細胞移植 (PBST) 併用大量化学療法を追加することの有効性と安全性の検討。

【対象と方法】PS 0-2, 65歳未満の LD-SCLC の未治療例に対し、導入化学療法は、CDDP (60 mg/m², day 1)+VP-16 (120 mg/m², day 1-3) を4コース施行し、1コース目に同時胸部照射 (45 Gy/30 fx) を併用した。末梢血幹細胞 (PBSC) は G-CSF (50~100 μg/m², sc) 併用によって2コース目以降の骨髓機能回復期に採取した。先行する導入化学療法で CR あるいは縮小率90%以上の PR が得られ、PS 0-1 で十分量の PBSC が採取された症例に対し、CBDCA (400 mg/m²×4)+VP-16 (400 mg/m²×4)+IFX (2 g/m²×4) による大量化学療法を実施し、48時間後に PBST を施行した。

【結果】LD 9例が登録された。全例で PBST に十分な PBSC (CFU-GM> $1 \times 10^5/\text{kg}$) が採取された。大量化学療法は5例で実施中であるが、血液毒性としては、grade 4 の白血球減少、血小板減少が認められるが、回復は速やかであり、その他の重篤な副作用も認められていない。

【結論】化学療法+同時放射線療法後でも PBSC は必要十分量採取可能であった。今後 JCOG 多施設共同研究として、LD-SCLC に対する PBST 併用大量化学療法の効果を検討する予定である。

4) 進行/再発肺癌に対する自己造血幹細胞移植併用大量化学療法

石黒 卓朗・竹内 学 (新潟県立がんセン)
張 高明 (ター病院内科)
牧野 春彦・佐野 宗明 (同 外科)

【はじめに】当院での進行/再発肺癌に対する造血幹細胞移植併用大量化学療法の成績について報告する。

【対象】肺癌手術時に腋下リンパ節転移10個以上の予後不良例 (A群): 16例, 手術時遠隔転移陽性の症例・遠隔転移再発例 (B群): 7例の計23例。年齢: 29~68歳。

【方法】導入化学療法: CAF (CPM: 500 mg/m², 5-FU: 500 mg/m², ADM: 40 mg/m²)×6コース。自家骨髓細胞は化学療法開始前に採取。自家末梢血幹細胞は CAF 1コース後に G-CSF を使用して採取。大量化学療法: A群は CPM (6,000 mg/m²)+Thio-TEPA (600 mg/m²), B群は CPM (6,000 mg/m²)+Thio-TEPA (600 mg/m²)+CBDCA (800 mg/m²) を実施。

【結果】23例中22例で移植十分量の末梢血幹細胞が採取可能であった。(CFU-GM: $1 \times 10^5/\text{kg}$ 以上)。大量化学療法は16例に実施した。骨髓機能回復は好中球数 500以上に9.5 (8~11) 日, 血小板数3万以上に15.2 (8~27) 日と迅速であり, 重篤な非血液毒性は認められなかった。大量化学療法後, A群10例では2例が再発し, B群5例では全例が再発した。

【考察】肺癌症例において標準化学療法である CAF 療法に G-CSF を併用する動員法によって移植十分量の末梢血幹細胞採取が可能であり, 大量化学療法は安全に実施可能であった。今後, 無作為割付臨床試験による従来の化学療法と大量化学療法の臨床効果の比較を含め, 肺癌治療における大量化学療法の意義の確立が急務である。