

原 著

## 末梢血幹細胞採取・保存の効率化の検討

平松 靖史<sup>1,2)</sup> 角南 一貴<sup>2)</sup> 前田 嘉信<sup>1,2)</sup> 藤井 伸治<sup>1,2)</sup>  
別所 昭宏<sup>3)</sup> 浅野 尚美<sup>1)</sup> 小郷 博昭<sup>1)</sup> 竹中 克斗<sup>2)</sup>  
品川 克至<sup>2)</sup> 池田 和真<sup>1,2)</sup> 原田 実根<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>岡山大学医学部附属病院輸血部

<sup>2)</sup>同 第2内科

<sup>3)</sup>岡山労災病院内科

(平成11年8月13日受付)

(平成11年11月1日受理)

### RETROSPECTIVE ANALYSIS ON TIME REQUIREMENTS AND COST EFFECTIVENESS OF COLLECTION AND CRYOPRESERVATION OF AUTOLOGOUS BLOOD STEM CELLS

Yasushi Hiramatsu<sup>1,2)</sup>, Kazutaka Sunami<sup>2)</sup>, Yoshinobu Maeda<sup>1,2)</sup>, Nobuharu Fujii<sup>1,2)</sup>,  
Akihiro Bessho<sup>3)</sup>, Naomi Asano<sup>1)</sup>, Hiroaki Ogo<sup>1)</sup>, Katsuto Takenaka<sup>2)</sup>,  
Katsuji Shinagawa<sup>2)</sup>, Kazuma Ikeda<sup>1,2)</sup> and Mine Harada<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Blood Transfusion, Okayama University Hospital

<sup>2)</sup>Second Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

<sup>3)</sup>Internal Medicine, Okayama Rosai Hospital

Autologous blood stem cell transplantation ( auto-PBSCT ) has increasingly been incorporated into the treatment of various malignancies. Auto- PBSCT provides several advantages over auto-BMT, but sometimes requires several collections of PBSC. We have retrospectively analyzed the time requirements and cost effectiveness of PBSC collection in Okayama University Hospital between 1994 and 1997, in which PBSCs were mobilized by chemotherapy and granulocyte colony-stimulating factor in 85 patients. During the 1994 ~ 1995 period, PBSCs were collected by apheresis, which was timed by leukocyte count and carried out by attending physicians, and cryopreserved at  $< 5 \times 10^7$  cells/*mI* concentrations. During 1996 ~ 1997, PBSC harvests, in which the number of apheresis was adjusted by the number of CD34<sup>+</sup> cells collected at each harvest, were predicted by circulating immature myeloid cell count, and carried out by personnel of the Division of Blood Transfusion. Collected cells were cryopreserved at  $< 1 \times 10^8$  cells/*mI*. From the 1994 ~ 1995 to 1996 ~ 1997 periods, the average number of apheresis, the number of cryopreserved bags, and the time and cost required for aphereses and cryopreservation decreased from 3.5 to 1.4 aphereses, from 12.1 to 4.5 bags, from 13.6 to 7.1 hours and from 317 to 113 thousand yen per patient, respectively. Our experience suggests that the time requirements and cost effectiveness of PBSC harvest may be improved with precisely timed apheresis by skilled personnel and with appropriately defined cryopreservation.

**Key words** : PBSC, harvest, cost effectiveness

はじめに

自己末梢血幹細胞移植 ( autologous peripheral

blood stem cell transplantation : auto-PBSCT )

は, 自家骨髄移植 ( autologous bone marrow trans-

plantation : auto-BMT ) と比較して、全身麻酔が不要であるだけでなく造血機能の回復がより速やかである .そのため、1) 抗菌剤使用量の減少、2) 輸血量の減少、3) 入院期間の短縮が得られ、費用の面からも auto BMT と比べて優れていることが示されている<sup>1-4)</sup>. auto-PBSC は、我が国では1994年に保険診療の承認が得られ、急速に普及しつつある .しかしながら、速やかな造血回復を得るためには複数回の末梢血幹細胞 (peripheral blood stem cells : PBSC) 採取が必要となることがあり、患者の負担および費用の面から効率よく採取することが重要である .当院では1994年度よりPBSC採取を行っているが、1996年度から原則として輸血部が採取と保存を一括管理している .今回、我々は現在までの取り組みを検証し、PBSC採取、保存の効率化をさらに図るために、輸血部の一括管理開始前後でPBSC採取、保存に要した費用、時間および回数を retrospective に比較検討した .

## 対象と方法

### 1 . 対象

1994年度から1997年度までの4年間に岡山大学医学部附属病院で自己PBSC採取を行った成人85例 (採取回数180) を対象とした .

対象疾患と症例数は悪性リンパ腫38例、急性白血病9例、肺癌13例、卵巣癌7例、骨髄腫5例、その他13例である (Table 1) .

### 2 . PBSC 動員、採取および保存方法

PBSCの動員は各疾患ごとに施行された化学療法後の造血回復期に顆粒球コロニー刺激因子 (granulocyte colony-stimulating factor ,G-CSF) を

Table 1 Patient diagnoses

	1994	1995	1996	1997
Total no. of patients	11	17	30	27
Diagnosis				
Malignant lymphoma	7	7	15	9
Acute myeloid leukemia	0	5	1	2
Acute lymphoid leukemia	0	0	0	1
Myeloma	2	0	2	1
Lung cancer	0	3	7	3
Breast cancer	0	1	0	4
Ovarian cancer	0	0	2	5
Testicular cancer	1	1	1	1
Ewing's sarcoma	0	0	0	1
Astrocytoma	0	0	1	0
Adult T cell leukemia	0	0	1	0
Choriocarcinoma	1	0	0	0

投与して行った .G-CSFの投与方法は急性白血病には $200\mu\text{g}/\text{m}^2$ のfilgrastimを静脈内投与し、悪性リンパ腫、骨髄腫には $50\mu\text{g}/\text{m}^2$ のfilgrastimを、その他の固形腫瘍には $2\mu\text{g}/\text{kg}$ のlenograstimを皮下投与した .PBSCの採取はCOBE Spectra (COBE Laboratories, Lakewood, CO)を用い、採血および返血は上腕の末梢静脈から行ったが、採取が困難な症例ではダブルルーメンカテーテルを中心静脈に挿入して行った .採血速度は $60\sim 100\text{ml}/\text{min}$ 、全血 : ACD比は $12\sim 17 : 1$ 、処理血液量は $150\text{ml}/\text{kg}$ とした .PBSCの保存はCP-1 (極東製薬、東京)と25%アルブミンを用い、 $-80^\circ\text{C}$ で凍結する簡易法<sup>5)</sup>で行った .採取したPBSC中の幹細胞測定はPE-labeled anti-CD34 (HPCA-2 : Becton Dickinson, San Jose, CA)とisotypeの一致したコントロール抗体を用いて単染色<sup>6)</sup>を行い、フローサイトメーターで解析した .

Table 2 Procedures for PBSC harvest and cryopreservation

	1994 1995	1996 1997
Harvest and cryopreservation by Indicator of the optimal timing for PBSC harvest	Attendant physicians WBC counts	Division of Blood T ransfusion CIC Apheresis was performed only if the yields of more than $2 \times 10^6/\text{kg}$ CD34 <sup>+</sup> cells could be expected
Maximum cell concentration on PBSC cryopreservation	$5 \times 10^7/\text{ml}$	$1 \times 10^8/\text{ml}$
Number of aphereses	2 or 3 harvests for all cases	Apheresis was repeated according to CD34 <sup>+</sup> cell yield determined immediately after PBSC harvest

Abbreviation : CIC, circulating immature cells

Table 3 Cost of PBSC harvest

	Price (yen)
1. Cost of apheresis	
COBE Spectra WHITE BLOOD CELL SET	32,760
COBE Spectra THERM BLOOD/FLUID WARMER SET	820
KAWASUMI BLOOD TRANSFER BAG	766
KAWASUMI connector S-1	70
16G puncture needle	250
18G puncture needle	250
normal saline (1000cc)	220
ACD-A solution (500cc + 250cc)	700 + 400 = 1,100
calcium gluconate (850mg × 6)	415
total	36,651
2. Cost of cryopreservation (per bag)	
Cryogenic Storage Container	4,625
RPMI 1640 (500ml)	130
CP-1 (100ml)	3,750
25% albumin (50cc)	4,514
total	13,019
3. Enumeration of CD34 <sup>+</sup> cells (per a specimen)	
PE-labeled control murine IgG1	700
PE-labeled anti-CD34 antibody (HPCA-2)	1,120
(When ordered by a reference laboratory)	10,000

**3. 1994～1995年および1996～1997年のPBSC採取・保存の比較**

1994～1995年および1996～1997年の採取・保存担当者、採取日の決定方法、追加採取の決定方法、凍結保存時の最大細胞濃度について Table 2 に示した。主な相違点として、1996年以降では、当日のCICの実測値に基づき至適採取日に採取したこと、PBSC凍結保存において最大凍結保存濃度を高めたことがあげられる。

**4. PBSC採取・保存に要した費用および時間の評価法**

採取・保存に要した費用および時間について以下のごとく評価した。

① 採取・保存に要した時間

採取時間の算定は、処理血液量(150ml/kg)に患者体重を乗じ、平均血液処理速度(75ml/min.)で割って行った。採取時間に採取準備(0.5時間)、凍結保存(1.5時間)および幹細胞測定(1時間)を加えて採取・保存に要した時間とした。

② 採取・保存および幹細胞測定費用

1回の採取、保存および幹細胞測定に必要で

あった費用の内訳を Table 3 に示す。各年度の採取保存に必要であった費用の計算を下記の方法で算出した。また、各年度の回数、費用の総数を症例数で割って1症例当たりの数値を算出した。

1症例の採取、保存にかかる費用

$$= \{ \text{年間採取回数} \times (A+B) + \text{年間保存バック数} \times (C) \} / \text{年間症例数}$$

A : 1回の採取費用 B : 1回の幹細胞測定費用

C : 1バッグの保存費用

**結 果**

**1. 採取症例数・採取回数と保存バック数**

採取症例数と採取回数は1994年度は11症例、43回、1995年度は17症例、56回、1996年は30症例、45回、1997年度は27症例、37回であった。採取症例数が増加傾向にあるにもかかわらず、年間の採取回数は減少傾向を示した。1症例当たり必要であった採取回数、保存バック数は1994～1995年度の3.5回、12.1バックから1996～1997年度の1.4回、4.5バックと有意に減少していた ( $p < .0001$   $p < .0001$ ) (Table 4)。

Table 4 Per-patient analysis of time and cost effectiveness of PBSC harvest and cryopreservation

Year	No. of cases	No. of aphereses	No. of cryopreserved bags	Total hours	Total cost (thousand yen)
1994	11	3.9	11.3	14.8	323
1995	17	3.3	12.6	12.7	312
(1994 1995)	28	3.5	12.1	13.6	317)
1996	30	1.5	5.1	7.4	122
1997	27	1.4	4.0	6.8	102
(1996 1997)	57	1.4 *	4.5 **	7.1 ***	113) ***

Comparison with 1994 1995 value by Wilcoxon signed-ranks test \* p < .0001 \*\* p < .0001

\*\*\* p < .0001 \*\*\*\* p < .0001

Table 5 Rate of engraftment during the periods of 1994 1995 and 1996 1997

	1994 1995 (n = 24)	1996 1997 (n = 24)	P value*
Maximum cell concentration on cryopreservation	5 × 10 <sup>7</sup> /ml	1 × 10 <sup>8</sup> /ml	
Infused CD34 + cells × 10 <sup>6</sup> /kg	10.3 (1.8 12.2)	4.6 (1.7 12.2)	0.12
Recovery to ANC > 0.5 × 10 <sup>9</sup> /L (day)	9 (8 12)	10 (8 11)	0.26
Recovery to platelets > 50 × 10 <sup>9</sup> /L (day)	15 (10 21)	19 (9 42)	0.74
Recovery to reticulocytes > 1.0% (day)	15 (10 35)	14 (10 22)	0.09

Median (range) \*Rank Sum Mann Whitney

Abbreviation : ANC, absolute neutrophil count

## 2. 採取・保存処理時間及び費用

年度別の採取・保存処理時間および費用を Table 4 に示す。1 症例あたりに要する時間を 1994 ~ 1995 年度と 1996 ~ 1997 年度で比較すると、13.6 時間と 7.1 時間で有意に減少していた (p < .0001)。年度別の採取・保存費用の合計金額は 1994 年度が 356 万円, 1995 年度が 530 万円, 1996 年度が 366 万円, 1997 年度が 276 万円と 1995 年度をピークに減少した。1 症例あたりの費用の平均は 1994 ~ 1995 年度が 32 万円, 1996 ~ 1997 年度が 11 万円と有意に減少していた (p < .0001)。

## 3. 最大凍結保存濃度の変更前後での移植後の造血能回復の比較

最大凍結保存濃度を高めたことによって移植後の造血能回復に影響があるかどうかについて検討したところ, 造血能回復に差は認められなかった (Table 5)。

## 考 察

今回の我々の検討では, PBSC 採取・保存を輸

血部で一括管理することにより, 1 症例あたりにかかる採取・保存時間および費用を約半分に減少させることができた。1994 ~ 1995 年と 1996 ~ 1997 年の症例を比較すると後半では非造血器腫瘍の割合が増加していたので造血器腫瘍, 非造血器腫瘍それぞれについて同様の検討をおこなったがいずれの場合も症例当たりの採取回数, 保存バック数は後半において有意に減少していた。したがって, 明らかに PBSC 採取・保存過程を合理化したことによる結果と考えられる。具体的には, 第一に, 採取前に同日に採取される PBSC を予測するための指標として, chemotherapy+G-CSF 投与に伴って造血能回復時に末梢血に出現してくる未熟細胞 (circulating immature cells : CIC) のデータを利用<sup>7)</sup>した。この方法によって至適な採取日に採取することが可能となるとともに, 複数回のアフエレーシスを行っても移植に必要な PBSC 量が採取できないと判断された場合には不必要な採取を回避することができた。同様の試みとして

採取直前の末梢血 CD34 陽性細胞数の測定<sup>8)-10)</sup>および自動血球分析装置による方法<sup>11)</sup>が報告されている。CIC と比較すると前者は精度は高いと考えられるが費用がかかり、後者は測定時間が早く簡便だがすべての施設で導入できないなど一長一短である。しかし、安価な費用でどの施設でも日常の検査業務で施行できる点では CIC が有用であると考えられ、実際に当院では採取・保存時間および費用軽減につながっている。

次に、凍結保存細胞濃度を高くしたことが挙げられる。このことにより保存バッグ数が約半分に減り、保存にかかる費用が軽減された。Makino らは、簡易凍結保存法では  $1 \sim 5 \times 10^7$  個/ml が至適細胞濃度と報告しているが<sup>6)</sup>、その後 Rowley らにより  $2 \times 10^8$  個/ml 以上でも細胞の回収率に差がないことが報告されたため<sup>12)</sup>、我々は Makino らの方法よりも 2 倍高い濃度で保存を試みた。細胞の回収率および生存率の低下が懸念されたが、実際には解凍後の viability は 90% 以上であり、移植後の造血能回復に差を認めておらず、臨床上問題ないものと考えられる。この変更によって費用削減ばかりでなく、患者に輸注される凍害防止液の副作用および循環系における容量負荷の軽減という利点にもつながっていると考えられる。

さらに、CD34 陽性細胞測定を採取直後に輸血部で行ったことが挙げられる。輸血部で一括管理する以前は PBSC 算定は各診療科で外注検査を行っており、早くても採取日の 2 日後に結果がわかるため、複数回の採取・保存を行っていた。しかし、輸血部で CD34 陽性細胞を測定することで当日採取された PBSC 量が迅速に把握できるため、余分な採取・保存を回避することができ、採取・保存時間および費用の削減に貢献したのと思われる。

最後に、PBSC T を行う上で、医療費および患者負担の軽減を論じるためには、PBSC 採取の効率化も考えなければならない。輸血部という専門部署で PBSC 採取・保存のデータを一括管理、把握することによって、さまざまな効率化への試みを提唱することが出来た。また採取保存を専門部署

で行うことですべての症例に方法論の改善を実施することが可能となった。今回これらの試みを検証した結果 PBSC の採取・保存に要する時間や費用および患者負担を軽減できることが確認された。

## 結 語

当院における PBSC 採取、保存過程にかかる費用および時間を年度別に検討した。CIC を利用し至適な PBSC 採取日を決定し、採取直後に採取した CD34 陽性細胞数を測定することで不必要な apheresis を回避でき、PBSC 採取に要する時間と経費を軽減できたことが確認できた。専門部署で効率の良い PBSC 採取、保存を推進することによって患者負担、PBSC 採取に要する時間と経費を軽減できると考えられた。

## 文 献

- 1) Sheridan WP, Begley CG, Juttner CA et al. : Effect of peripheral-blood progenitor cells mobilised by filgrastim ( G-CSF ) on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *Lancet*, 339 : 640 646, 1992.
- 2) To LB, Roberts MM, Haylock DN et al. : Comparison of haematological recovery times and supportive care requirements of autologous recovery phase peripheral blood stem cell transplants, autologous bone marrow transplants and allogeneic bone marrow transplants. *Bone Marrow Transplant*, 9 : 277 284, 1992.
- 3) Hartmann O, Le Corroller AG, Blaise D et al. : Peripheral blood stem cell and bone marrow transplantation for solid tumors and lymphomas : hematologic recovery and costs. *Ann Intern Med*, 126 : 600 607, 1997.
- 4) Schmitz N, Linch DC, Dreger P et al. : Randomised trial of filgrastim-mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation versus autologous bone-marrow transplantation in lymphoma patients. *Lancet*, 347 : 353 357, 1996.
- 5) Makino S, Hrada M, Akashi K et al. : A simplified method for cryopreservation of peripheral blood stem cells at -80 without rate control led freezing. *Bone Marrow Transplant*, 8 : 239 244, 1991.
- 6) Siena S, Bregni M, Brando B et al. : Flow cytometry for clinical estimation of circulating hematopoietic progenitors for autologous transplantation in cancer patients. *Blood*, 77 : 400 409, 1991.
- 7) Teshima T, Sunami K, Bessho A et al. : Circulat-

- ing 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* 89 : 4660-4661, 1997.
- 8) Haas R, Mohle R, Fruhauf S et al. : Patient characteristics associated with successful mobilization and autografting of peripheral blood progenitor cells in malignant lymphoma. *Blood* 83 ; 3787-3794, 1994.
- 9) Elliott C, Samson DM, Armitage S et al. : When to harvest peripheral-blood stem cells after mobilization therapy : Predication of CD34-positive cell yield by preceding day CD34-positive concentration in peripheral blood. *J Clin Oncol* 14 ; 970-973, 1996.
- 10) Mohle R, Murea S, Pforsich M et al. : Estimation of the progenitor cell yield in a leukapheresis product by previous measurement of CD34+ cells in the peripheral blood. *Vox Sang* 71 ; 90-96, 1996.
- 11) 西郷勝康, 他 : 末梢血幹細胞採取時期決定における多項目自動血球分析装置 SE-9000 の有用性 *日本輸血学会雑誌* 44 ; 605-609, 1998.
- 12) Rowley SD, Bensinger WI, Gooley TA et al. : Effect of cell concentration on bone marrow and peripheral blood stem cell cryopreservation. *Blood* 83 : 2731-2736, 1994.
-