

腹水濾過濃縮再静注法 (CART) の安全性確立に向けて

岡本 好雄 中橋 喜悦 千野 峰子 松田 和樹 久保田友晶
 岡田 真一 守屋 友美 及川 美幸 李 舞香 木下 明美
 青木 正弘 高源 ゆみ 中林 恭子 今野マユミ 槍澤 大樹
 入部 雄司 小倉 浩美 菅野 仁 藤井 寿一

腹水濾過濃縮再静注法 (CART: Cell-free and Concentrated Ascites Reinfusion Therapy) とは、腹水症 (又は胸水症) 患者の腹水 (又は胸水) を採取し、濾過濃縮後に再静注する治療法で、我が国で開発されて以来、保険診療の中で 30 年以上広く実施されている。

当院における CART は各診療科が必要時に臨床工学技士に処理を委託していたが、院内統一の依頼・供給手順や製剤が存在せず、医療安全の面で問題があった。複数患者の CART 実施時における患者取り違いのリスクを回避するために、輸血・細胞プロセッシング部で申し込みから腹水・胸水処理、供給に至るまでを一括管理することとなった。具体的には、既存の輸血システムを流用し、電子カルテからの申込みと製剤固有バーコードの発行、バーコードによる製剤と患者の照合作業までの安全な供給体制システムを構築した。

次に輸血用血液製剤同様の製剤の安全性に関する基準を作成するために、濃縮前後、および一定条件下での保存後の腹水の性状やエンドトキシン検査に関して検討を行った。濃縮後のアルブミン量は $26.5 \pm 2.7\text{g}$ であり、回収率は 66.8% であった。処理前のアルブミン量に関わらず一定の回収率が得られた。また処理前腹水の 4°C 一晚保存、あるいは -30°C 14 日保存においてもエンドトキシンは検出されなかった。今後、冷蔵保存後の処理あるいは冷凍保存分割投与によって CART を必要とする多くの患者へ適応可能になると考えられる。

キーワード：腹水，腹水濾過濃縮再静注法，エンドトキシン，凍結保存

はじめに

我が国において血液製剤、血漿分画製剤は、すべて厚生労働省が定める「輸血療法の実施に関する指針」及び「血液製剤の使用指針」に準拠して適正に使用することが求められている。アルブミン製剤も例外ではなく、使用指針には肝硬変に伴う難治性腹水 (肝性腹水) に対する治療が適応として認められている反面、末期患者への使用は延命効果のエビデンスが無く、生命尊厳の観点からも控えるべきとされており、緩和医療におけるアルブミン製剤の適応は否定的と考えられている¹⁾。

一般療法や薬物療法の効果のない難治性腹水 (又は胸水) の治療法として、腹膜—静脈シャント (PV シャント) や経頸静脈的肝内門脈静脈短絡術 (TIPS) などがあげられるが、外科的処置を要し、患者への侵襲が大きい。一方、従来、腹水濾過濃縮再静注法 (CART: Cell-free and Concentrated Ascites Reinfusion Therapy) が知られている。CART はがんや肝硬変などによ

て貯留した腹水 (又は胸水) を最大孔径 $0.2\mu\text{m}$ の腹水濾過器で処理し、細菌やがん細胞、血球成分などを除去し、アルブミンやグロブリン等のタンパク成分を回収し患者自身に静注する治療法である (図 1)。患者の全身・栄養状態の改善による QOL (Quality of Life) の向上を図ると共に、血漿アルブミン製剤による感染性・免疫学的副作用が回避できるという特長がある。本法は濃縮腹水再静注 (濾過なし) として 1974 年日本肝臓学会でその有効性が報告されて以来、1976 年に濾過濃縮システムの臨床的検討が開始され、1981 年難治性胸水・腹水症に保険収載されている。その後広く認知され、「肝硬変診療ガイドライン (日本消化器病学会編)」、 「慢性肝炎の治療ガイド (日本肝臓学会編)」、厚生労働省の「重篤副作用疾患別対応マニュアル：卵巣過剰刺激症候群 (OHSS)」などに CART が推奨されるようになった。

CART は血液浄化の一種として普及しているが、採取した腹水は一旦患者から切り離されてから処理され、

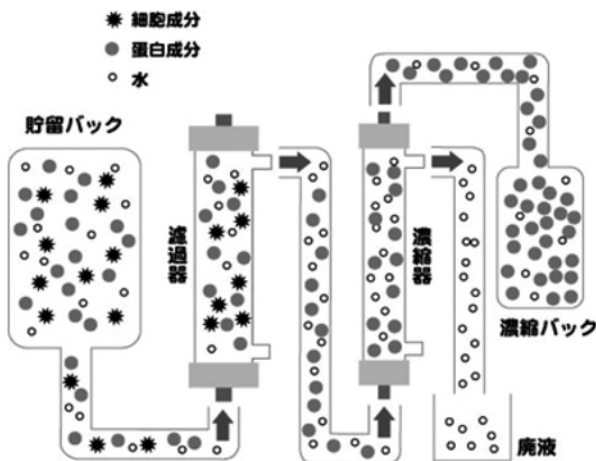


図1 Cell-free and concentrated ascites reinfusion therapy (CART)

CART — a therapy in which the ascitic fluid (or pleural fluid) of a patient with ascites (including hydrothorax) is collected, filtered, concentrated, and reinfused intravenously into the patient

腹水製剤として供給されるため、輸血部門による一括管理体制が必要と考えた。本論文では、(1) CART システム運用による管理体制の確立、(2) 濾過濃縮前後における腹水の生化学的性状の比較検討、(3) 各種保存条件における腹水中エンドトキシン濃度の検討について述べる。

対 象

対象は消化器科 17 名 23 件、一般外科 6 名 11 件、血液内科 1 名 5 件、婦人科 9 名 16 件で総数 33 症例 (CART 実施数 55 件) で、疾患名別 CART 件数は卵巣がんが最も多く 14 件、次いで胃がん 12 件、肝硬変 9 件、急性骨髄性白血病 5 件、肝細胞がん 5 件、膵がん 4 件、悪性腹膜中皮腫 3 件、C 型肝炎 1 件、肺がん 1 件、腹膜がん 1 件であり、全件数の内がん性腹水が 80%、肝性腹水が 20% であった。

方 法

濾過濃縮には旭化成メディカル社製の腹水ろ過器 AHF-MOW と腹水濃縮器 AHF-UP、装置は ADP-01 を使用した。血清総ビリルビン値 5mg/dl 以上²⁾、発熱・腹部症状・CRP 高値などより感染が強く疑われる場合、貯留処理前腹水量が 1,000ml 以下、血性腹水の著明な溶血所見などの場合は CART 適応不可とした。また当部に持ち込まれた時点で貯留バックの状態 (クランプ部分からの漏れ等) を当部担当医が確認し適・不適の判定を行った。処理ポンプ速度は腹水再静注時の副作用 (発熱) 発生に影響することが報告されている²⁾ため、最高処理速度を 50ml/min とした。濾過濃縮後の蛋白

濃度が 5g/dl 以下、または濾過濃縮後の腹水容量が 1,000 ml 以上になる場合は再濃縮操作を行うことを部内基準とした。

検討項目は一般性状として処理前後の重量、比重、細胞数、pH を測定し、生化学データとして総タンパク、アルブミン、総ビリルビン、直接ビリルビン、LD、フィブリノゲンを、安全性の確認としてエンドトキシンを測定した。

診療科側の要望にフレキシブルに対応するためには腹水貯留を午後や夜間に行い 4℃ に保存しておいた腹水・胸水を翌日処理する必要性などの可能性も考慮され、4℃ 翌日処理を想定した腹水の安全性確認のため、処理前腹水貯留バックに腹水の一部を残したまま 4℃ 保冷庫に保存し、24 時間後にエンドトキシン検査を実施した。また、処理後腹水の凍結保存による性状変化の確認のため、濾過濃縮後の腹水の一部を -30℃ 14 日間保存後 FFP 同様に 37℃ で解凍し、一般性状、生化学データ測定、エンドトキシン検査もそれぞれ実施した。

エンドトキシン検査は従来処理前腹水について外部検査機関へ外注していたが、供給前の安全性確認の必要性から院内で迅速に検査をする体制を導入した。腹水貯留直後、処理前腹水 4℃ 24 時間保存後、腹水処理直後、処理後腹水 -30℃ 14 日保存後の 4 ポイントについて院内検査でエンドトキシンを測定し、処理前腹水については従来の外注検査を平行して実施した。部内で使用したエンドトキシン検査試薬は生化学工業のエンドスペシー[®]ES24S セットを用い、測定装置として EG Reader SV-12 を使用しカイネティック比色法で判定した。検査は二重測定で行いその平均値を結果として採用した。エンドトキシン測定はタンパク濃度の影響を受ける為、処理前腹水については測定前に屈折計で簡易的にタンパク濃度を測定し、測定値が 3g/dl を超える場合は除タンパク処理を実施後測定サンプルとした。濃縮後腹水については全例除タンパク処理を実施し、除タンパク法は過塩素酸法³⁾を用いた。

結 果

(1) CART システム運用の管理体制の確立 (図 2)

当院における CART は各診療科が必要時に臨床工学技士に依頼しその処理を依頼していたが、院内統一の依頼・供給手順や製剤の安全性に関する基準がなかった。医療安全対策の面からも複数人数の患者の CART の実施時における患者取り違い等においては輸血用血液製剤同様の安全対策が必要と示唆されたことから、既存の輸血システムを流用し、輸血・細胞プロセシング部で申し込みから腹水・胸水処理、供給に至るまでを一括管理することにした。

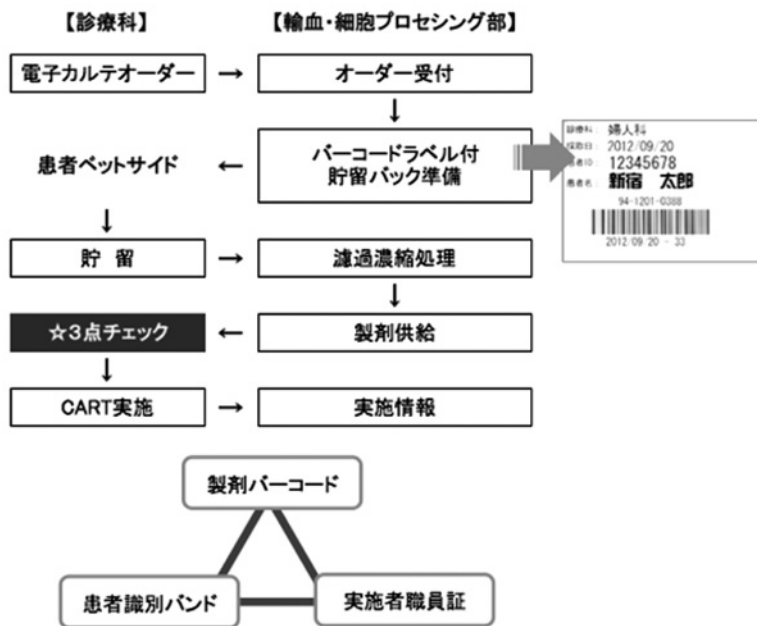


図2 Reinfusion system of ascitic preparation at our hospital
 A safe reinfusion system was set up, making use of the existing blood transfusion system to place an order from the electronic medical chart, issue a bar code unique to the preparation, and cross-check the preparation and the patient using the bar code.

表1 Concentration efficiency and recovery rate

比較項目	処理前	処理後	濃縮倍数	回収率
容量	2,716 ± 135ml	410 ± 39ml	11.3 ± 1.4	
総タンパク	76.1 ± 6.7g	50.3 ± 5.1g		61.2 ± 2.2%
アルブミン	36.2 ± 3.3g	26.5 ± 2.7g		66.8 ± 2.4%

n = 53, mean ± SE

Mean volume after processing was 410 ± 39ml. Thus, in terms of volume, it was possible to achieve a concentration of about 11.3 ± 1.4 times. Recovery was 61.2% in the case of total protein and 66.8% in the case of albumin content.

まず、電子カルテより当部へ自己腹水オーダーを送ることにより、その患者個有の製造番号をもった製剤ラベルを出力し、貯留バッグと供給時の腹水濃縮バッグにそのラベルを貼付する。各診療科から持ち込まれる腹水について、貯留バッグからの漏れ、フィブリンの析出状態、血性腹水の場合は溶血の有無などを当部担当医が実施する。処理は当部の医師の監督の下、臨床検査技師が担当し、処理の終わった濃縮バッグは通常の輸血製剤同様のシステムにより払い出し、使用現場での3点チェック（製剤、患者、実施者バーコードの読み取りチェック）により確実に当該患者に静注する。以上のような安全な供給体制システムを構築しCARTを実施した。

(2) 濾過濃縮前後の腹水の生化学的性状 (表1)

平均腹水処理容量 (Mean ± SE) は 2,716 ± 135ml, 処理後容量は 410 ± 39ml であり, 容量としては約 11.3 ± 1.4 倍に濃縮し得た。処理前総タンパク量 (g) は 76.1 ± 6.7g で処理後が 50.3 ± 5.1g, 総アルブミン量としては処理前が 36.2 ± 3.3g, 処理後で 26.5 ± 2.7g であり, それぞれの回収率は総タンパク量で 61.2%, アルブミン量で 66.8% であった。一般性状としての比重は処理前が 1.016 ± 0.001, 処理後が 1.070 ± 0.002 であった。pH は処理前が 7.34 ± 0.02 処理後が 7.24 ± 0.01 であり有意 (p < 0.05, n = 51) に酸性側へ傾く傾向を認めた。処理後当日と -30℃, 14 日保存後の腹水の一般性状, 生化学データについては全症例 (n = 20) が全項目において有意差を認めなかった。

表2 Results of bacterial endotoxin testing

処理日 エンドトキシン EU/ml	当日		4°C 翌日	-30° 14日後
	処理前 n=55	処理後 n=52	処理前 n=55	処理後 n=20
<0.01	25	33	22	16
0.01	23	15	24	3
0.02	7	4	7	
0.03			2	
0.04				1

Reinfusion after guaranteeing safety was possible by satisfying our in-house standard (<0.1EU/ml) for cell preparations at all points.

(3) エンドトキシン検査 (表2)

エンドトキシン検査は処理前55件について外注検査で全例0.8pg/ml以下、部内検査で0.1EU/ml未満であった。同腹水を未処理のまま貯留バックの状態では4°C、24時間保存後、再度貯留バックからサンプリングした腹水についても全例部内検査で0.1EU/ml未満であった。

考 察

貯留された腹水は一度患者から離れた部署で製剤として調製され、再度患者に輸注される。この流れは造血幹細胞移植や免疫細胞療法のための細胞製剤、自己血輸血の採取・調製・供給と同じであり、製剤を確実に当該患者に返すために間違い防止のための医療安全対策が重視されるべきと考えられる。現状ではCARTを実施している医療機関は少なく、CARTを組み入れた緩和医療を実施している医療機関に患者が集中する傾向にある。したがって、CART実施医療機関では同一日に複数の腹水を処理することも多々あり、腹水の採取、院内搬送、処理および輸注までの過程で複数の医療従事者が関わるために、当院では医療安全対策の観点から、間違い防止策を講じるべきであるという意見があがった。さらに人による照合確認をどんなに周知徹底していても防ぎきれないのがヒューマンエラーであることから、ヒューマンエラー防止の目的でシステムによる照合を導入すべきという結論になった。今回当院で輸血部門が中心となってCARTに関わることにより、既に院内で確立している輸血システムを流用することが可能になり、バーコード管理による安全な濾過濃縮腹水供給を実施することが可能になった。但し、現状使用している製剤バーコードはCART処理から輸注までの管理では患者取り違い防止機能を果たしているものの、患者から貯留時の患者認証としての機能を有していない点が課題となっており、今後この点については採血時と同様の認証システムを適用するよう改善する予定である。

院内で各診療科がそれぞれの方法でCARTを実施し

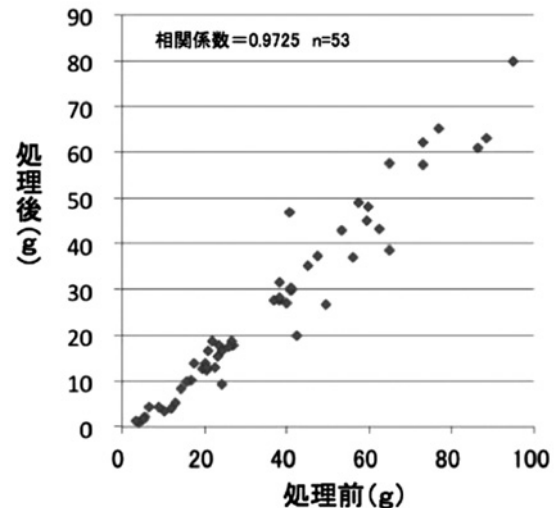


図3 Total albumin content before and after processing. Total albumin content before and after processing showed a high correlation ($r=0.9725$).

ていた体制を統一し、輸血部門が取り扱うことになったのを契機に、腹水濃縮の効率や処理前後の一般・生化学的性状、さらにエンドトキシン濃度の測定を行なった。ADP-01を使用した濾過濃縮効率を処理前後の容量からみると約3リットルの処理前腹水が平均で410mlに濃縮された。平均回収率は総タンパク量で61.2% (50.3g)、アルブミン量で66.8% (26.5g)であり、供給可能なアルブミン量としては血漿分画製剤の25%ヒト血清アルブミン50ml (12.5g)、2本分に相当した。処理前後の総アルブミン量は高い相関 ($r=0.9725$)を示し、処理前のアルブミン量に問わず一定の回収率が得られた(図3)。一方、処理前腹水の容量が1.5リットル以下の場合には回収率が30~40%と低くなる傾向が認められ、総アルブミン量としても平均4.7g ($n=5$)であり、低アルブミン血症の是正の点で臨床的意義があるかどうか疑問が残る。現在の濾過濃縮フィルターのカラムサイズでは処理前腹水1.5リットル以上の処理が望ましいと考えられた。

処理前後の一般性状において唯一有意差を認められたのはpHで、処理後有意 ($p<0.05$, $n=51$)にpHが酸性側にシフトしたが、市販の赤十字アルブミン製剤の添付文書によればpH範囲は6.4~7.4であることから、平均pH7.2の供給製剤としてのpHの変化は特に問題ないと思われる。細胞成分が多い場合、濾過フィルターが目詰まりの原因となるが、一般的な目詰まり対処(動脈圧300mmHg→アラーム表示でポンプ停止→約100mlの廃液:以上を2回繰り返したら処理終了)を加味しても3リットル前後の腹水の濾過濃縮処理が平均約80分であり特に問題はなかった。また、処理後の腹水中には細胞成分は認められず、混濁状態の腹水であっ

でも供給製剤の色調は混濁のない黄色，ビリルビン値の高い場合や多少の溶血の影響のある場合で褐色様となった。

凍結保存前後の総蛋白・アルブミン濃度はほぼ変化がなく，エンドトキシン濃度も上昇を認めず凍結保存後の供給も可能と考えられた。また，保存自己血同様に患者本人のみに使用可能な製剤で，使用前の溶解においては新鮮凍結血漿，適正使用においてはアルブミン製剤と同等の扱いという製剤としての特殊性があることの院内周知が必要と思われる。

安全性検査としてエンドトキシン検査は，処理前腹水について外部検査機関で実施されていたため，その結果は以降になり当日供給する腹水製剤自体の安全性の保証を得ることは出来ていなかった。濾過濃縮後の供給製剤からのサンプルでエンドトキシン検査を実施し，処理後の腹水の安全性を担保した上で供給する体制を確立する必要があった。従来より院内でのがん免疫療法等の細胞製剤供給時のエンドトキシン基準は0.1 EU/ml 未満とされていることから，同基準を適応することにした。濃縮後のサンプルの測定には除タンパク処理が必須とされるため，検査は除タンパクに約40分，測定に約40分を要するが，CARTは供給においては緊急性が低いため検査時間としては問題とはならず，安全性確認後の供給に十分な検査法と言える。今回の検討では腹水貯留直後，処理前腹水4℃24時間保存後，腹水処理直後，処理後腹水-30℃14日保存後の全ポイントで0.1EU/ml 未満で当院での細胞製剤供給時の基準を満たしたことで，供給製剤の安全性保証後供給の実施が可能となったと共に，処理前腹水の4℃，24時間保存を許容期間とすることで患者から腹水を貯留する時間帯を広げることが可能と考えられた。また，分割凍結保存を実施した場合もエンドトキシン値の変化は認められず安全性は保持されることが考えられた。

現在，腹水の保存に関して，処理前および処理後腹

水を凍結保存して再静注した報告は数件あるが^{5)~6)}，処理前および処理後腹水の冷蔵・凍結保存に関して有効性や安全性は明確になっていない。遠心機や成分採血装置で細胞成分を除去した後に腹水を一度凍結し自然解凍した際の初期の融解液中の蛋白濃度が高いことに着目し，フィルターを用いない濃縮方法の検討もされているが，現状のフィルターによるCARTでは濃縮されない尿酸や尿素窒素も濃縮されることで適応については検討が必要とされている⁶⁾。原則として当日に濾過濃縮，再静注を行っているが，自己腹水の冷蔵保存後の濾過濃縮・再静注，およびCART後の腹水製剤の凍結保存，分割投与を導入することで，CARTを必要とする多くの患者へ適応可能になると考えられる。今後，それらの臨床的有用性について確認していきたいと考えている。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局血液対策課：血液製剤の使用指針（改定版）（平成24年3月一部改正），2012, 108—115.
- 2) 高松正剛，宮崎浩彰，片山和宏，他：難治性腹水症に対する腹水濾過濃縮再静注法（CART）の現状。肝胆膵，46：663—669, 2003.
- 3) 大林民典，田村弘志，田中重則，他：血中エンドトキシン測定のための新しい血液前処理法（過塩素酸法）とその臨床的応用。臨床病理，31：285—288, 1983.
- 4) 松井甲三，宮田 曠，牧 淳：切除不能肝芽腫に対する自家腹水輸注の効果。小児外科，27：100—104, 1995.
- 5) 仲原正明，泉 浩美，山崎あい子，他：難治性腹水に対する腹水再利用の治療効果。日本輸血細胞治療学会誌，49：238, 2003.
- 6) Chiyoda S, Morikawa T, Matsuo K, et al: Reinfusion of ascitic fluid concentrated by freezing in patients with intractable ascites. Internal Medicine, 31: 325—332, 1992.

TOWARDS THE ESTABLISHMENT OF A SAFE CELL-FREE AND CONCENTRATED ASCITES REINFUSION THERAPY

Yoshio Okamoto, Yoshinobu Nakahashi, Mineko Chino, Kazuki Matsuda, Tomoaki Kubota, Shinichi Okada, Tomomi Moriya, Miyuki Oikawa, Maiko Lee, Akemi Kinoshita, Masahiro Aoki, Yumi Kogen, Kyoko Nakabayashi, Mayumi Konno, Taiju Utsugisawa, Yuji Iribe, Hiromi Ogura, Hitoshi Kanno and Hisaichi Fujii

Department of Transfusion Medicine and Cell Processing, Tokyo Women's Medical University

Abstract:

Cell-free and concentrated ascites reinfusion therapy (CART) has been applied for over 30 years in the treatment of patients with intractable ascites (or pleural effusion): collected ascites (pleural effusion) is filtered, concentrated, and reinfused intravenously into the patient. Since the purified ascites might be accidentally administered to other patients in large-scale hospitals, we decided to establish a computer-aided system, similar to that used in blood transfusion, to enable safer management by using bar-code labels.

We next examined biochemical properties, including total protein and albumin concentration, of ascites before and after filtration/concentration, and found that the mean recovery of albumin was 66.8%, and mean albumin content was 26.5 ± 2.7 g after processing.

We also introduced a rapid testing system for endotoxin, which enabled us to show that purified ascites does not contain harmful levels of endotoxin (over 0.1 EU/ml). Finally, biochemical properties as well as endotoxin concentration were not significantly altered after storage either overnight at 4°C or for 14 days at -30°C, suggesting that it may be possible to perform CART after overnight storage in refrigerators or provide purified ascites after cryopreservation.

Since the present guideline suggests that albumin products should be avoided for end-stage patients, CART might be useful in cancer patients with intractable ascites in palliative care units.

Keywords:

ascitic fluid, CART, endotoxin, cryopreservation