

CD34 陽性細胞測定における施設間差の検討

原口 京子¹⁾ 奥山 美樹¹⁾ 田野崎隆二²⁾ 國友由紀子¹⁾ 吉田 茂久³⁾
 上村 知恵⁴⁾ 府川 正儀⁵⁾ 伊藤みゆき⁶⁾ 森 毅彦⁷⁾ 大橋 一輝⁸⁾
 谷口 修一⁹⁾ 牧野 茂義⁵⁾ 高梨美乃子¹⁰⁾ 坂巻 壽⁸⁾

末梢血幹細胞移植において、採取物の CD34 陽性細胞数を正確に測定することが必須であるが、その方法は国内では標準化されておらず、施設間差の存在が懸念される。そこで我々は、末梢血幹細胞採取物検体を CD34 陽性細胞数測定に熟練した東京都内 5 施設に搬送し、採取当日に測定した全 6 施設の結果を比較した。CV (coefficient of variation) は 25% 以内と比較的低く、高い相関が認められたが、特に 1 施設の測定値は有意に低かった。国際的に標準的な測定法とされる ISHAGE-Single platform 法をおこなっているか否かによる差は明らかではなかったが、常に低い値を示した施設は検体調整に問題があると考えられた。CD34 陽性細胞測定に熟練していても、客観的な評価が必要で、検体調整法を含めた測定法の標準化と外部精度評価が重要であることがあらためて示された。

キーワード：末梢血幹細胞採取、CD34 陽性細胞、フローサイトメトリー、精度管理、施設間差

造血幹細胞移植療法は、難治性血液疾患に治癒の可能性をもたらすもので、近年は適応症例も移植細胞ソースも多様化し、実施件数は増加の一途をたどっている。中でも末梢血幹細胞移植 (PBSCT) は、2010 年度から日本骨髄バンクを介した非血縁者間の末梢血幹細胞移植が開始され、今後さらに増加すると考えられる。

末梢血幹細胞採取 (PBSCH) では、CD34 陽性細胞 (CD34⁺) 数測定が必須である。CD34⁺ が移植片中に患者体重 1kg あたり 2.0×10^6 個含まれていれば移植細胞が生着するとされ、日本骨髄バンクでも採取目標数に設定されている¹⁾。目標に届かない場合は翌日も採取が必要となるため、CD34⁺ 数の測定は、患者やドナーにとって非常に重要である。

CD34⁺ 数は、測定方法や機器により値が異なることが知られている。このため、国際血液療法・移植学会 (The International Society of Hematotherapy and Graft En-

gineering ; ISHAGE, 現 International Society for Cellular Therapy ; ISCT) でガイドライン^{2)~5)}が出され、国際的に標準的な方法とされている。一方国内では日本臨床検査標準協議会のガイドライン (案)⁶⁾のみで、日本骨髄バンクを介した PBSCH においても各施設に委ねられており統一化されていない。以前は自己または血縁者間でのみ PBSCT が行われていたため採取量の判断は当該施設内で完結していたが、非血縁者間 PBSCT の場合は、細胞採取をおこなう施設と移植をおこなう施設は異なる。それぞれの施設で CD34⁺ 数測定結果に違いがあると、期待した細胞数が得られない可能性が生じる。今後は海外の患者にも提供する機会が増えることも予想されるが、現状では日本骨髄バンクの信頼性にもかかわる。

そこで国内の複数の施設で同一新鮮検体の CD34⁺ 数を測定し比較検討することとした。本研究は、施設間

- 1) がん・感染症センター都立駒込病院輸血・細胞治療科
- 2) 国立がん研究センター中央病院輸血療法科
- 3) 国立がん研究センター中央病院臨床検査部輸血管理室
- 4) 慶應義塾大学病院輸血・細胞療法部
- 5) 虎の門病院輸血部
- 6) 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター
- 7) 慶應義塾大学医学部血液内科
- 8) がん・感染症センター都立駒込病院血液内科
- 9) 虎の門病院血液内科
- 10) 日本赤十字社血液事業本部

〔受付日：2015 年 8 月 13 日，受理日：2015 年 10 月 26 日〕

表1 対象患者の内訳

年齢	
中央値 (範囲)	54 (33 ~ 66)
性別	
男性/女性	6/4
疾患	
多発性骨髄腫	6
悪性リンパ腫	4
化学療法レジメン	
CY 大量	5
VP16 大量	2
CHASE	3
G-CSF 投与日数	
中央値 (範囲)	6 (5 ~ 8)

CY : Cyclophosphamide, VP16 :
Etoposide, CHASE : Cyclophosphamide,
Cytarabine, Etoposide, Dexamethasone

差の現状を把握し、検査法の統一化へ向けて重要な基礎データとなることが期待される。東京都内は、造血幹細胞移植や採取の経験が豊富な施設が狭い範囲に複数存在する。そこで我々は、十分量の末梢血幹細胞が採取できた患者の採取物検体を近隣の5施設に配布し、採取当日にCD34⁺数を測定した。採取施設も含めた6施設の結果を比較した。

方 法

施設間差検討症例

がん・感染症センター都立駒込病院で2011年10月～2013年10月にPBSCHをおこなった自己PBSCT予定患者を対象とした。本研究は院内倫理委員会で承認されており、文書により説明し20例から研究参加の同意が得られた。

化学療法後骨髄抑制期に白血球数が十分減少したと判断された時点からG-CSF (granulocyte-colony stimulating factor 顆粒球コロニー刺激因子)を投与し、白血球数が1万/ μ lを超えた日に採取をおこなった。

COBE Spectra (TERUMO BCT, 東京), MNC モードで連続的にPBSCHをおこない、患者体重1kgあたり 4×10^6 個以上のCD34⁺が確認出来た10例 (表1)について、十分量のCD34⁺が採取できたと判断し、最終的に本研究の対象とした。採取物から無菌的に検体4ないし5mlを採取しEDTA-2Na入り採血管4ないし5本に分注し、採取当日中に研究協力施設に搬送し、ただちに各施設で通常おこなっている方法でCD34⁺数を測定した。研究協力施設は、慶應義塾大学、国立がん研究センター中央病院、東京大学医科学研究所附属病院、虎の門病院、日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター (旧 東京都赤十字血液センター) の5施設である。

単施設でのCD34⁺数測定法別検討症例

2014年6月から同年12月までに施設AでPBSCHを施行した患者7名とドナー16名について、以下の測定をおこなった。① (施設Aルーチンの測定法) PE標識抗CD34抗体 (clone : 8G12, BD Biosciences, San Jose, CA, USA) もしくはPE標識isotype control (mouse IgG1, BD Biosciences), PC5標識抗CD45抗体 (clone : J.33, Beckman Coulter, Brea, CA, USA) で二重染色し、BD FACS Lysing Solution (BD Biosciences) を添加し10分静置後、遠心して (400g, 5分, 室温) 上清をできるだけ吸引除去し、PBSを加えて再浮遊させ遠心 (同条件) 洗浄をおこなった。再び上清を吸引除去して適量のPBSで再浮遊させ、FACSCalibur (BD Biosciences) で測定した。データ解析は以下に示すゲーティング (Bender ゲート) でおこなった。CD34とSSCの展開でSSCが小さくCD34陽性の集団をゲートし、isotype controlとSSCの展開で同じゲートに入る非特異的な結合を差し引き、これをCD45陽性分画で除して、白血球分画に対するCD34⁺の割合を求めた。これに自動血球分析装置 (XE-2100, Sysmex ; 神戸) で測定した白血球数を乗じて (すなわち dual platform) CD34⁺数 ($/\mu$ l 以下同様) を算出した。② BD Stem Cell Enumeration Kit (BD Biosciences) をメーカーのプロトコール通りに調整し、FACSCaliburで測定。メーカーの解析テンプレートを使用してCD34⁺数を求めた。③①と同様に細胞を染めた後、IO test3 溶血試薬 (Beckman Coulter) を添加し5分インキュベート後、洗浄せずにFACSCaliburで測定した。解析はISHAGEゲート²⁾に基づいて白血球に対するCD34⁺率を算出し、dual platformでCD34⁺数を算出した。④③のデータをBenderゲートで再解析した。⑤①と同様に細胞を染めて溶血剤を添加後、PBSを加えて遠心 (①と同条件) し、上清をデカンテーションで除去して適量のPBSで再浮遊させ測定した。ISHAGEゲートでCD34陽性率を算出し、dual platformでCD34⁺数を算出した。なお、臨床検査用に採取された検体のみを使用し、倫理委員会で定められた包括的同意の範囲内である。

コントロール血球の測定

BD Stem Cell Control Kit (BD Biosciences) を前述の①と②の方法で測定した。ただし固定サンプルのため、②法では7AAD陰性部分のゲートは省略してすべての細胞を含めたゲートとした。CD34⁺ LowとCD34⁺ Highのサンプルそれぞれを、ルーチン検査を担当する臨床検査技師3名で3回ずつ、計9回測定した。

統計処理

統計ソフトはJMP9.0 (SAS ; Cary, NC, USA) を用いた。回帰解析には直交回帰をおこなった。対応のあるt検定では、 $p < 0.05$ を有意水準とした。

結 果

各施設の測定結果と測定法

測定結果を表2に、施設毎の方法を表3に示す。施設A, Bがdual, 施設C, D, E, Fはsingle platformで測定していた。施設AとBは洗浄法とゲート法が異なっていた。施設Dは2例のみのため、以後除外して解析した。

施設Aは有意に他施設より低い結果であった

10検体の平均を図1aに示す。CV(coefficient of vari-

ation)は20%前後と比較的低かった(図1b)。Standard deviation index (SDI)は ± 2 以内で一般的に許容できるとされる範囲だが、施設Aは常に低い値を示した(図1c)。

以下、5施設の測定値の平均(以下Av5)を基準に解析した。

図2にAv5と各施設の測定値の回帰分析を、両者で対応のあるt検定をおこない図3にBland-Altmanプロットを示した。施設Aは回帰分析の傾きが0.6台で、対応のあるt検定でも有意に低かった。対応のあるt検定で、施設BとEはAv5より有意に高かった。すべての施設で、Av5との相関は高かった。施設AとBはdual platformで測定したが、Aの測定値は低く、Bは高かった。

有意に低い測定値と検体調整法の問題

施設Aの測定値が低い理由を検討するため、施設内の末梢血幹細胞採取物検体を複数の方法で測定した。ルーチン(①法)の検査結果と、市販のキット(②法)で測定した結果を比べたところ、回帰分析の傾きは図2aのAv5に対する傾きと同程度で(図4a)、対応のあるt検定でも有意差をもって①法が低かった(データ示さず)。②法は①法と異なり⑦ISHAGEゲート④single

表2 各施設のCD34陽性細胞数測定結果

検体番号	施設A	施設B	施設C	施設D	施設E	施設F
K-01	3,222	4,618	4,407	ND	5,200	4,760
K-03	2,563	3,989	4,286	7,179	4,590	4,220
K-04	1,229	2,108	1,238	5,800	1,960	1,780
K-05	2,218	3,864	3,599	ND	4,100	3,760
K-08	16,646	25,477	27,282	ND	26,300	30,360
K-09	1,684	2,322	2,257	ND	2,475	2,580
K-13	5,901	9,584	9,182	ND	9,870	9,880
K-17	2,757	5,121	4,407	ND	4,740	4,310
K-19	3,303	4,848	4,648	ND	5,040	4,640
K-20	3,179	4,666	5,154	ND	5,370	5,080

数字の単位は/ μ l

表3 各施設のCD34陽性細胞数測定方法

	施設A	施設B	施設C	施設D	施設E	施設F
Single or Dual (血球計数装置)	Dual (Sysmex KX-21)	Dual (Sysmex XS-800i)	Single	Single	Single	Single
キットの種類	— (キットは存在しない)	— (キットは存在しない)	使用せず	BD Stem Cell Enumeration Kit	Stem-Kit™	Stem-Kit™
内部標準粒子の メーカー	—	—	BD	BD	Beckman Coulter	Beckman Coulter
死細胞除去	なし	なし	なし	7AAD	7AAD	7AAD
溶血剤種類 (固定の有無)	固定	固定*1	非固定	非固定	非固定	非固定
溶血後洗浄の有無	洗浄*2	洗浄*3	非洗浄	非洗浄	非洗浄	非洗浄
CD34抗体	PE 標識 Class III	PE 標識 class III	PE 標識 class III	PE 標識 class III	PE 標識 class III	PE 標識 class III
アイソタイプコントロールの有無	あり	なし	なし	なし	Isoclonic™ control (キット同梱)	Isoclonic™ control (キット同梱)
取り込み イベント数	50,000	30,000	75,000 又は CD34 ⁺ が100	75,000 又は CD34 ⁺ が100	75,000	75,000
機種	FACSCalibur	FACSCanto	FACSCalibur	FACSCalibur	EPICS XL	Cytomics FC500
ゲート方法	Bender	オリジナル (ISHAGE 類似)	ISHAGE	ISHAGE	ISHAGE	ISHAGE
機器の メンテナンス	週1回 calibration で安定性モニタリング	定期 メンテナンス	定期 メンテナンス	定期 メンテナンス	定期 メンテナンス	定期 メンテナンス
CD34測定 精度管理	なし	なし	なし	コントロール血球 で内部精度管理	コントロール血球 で内部精度管理	コントロール血球 で内部精度管理

*1 本研究途中に溶血剤を変更し、K-19とK-20の検体は固定剤の入らない溶血剤を使用。

*2 溶血剤反応後遠心して除去後、PBSを添加し再度遠心して上清除去し、PBSで再浮遊。

*3 溶血剤反応後遠心して除去し、PBSで再浮遊。

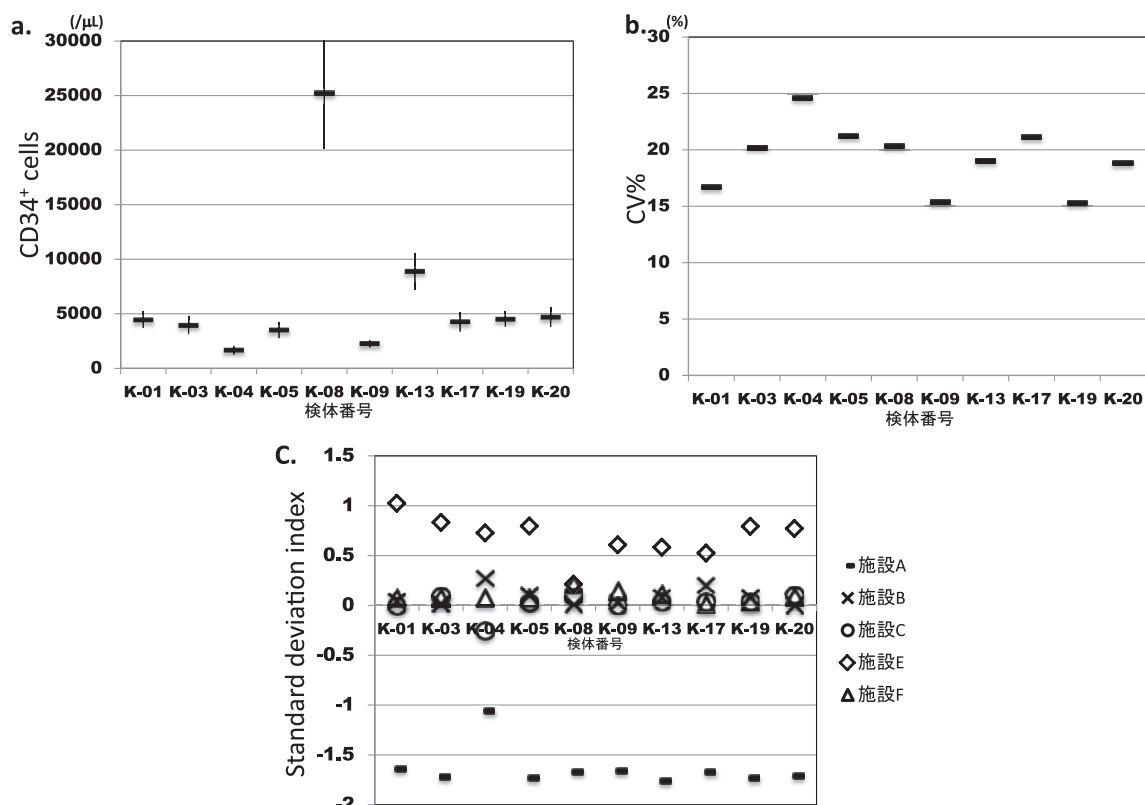


図1

- a. 各サンプルの5施設の測定値の平均と標準偏差
 b. 各サンプルの5施設の測定値のCV (coefficient of variation) %
 c. 各サンプルの5施設の測定値の standard deviation index ((各施設の測定値-5施設の平均値)/標準偏差)
 一般的に、 ± 2 以内は許容データと解釈されることが多い。

platformで、⑤検体調整に固定剤を使わず洗浄しない、⑥7AADで死細胞除去をおこなう。採取直後の検体に7AADは必須とされない⁵⁾ため、⑦①②のいずれかが①法と②法の値の差の原因となると考え、それぞれそれ以外の条件をそろえて検討した。

①を調べるため、固定・洗浄せずに溶血し dual platformで測定し ISHAGE ゲートで解析した場合 (③法)と、②法 (single platform) と比較したが差は認められなかった (図4b)。

⑦を調べるため③のデータでゲート法を変えて解析 (④法) したが差はなかった (図4c)。

⑤を検討するため、固定剤を含む溶血後1回遠心しデカンテーションで上清除去して測定した (⑤法)。この方法は①法より遠心回数が少なく、上清を完全に除去しないため、比重の軽い白血球分画が失われにくい。②法の値に対する回帰の傾きは約0.8 (図4d) と①法 (図4a) より1に近く、対応のあるt検定でも $p = 0.07$ と有意差は認められなかった。

コントロール血球の測定値は検体調整法で変化しない施設Aで、市販の固定したコントロール血球を①法と②法で繰り返し測定して比較した。②法の一部を除

き、測定値はメーカー推奨の範囲に入っていた。新鮮な検体を検査した場合と異なり、①法の結果が低くなることはなかった (図5)。

考 察

本研究は、国内では数少ないCD34⁺数測定の施設間差を示す研究である。解析した5施設は国内で有数のCD34⁺数測定経験を持つ。実際、測定値の高低は強く相関し、自施設内の移植は問題がないと考えられる。しかし、特に1施設は他の施設との相違が大きく非血縁者間移植には不適切である。細胞数が低めに見積もられるため患者の生着に心配はないが、ドナーからは多く採取することになる。これまで他と比較する機会がなく問題点に気づかなかったと考えられる。全国的にはさらに大きな施設間差の存在が推測され、適切な外部精度管理がない現状では非血縁者間末梢血幹細胞移植の前提をゆるがす恐れもあると思われる。

海外では1990年代後半に施設間差が検討され、そのCVは5~284%であったが、測定法を統一した施設間では10~40%程度に抑えられていた³⁾。ISHAGEゲートとsingle platformによる測定でより再現性の高い値

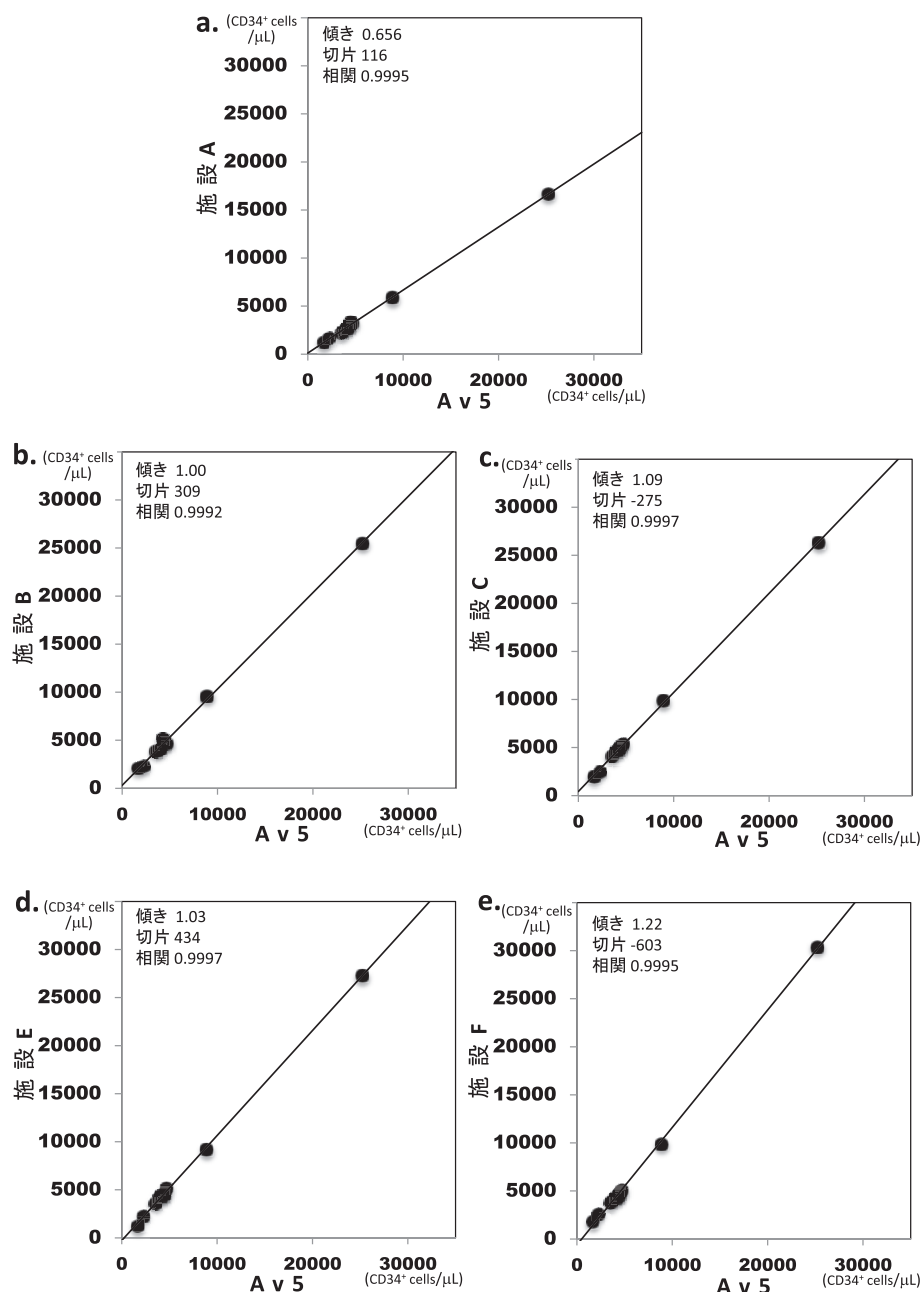


図2 5施設の測定値の平均 (Av5) とそれぞれの施設での測定値との直交回帰 (Deming 回帰)
サンプルは表2に示した10サンプル

が得られ⁴⁾⁷⁾⁸⁾, この方法でガイドラインが作成された⁵⁾. 施設間差の縮小とその維持には, 外部精度評価とそれに基づき目標を定めたトレーニングで成果を上げた⁷⁾⁹⁾¹⁰⁾. 現在, College of American Pathologists (CAP) survey や United Kingdom National External Quality Assessment Service (UK NEQAS) など国際的な外部精度評価がおこなわれている. 本研究で, 国内でも同様の評価制度の必要性が示された.

本研究では, 正しい CD34⁺ 数測定法として勧められている ISHAGE ゲート-single platform か否かによる差は明らかではなかった. 熟練した少数の施設による研

究のためと推測される. 一方キット使用の施設 E は図 3d (対応のある検定) で有意に高かった. 施設 F とほぼ同じ測定法で, 本文に示していないが, 検体希釈濃度は実質的に差がなく手順もメーカーのプロトコル通り (ただし施設 F は抗体が 1/2 量) であり, 原因は見あたらない. Av5 を施設 A が下げているため, はずれ値と仮定して A を除いた 4 施設の平均値と比較すると有意差は消失する. 図 2d の回帰直線の傾きは E より F の方が大きいことを考えても, 変動範囲と考えられる.

施設 A の検討でもゲート法と platform による差は認められず, 結果が低い値となる原因は検体調整にあっ

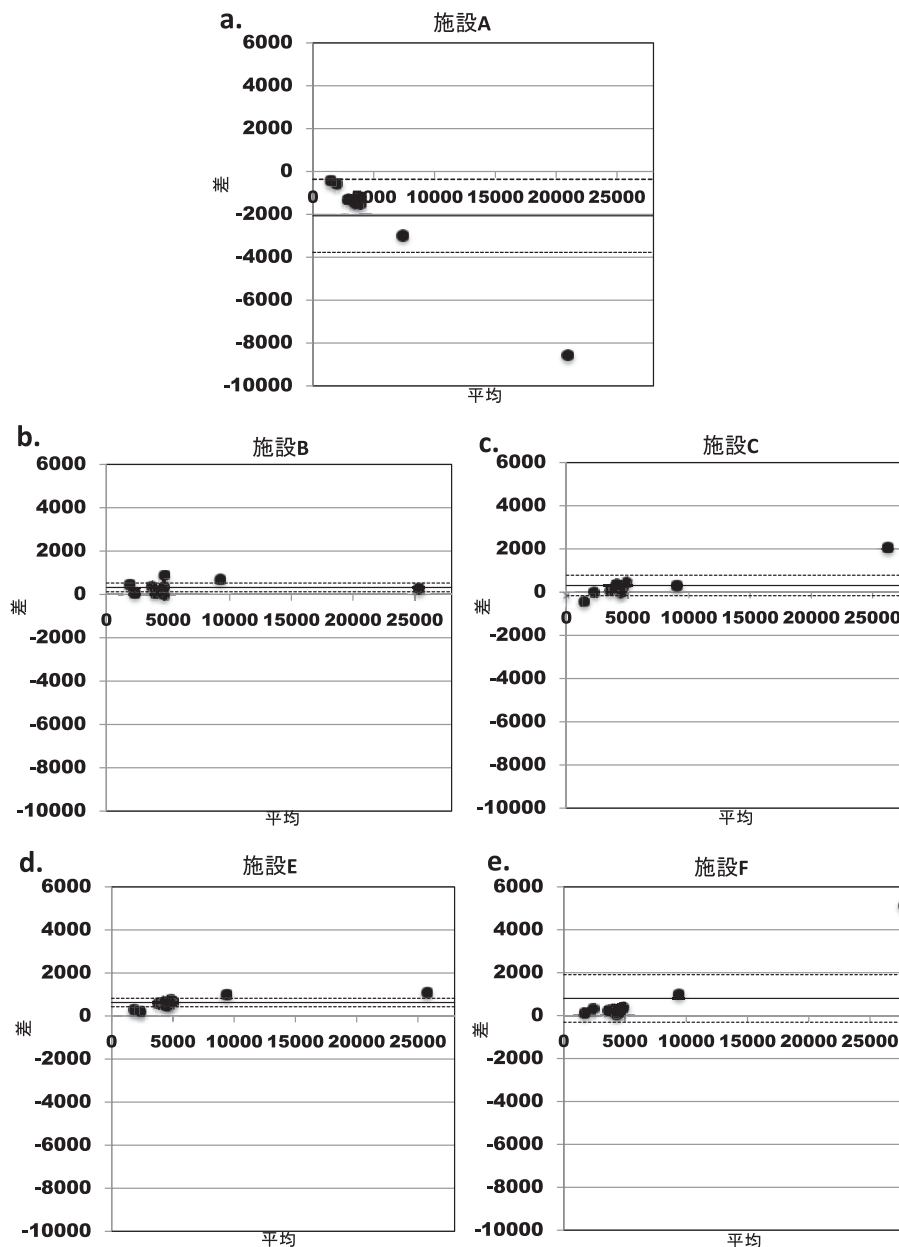


図3 5施設の測定値の平均(Av5)とそれぞれの施設での測定値とのBland-Altmanプロット
ふたつの値の平均と差をそれぞれ横軸と縦軸にプロットしたもの。表中の実線は差の平均値、
点線は95%信頼限界。

サンプルは表2に示した10サンプル

た。施設Bは同じ溶血剤と遠心条件であるが、溶血剤添加量、反応時間、遠心回数が半分で、上清もデカンテーションで除去しているという。施設Aは固定剤による反応と洗浄操作の繰り返しで、検体調整中にCD34⁺を喪失したと考えられた。実際、CD34⁺が固定と洗浄により失われ6~7割に減ずることが報告されており¹¹⁾¹²⁾、本研究の施設Aと他施設との差と同程度である。固定剤はCD34分子を変化させ、洗浄操作は含有する細胞の比重が異なることからその存在率を変えるとされる。ガイドラインはこのことも加味されているが、検体調整法の重要性は十分浸透していないと思われる。

しかしサンプルが固定血球では、検体調整が不適切でも、測定やゲーティングが正しければ結果に反映されないことも示された。生細胞と比重が異なることが理由の1つと考えられる。外部精度管理に生の血球を使用するのは困難であり、CAPやUK-NEQASも固定血球が配布されるが、別途検体調整法を確認することにも必要と考えられた。

CD34⁺数測定検査には施設間差が存在すること、検体調整も含めた正しい検査方法の啓蒙が必要であることが明らかとなった。国内有数の経験のある施設においても無視できない施設間差が生じていることから、全

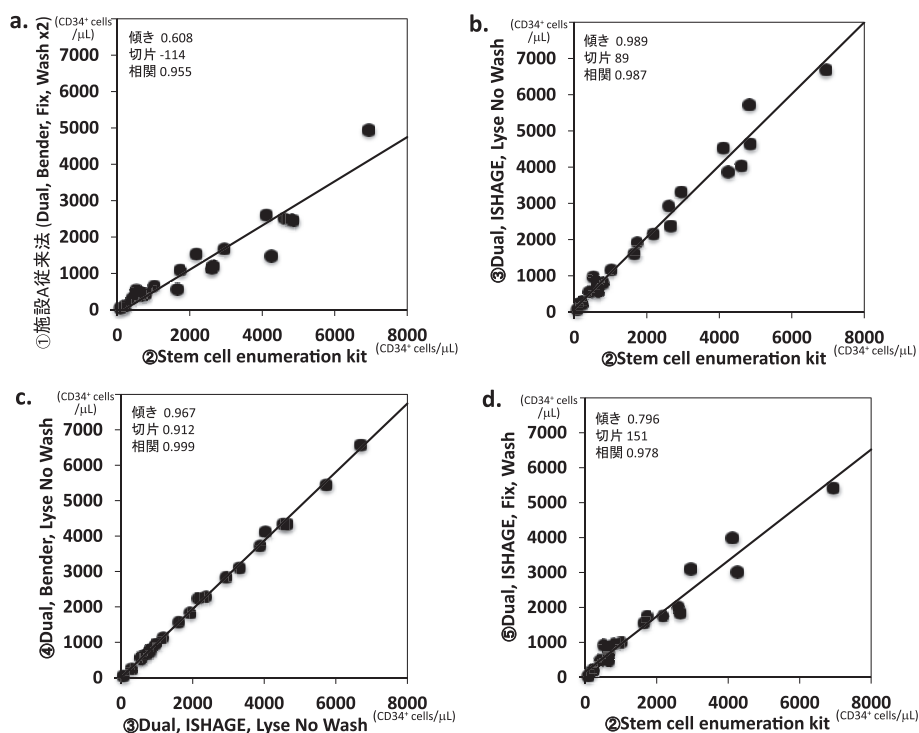


図4 施設Aにおける様々な測定法での値との直交回帰
患者7名とドナー16名での検討。図中の数字は本文の「方法」に記載した数字に対応している。

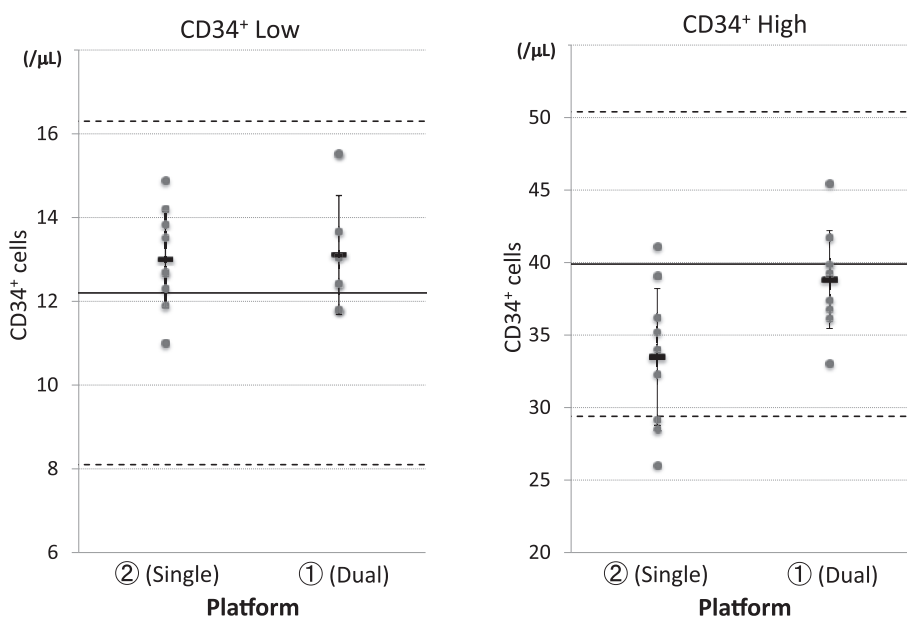


図5 市販のコントロール血球をもちいて反復測定した値
Low と High の2種類の濃度のサンプルを、それぞれを3名の検査者が3回ずつ2種類の測定法で測定した値をプロットした（すなわちそれぞれ n=9）。横棒はそれらの平均値、ひげはSDを示す。表中の実線と点線はそれぞれのサンプルのメーカー推奨値とその範囲を示す。測定法の数字は本文「方法」の記載に対応している。

国レベルではさらに大きな差があることが予想される。ガイドライン整備も含め国内の測定法の標準化、及び適切な外部精度管理体制の確立が急務であると考えら

れた。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

謝辞：日本赤十字社に検体搬送いただいた。慶應大学輸血・細胞治療センターの渡邊直英先生、がん・感染症センター都立駒込病院臨床研究支援室シニア統計家斎藤誠先生に助言をいただいた。東京大学医科学研究所附属病院セルプロセッシング・輸血部の山本由紀先生、がん・感染症センター都立駒込病院輸血・細胞治療科の西村加世、森山昌彦、間由紀の諸先生に技術的な協力をいただいた。この研究は「平成27年度において、日本医療研究開発機構研究費（免疫アレルギー疾患等実用化研究事業）を受け、実施した研究の成果」である。

文 献

- 1) PBSCTに関する委員会：非血縁者間末梢血幹細胞採取マニュアル，骨髓移植推進財団，東京，2010。
- 2) Sutherland DR, Anderson L, Keeney M, et al: The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. *International Society of Hematotherapy and Graft Engineering*, 5: 213—226, 1996.
- 3) Gratama JW, Orfao A, Barnett D, et al: Flow cytometric enumeration of CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells. *Cytometry*, 34: 128—142, 1998.
- 4) Keeney M, Chin-Yee I, Weir K, et al: Single platform flow cytometric absolute CD34+ cell counts based on the ISHAGE guidelines. *Cytometry*, 34: 61—70, 1998.
- 5) Sutherland DR, Keeney M, Gratama JW: Enumeration of CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells. *Current Protocols in Cytometry*, Chapter 6: Unit 6.4, 2003.
- 6) 日本臨床検査標準協議会，血液検査標準化検討委員会，フローサイトメトリーワーキンググループ：フローサイトメトリーによるCD34陽性細胞検出に関するガイドライン（JCCLS H3-P V1.0）。2007。 http://www.jccls.org/state/pdf/fct_h3pv1.pdf（2015年9月現在）
- 7) Barnett D, Granger V, Kraan J, et al: Reduction of intra- and interlaboratory variation in CD34+ stem cell enumeration using stable test material, standard protocols and targeted training. *Br J Haematol*, 108: 784—792, 2000.
- 8) Gratama JW, Kraan J, Keeney M, et al: Validation of the single-platform ISHAGE method for CD34(+) hematopoietic stem and progenitor cell enumeration in an international multicenter study. *Cytotherapy*, 5: 55—65, 2003.
- 9) Levering WH, Preijers FW, van Wieringen WN, et al: Flow cytometric CD34+ stem cell enumeration: Lessons from nine years' external quality assessment within the Benelux countries. *Cytometry B Clin Cytom*, 72B: 178—188, 2007.
- 10) Whitby A, Whitby L, Fletcher M, et al: ISHAGE protocol: Are we doing it correctly? *Cytometry B Clin Cytom*, 82B: 9—17, 2012.
- 11) Menéndez P, Redondo O, Rodriguez A, et al: Comparison between a lyse-and-then-wash method and a lyse-non-wash technique for the enumeration of CD34+ hematopoietic progenitor cells. *Cytometry*, 34: 264—271, 1998.
- 12) Brocklebank AM, Sparrow RL: Enumeration of CD34+ cells in cord blood: A variation on a single-platform flow cytometric method based on the ISHAGE gating strategy. *Cytometry*, 46: 254—261, 2001.

INTER-LABORATORY COMPARISON OF CD34⁺ CELL ENUMERATION

*Kyoko Haraguchi¹⁾, Yoshiki Okuyama¹⁾, Ryuji Tanosaki²⁾, Yukiko Kunitomo¹⁾, Shigeyoshi Yoshida³⁾,
Tomoe Uemura⁴⁾, Masanori Fukawa⁵⁾, Miyuki Ito⁶⁾, Takehiko Mori⁷⁾, Kazuteru Ohashi⁸⁾,
Shuichi Taniguchi⁹⁾, Shigeyoshi Makino⁵⁾, Minoko Takanashi¹⁰⁾ and Hisashi Sakamaki⁸⁾*

¹⁾Division of Transfusion and Cell Therapy,

Tokyo Metropolitan Cancer and Infectious Diseases Center Komagome Hospital

²⁾Department of Blood Transfusion and Cellular Therapy, National Cancer Center Hospital

³⁾Department of Clinical Laboratories, National Cancer Center Hospital

⁴⁾Department of Transfusion and Cell Therapy, Keio University Hospital

⁵⁾Department of Transfusion Medicine, Toranomon Hospital

⁶⁾Japanese Red Cross Kanto-koshinetsu Block Blood Center

⁷⁾Division of Hematology, Department of Medicine, Keio University School of Medicine

⁸⁾Hematology Division, Tokyo Metropolitan Cancer and Infectious Diseases Center Komagome Hospital

⁹⁾Department of Hematology, Toranomon Hospital

¹⁰⁾Japanese Red Cross Society, Blood Service Headquarters

Abstract:

Accurate enumeration of CD34⁺ cells is crucial for peripheral blood stem cell transplantation. However, there is currently no standardization or external quality control of CD34⁺ cell enumeration techniques in Japan. To assess data variability among laboratories, we quantified CD34⁺ cells isolated from the same fresh peripheral blood stem cell samples at six expert laboratories on the same day that they were harvested from patients. The coefficient of variation was less than 25%, and data from all laboratories were closely correlated. However, data obtained from one laboratory were significantly lower than data from other laboratories. Inappropriate methods of erythrocyte lysis and cell washing—rather than non-ISHAGE gating or dual platform methods—may have caused these significantly lower counts. However, expected results were obtained when fixed control cells were enumerated. External quality assessment using appropriate samples and standardization of methodologies for CD34⁺ enumeration are important for reducing inter-laboratory variation in results.

Keywords:

Peripheral blood stem cell harvest, CD34⁺ cell, Flow cytometry, Quality control, Inter-laboratory variation