

臍帯血移植時のアナフィラキシー対策として洗浄臍帯血が有効であった 1 例

水村 真也¹⁾ 高橋 里奈¹⁾ 関 紀子¹⁾ 櫻井 梨恵¹⁾ 芳野 達弘¹⁾
吉井 真司¹⁾ 海堀いず美¹⁾ 府川 正儀¹⁾ 田矢 祐規²⁾ 高橋 敦子³⁾
長村登紀子³⁾ 牧野 茂義⁴⁾ 森 有紀¹⁾

治療抵抗性急性骨髄性白血病 (AML) の 30 代女性患者に対して初回の臍帯血移植 (CBT, 有核細胞数 1.72×10^7 個/kg) を行ったところ, 輸注時に呼吸困難, SpO₂ 低下, 血圧低下を伴うアナフィラキシーを認めた. 直ちに輸注を中止し, エピネフリン筋注+補液で対処した. 輸注は 80% 以上が完了していたため再開しなかった. 移植後 25 日目に生着を確認した. その後 AML の再発を認め, 移植後 18 カ月の時点で 2 回目の CBT を検討, 実施にあたりアナフィラキシー予防として臍帯血の洗浄を実施した. 有核細胞数 3.20×10^7 個/kg の臍帯血を 37°C の恒温槽で急速解凍後, アルブミン・生食加デキストラン (ALB/D) 液を急激な浸透圧変化を避けるため低温で緩徐に混和した. 冷却遠心後に上清を捨て, 再び ALB/D 液を加え最終容量 50ml とした. 洗浄後の生細胞率は 89.8%, 有核細胞回収率は 80.5% であった. 明らかな副反応は認めず移植後 13 日目に生着, 91 日目に退院となった.

臍帯血の洗浄は, 輸注時のアナフィラキシー予防として, 有核細胞回収率及び生細胞率共に良好かつ生着も担保され得る有用な手段であることが示唆された.

キーワード: 洗浄臍帯血, アナフィラキシー, デキストラン・アルブミン段階希釈法

はじめに

臍帯血移植において, 輸注に伴う副反応は一定数存在し, 嘔吐・吐き気・悪心, 蕁麻疹(発赤・皮疹含む)などの非重篤症例だけでなく, アナフィラキシーショックなどの重篤な副反応も少数ながら報告されている¹⁾²⁾.

輸注関連副反応の原因として, 臍帯血移植や末梢血幹細胞移植の凍結保存に用いられる凍害保護液が広く知られているが^{3)~6)}, 凍結保存を行わない骨髄移植でも輸注時の副反応は報告されており, 原因が特定できない場合も多い⁷⁾. しかし, 凍害保護液の 1 つである Dimethyl sulfoxide (DMSO) に関しては, 比較的多くの報告があり^{4)~7)}, 輸注前に DMSO を除去することにより副反応の低減や重篤化の回避が可能との報告も存在し⁸⁾, 国内においても畑野ら²⁾がアルブミンと低分子デキストランで 2 回洗浄した臍帯血によりアナフィラキシーを回避できたことを報告している.

今回, 初回臍帯血輸注時にアナフィラキシーショックを認めた患者の再移植に際して, アナフィラキシーの再燃予防として臍帯血の洗浄が有効であった症例を

経験したので報告する.

症 例

急性骨髄性白血病 (AML) と診断された 30 歳代女性, idarubicin と cytarabine による寛解導入療法に不応で, FLT3 遺伝子変異陽性が判明後は gilteritinib により病勢コントロールの上, fludarabine + melphalan + busulfan + cytarabine を前処置として, 臍帯血移植を実施した. Hydrocortisone 100mg + chlorphenamine 5mg を前投薬として, 臍帯血を解凍後 [有核細胞数 10.08×10^8 個 (1.72×10^7 個/kg), CD34 陽性細胞数 4.34×10^6 個 (0.75×10^5 個/kg)], 速やかに輸注を開始したところ (輸注速度: 5ml/分), 開始 4 分後に, 呼吸困難, SpO₂ 低下 (77%), 血圧低下 (73/39mmHg) を認めた. 直ちに輸注を中止し, アナフィラキシーショックの診断にて epinephrine 0.3mg の筋肉内注射と補液を行った. 輸注は 80% 以上が完了していたため, 残りの臍帯血の投与は行わなかった. 経過に大きな問題なく, 移植後 25 日目に生着を認めた (表 1).

1) 虎の門病院輸血部

2) 虎の門病院血液内科

3) 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

4) 東京都赤十字血液センター

[受付日: 2023 年 6 月 21 日, 受理日: 2023 年 8 月 2 日]

表1 背景

	初回臍帯血移植	第2回目臍帯血移植	デキストラン・アルブミン 段階希釈法
有核細胞数 (解凍時)	10.08×10 ⁸ 個 (1.72×10 ⁷ 個/kg)	15.14×10 ⁸ 個 (3.20×10 ⁷ 個/kg)	
CD34 陽性細胞数 (解凍時)	4.34×10 ⁶ 個 (0.75×10 ⁵ 個/kg)	4.22×10 ⁶ 個 (0.90×10 ⁵ 個/kg)	
血液型			
患者	O 型 RhD 陽性	O 型 RhD 陽性	
ドナー	O 型 RhD 陽性	B 型 RhD 陽性	
移植前輸血歴と副反応			
赤血球液	3 回	9 回	[経過時間]
血小板製剤	1 回	28 回	
副反応	なし	なし	
移植前抗 HLA 抗体*1	陰性	陰性	
抗血漿タンパク質抗体*2	陰性 (血漿タンパク欠損なし*3)		<事前準備完了>
臍帯血洗浄	なし	あり：デキストラン・アルブミン段階希釈法 洗浄後生細胞率：89.8% 有核細胞回収率：80.5%	臍帯血解凍 ↓ 洗浄開始 ↓ 洗浄終了 [解凍から 50 分] ↓ 病棟へ：5 分 ↓ 輸注準備：5 分 ↓ 輸注開始 解凍後から輸注開始まで 60 分
臍帯血輸注時の経過			
前投薬	ヒドロコルチゾン 100mg+クロルフェニラミン 5mg		
輸注	↓ 臍帯血 20ml 輸注後呼吸苦出現 SpO ₂ : 77% BP : 73/39mmHg ⇒アナフィラキシーショック エビネフリン 0.3mg 筋注+補液 15 分後呼名反応あり SpO ₂ : 99% BP : 112/72mmHg ↓	↓ 輸注時副反応なし ↓ ↓ ↓ ↓	
生着	移植後第 25 日	移植後第 13 日	

*1 LABScreen Single Antigen
*2 蛍光磁気ビーズ法
*3 ネフェロメトリー法

患者に食品や薬剤に対するアレルギー歴は認めず、移植前に計 4 回(赤血球液各 2 単位×3 回, 血小板製剤 10 単位×1 回)の輸血歴があったが、いずれの輸血時にも副反応は認められなかった。抗血漿タンパク質(ハプトグロビン及び IgA) 抗体は陰性で血漿タンパク質欠損はなく、ドナーに対する抗 HLA 抗体も陰性であった。また、移植時に発熱は認められず、移植日前後の血液培養検査はいずれも陰性だった。

移植後 1 年 3 カ月で AML の再発を認め、venetoclax + azacitidine 療法にて寛解に至り、再移植を検討した。患者は血縁者及び骨髄バンクに適合するドナーはなく、第 2 回目も臍帯血移植を実施した。初回移植時にアナフィラキシーショックを認めたことから、第 2 回目の臍帯血移植にあたり、アナフィラキシー予防としてデキストラン・アルブミン段階希釈法による臍帯血の洗浄を実施した⁹⁾¹⁰⁾。

なお、当該処理にあたり、事前に血液内科部長了承のもと主治医が本人及び家族へ説明し同意を取得した。

洗浄作業は、解凍と遠心の工程を除き、使用前後の清掃・消毒等、適切に管理された輸血部クリーンルーム内にあるクリーンベンチ(クラス 100: ダルトン株式

会社, SC-I6FAG02)にて無菌的に行った。具体的な手順を以下に示す。

デキストラン・アルブミン段階希釈法

【事前準備】図 1

1) テルモ分離バッグ 600ml 用 bag A に 25% アルブミン 20ml と生理食塩水 80ml を加え、さらに 10% デキストラン 100ml を加え、アルブミン・デキストラン混和液 (Alb/D 液) を作製し、4℃ 10 分で冷却した。

2) 作製した Alb/D 液を 30ml シリンジ 4 本に 25ml ずつ子分注し、②~④は 4℃ の保冷庫で保管した。

3) 血液成分分離 bag(200ml 用: NIPRO)を準備し、bag C に Alb/D シリンジ①を 25ml 注入した。

4) 臍帯血を 37℃ の恒温槽で急速解凍した。

【作業工程】図 2

1) 解凍済み臍帯血を 30ml シリンジで吸引し、コネクタから bag B に注入した(この時、bag C 側のクランプは閉じておく)(図 2 (1))。

2) bag B を保冷剤の上に乗せ、bag C から緩徐に Alb/D 混和液を注入した。注入の際、4℃ で冷やしながらか急激な浸透圧変化を避けるため、ローラークランプで流

— 備品・消耗品 —	
・25%アルブミン、10%デキストラン、生理食塩水100ml、シリンジ(20ml 1本・30ml 6本・50ml 3本)、18G注射針 ・600ml分離bag、血液成分分離bag、はさみ、鉗子、保冷剤、分離スタンド、電子天秤、気泡緩衝材、消毒用アルコール綿	

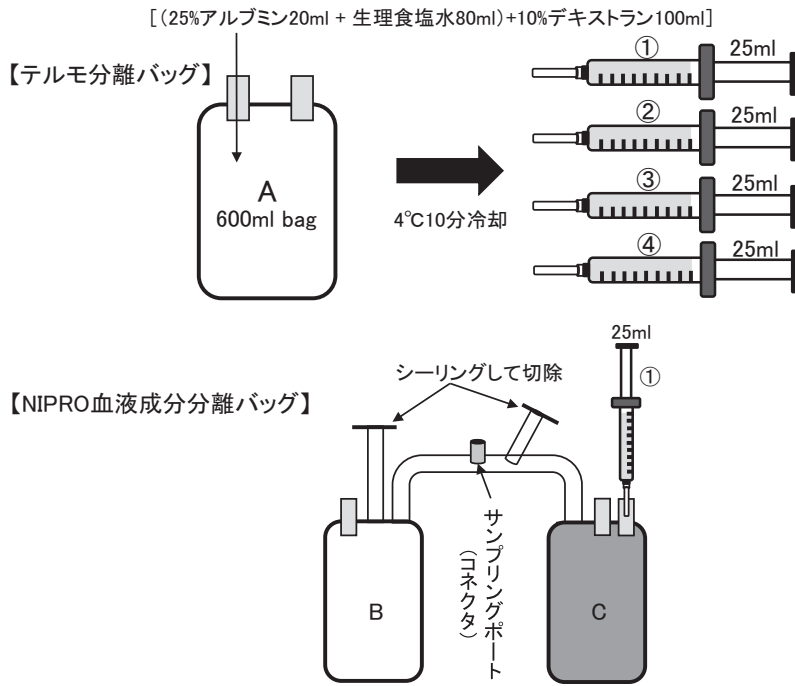


図1 デキストラン・アルブミン段階希釈法 事前準備

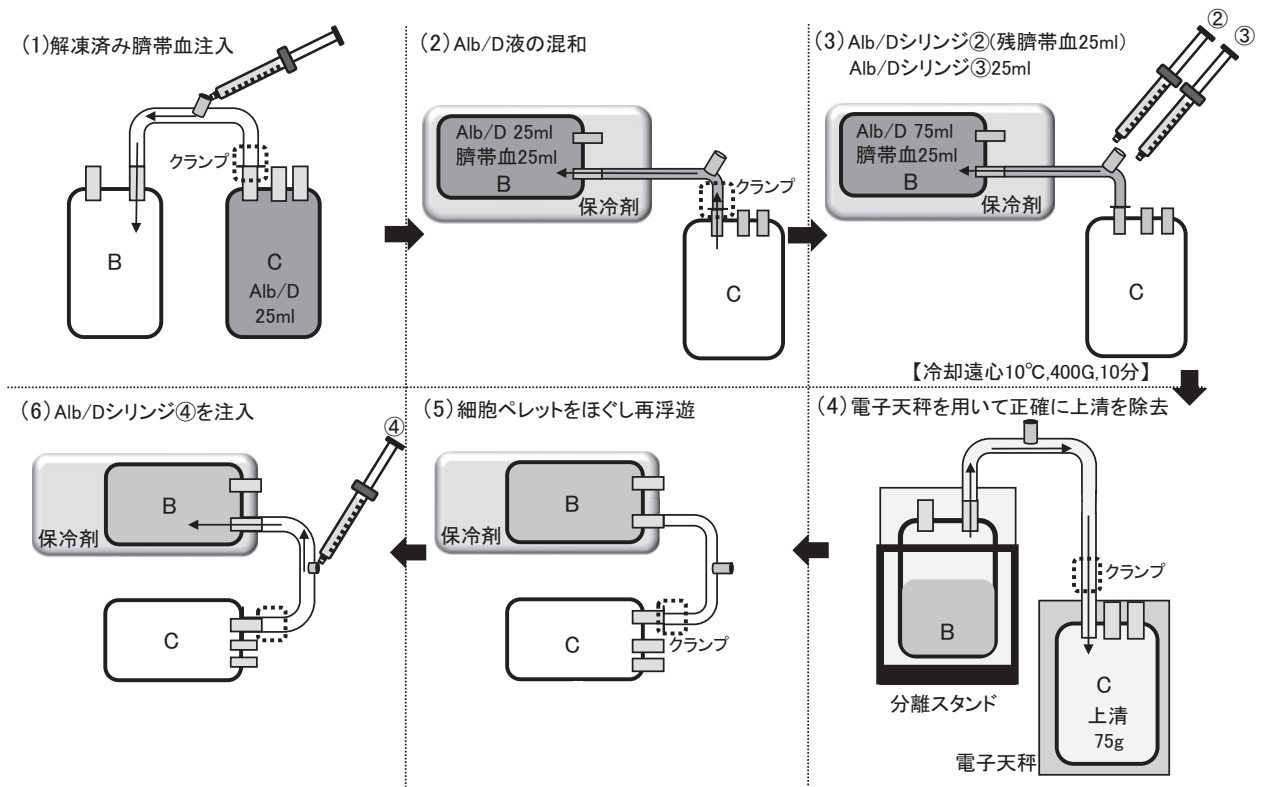


図2 デキストラン・アルブミン段階希釈法 簡易作業工程

量を調節しながらゆっくり入れる (図2 (2)).

3) 5分間静置する.

この間に Alb/D シリンジ②を使って, 臍帯血 bag に残っている臍帯血を回収し, 5分静置後の bag B に入れる (図2 (3)).

4) Alb/D シリンジ③ 25ml を bag B に注入する (図2 (3)).

5) 大型冷却遠心機で, 10°C, 400G, 10分間遠心する.

6) 分離スタンドを使用し, bag B の上清 75g を電子天秤上の bag C に移動させる (上清 75g を bag C に移動させる) (図2 (4)).

7) 上清を除去した bag B の細胞ペレットを, 保冷剤の上でゆっくり優しくほぐし再浮遊させる (図2 (5)).

8) 保冷剤で冷却しながらコネクタから Alb/D シリンジ④ 25ml を bag B に注入する (図2 (6)).

(洗浄臍帯血: Alb/D 混和液 = 8 倍希釈, 最終容量: 50ml)

9) 4°C に保ち速やかに使用する.

【洗浄臍帯血】

洗浄後の生細胞率をフローサイトメトリーにて測定したところ 89.8% であり, 有核細胞回収率 (解凍時データと比較) は 80.5% であった. なお, 洗浄後の CD34 陽性細胞回収率は検体量不足のため測定できなかった.

【移植と臨床経過】

移植前処置は, fludarabine + melphalan + total body irradiation を用いた. 初回移植と同様に hydrocortisone 100mg + chlorphenamine 5mg を前投薬として, 臍帯血 [解凍時: 有核細胞数 15.14×10^8 個 (3.20×10^7 個/kg), CD34 陽性細胞数 4.22×10^6 個 (0.90×10^5 個/kg)] の輸注 (3~4ml/分で輸注し, 全量 50ml を 15 分で投与終了) を行った. 明らかな副反応は認めず移植を完了した. 移植後 13 日目に生着を確認, その後の経過も大きな問題はなく 91 日目に退院された.

考 察

本症例より, 臍帯血の洗浄は, 輸注時のアナフィラキシー予防として有効な手段であり, 洗浄後の有核細胞回収率及び生細胞率共に良好で, 生着も十分に担保され得ることが示唆された.

臍帯血の輸注に際して様々な副反応が起こり得るが, 重症度の高いものとしてアナフィラキシーが占める頻度は比較的高い¹⁾. 輸注関連副反応の原因として, 凍結時に使用する凍害保護液の関与が広く知られているが^{2)~6)8)}, 造血幹細胞輸注時の副反応のリスク因子として輸血時の副反応の既往が報告されており, 血液成分など細胞保護液以外に起因する可能性も否定できない⁷⁾. 実際, その機序は複雑で, 十分に解明されていないが⁸⁾, 関与し得る要因として, ①DMSO, ②解凍後の細胞凝

集塊と死細胞の残骸, ③赤血球の溶血, ④全有核細胞数と細胞浮遊液量, ⑤低温での輸注 (製剤の低温), ⑥電解質の不均衡, ⑦輸注前投薬などが挙げられている³⁾. 本症例は臍帯血の細胞数・容量共に適切で, 細胞凝集塊や溶血も認められず, 輸注時は適温に保たれ, 電解質異常や輸注前投薬自体の副作用も認められず, DMSO 以外の要因は全て否定的であった. さらに, 移植前の複数回の輸血において副反応を認めず, 血漿タンパク質抗体及びドナーに対する HLA 抗体が陰性であり, デキストラン・アルブミン段階希釈法による洗浄操作により, 初回の臍帯血輸注時に認めたアナフィラキシーの発症を回避できたことから, DMSO に起因する可能性が最も高いと考えられた.

北米では, 臍帯血中の造血幹細胞を浸透圧によるダメージから保護し安定化させる目的で, 解凍した臍帯血を洗浄または希釈後に輸注することが推奨されている⁹⁾¹¹⁾¹²⁾. しかし, 洗浄の有無は生着率に影響を与えないとする報告もあり¹⁰⁾, 本邦では極力造血幹細胞のロスを避けるべく, ベッドサイドで解凍後速やかに輸注されることが多い. 本症例における洗浄後の有核細胞回収率及び生細胞率は共に 80% 以上を維持しており, 臨床的にも速やかな生着が得られた. 臍帯血の容量は総じて少なく, 洗浄操作による細胞ロスも考慮すると, 全例に実施するのは難しい. しかしながら, 過去の造血細胞移植時に重篤な副反応を認め, 再移植に際して輸注関連副反応のリスクが強く懸念される症例での実施は検討に値すると考えられる.

著者の COI 開示: 本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) Hashimoto S, Kato K, Kai S, et al: Adverse events caused by cord blood infusion in Japan during a 5-year period. *Vox Sang*, 118: 84—92, 2022.
- 2) 畑野かおる, 藤原慎一郎, 岸野光司, 他: 臍帯血輸注時のアナフィラキシー. *日本輸血・細胞治療学会誌*, 60: 513—514, 2014.
- 3) Shu Z, Heimfeld S, Gao D: Hematopoietic SCT with cryopreserved grafts: adverse reactions after transplantation and cryoprotectant removal before infusion. *Bone Marrow Transplant*, 49: 469—476, 2013.
- 4) Morris C, de Wreede L, Scholten M, et al: Chronic Malignancies and Lymphoma Working Parties of EBMT: Should the standard dimethyl sulfoxide concentration be reduced? Results of a European Group for Blood and Marrow Transplantation prospective noninterventional study on usage and side effects of dimethyl sulfoxide. *Transfusion*, 54: 2514—2522, 2014.

- 5) Donmez A, Tombuloglu M, Gungor A, et al: Clinical side effects during peripheral blood progenitor cell infusion. *Transfus Apher Sci*, 36: 95—101, 2007.
- 6) Ruiz-Delgado GJ, Mancias-Guerra C, Tamez-Gómez EL, et al: Dimethyl sulfoxide-induced toxicity in cord blood stem cell transplantation: report of three cases and review of the literature. *Acta Haematol*, 122: 1—5, 2009.
- 7) Ikeda K, Ohto H, Okuyama Y, et al: Adverse Events Associated With Infusion of Hematopoietic Stem Cell Products: A Prospective and Multicenter Surveillance Study. *Transfus Med Rev*, 32: 186—194, 2018.
- 8) Sanchez-Salinas A, Cabanas-Perianes V, Blanquer M, et al: An automatic wash method for dimethyl sulfoxide removal in autologous hematopoietic stem cell transplantation decreases the adverse effects related to infusion. *Transfusion*, 52: 2382—2386, 2012.
- 9) Rubinstein P, Dobrila L, Rosenfield RE, et al: Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Proc Natl Acad sci USA*, 92: 10119—10122, 1995.
- 10) Nagamura-Inoue T, Shioya M, Sugo M, et al: Wash-out of DMSO does not improve the speed of engraftment of cord blood transplantation: follow-up of 46 adult patients with units shipped from a single cord blood bank. *Transfusion*, 43: 1285—1295, 2003.
- 11) Dahi PB, Ponce DM, Devlin S, et al: No wash albumin-dextran dilution for double-unit cord blood transplantation is safe with high rates of sustained donor engraftment. *Biol Blood Marrow Transplant*, 20: 490—494, 2013.
- 12) Scaradavou A, Avecilla ST, Tonon J, et al: American Society for Transplantation and Cellular Therapy Cord Blood Special Interest Group: Guidelines for Cord Blood Unit Thaw and Infusion. *Biol Blood Marrow Transplant*, 26: 1780—1783, 2020.

PROPHYLACTIC EFFICACY OF WASHED CORD BLOOD AGAINST ANAPHYLAXIS ASSOCIATED WITH CORD BLOOD TRANSPLANTATION: A CASE REPORT

Shinya Mizumura¹⁾, Rina Takahashi¹⁾, Noriko Seki¹⁾, Rie Sakurai¹⁾, Tatsuhiro Yoshino¹⁾, Shinji Yoshii¹⁾, Izumi Kaihori¹⁾, Masanori Fukawa¹⁾, Yuki Taya²⁾, Atsuko Takahashi³⁾, Tokiko Nagamura-Inoue³⁾, Shigeyoshi Makino⁴⁾ and Yuki Asano-Mori¹⁾

¹⁾Department of Transfusion Medicine, Toranomon Hospital

²⁾Department of Hematology, Toranomon Hospital

³⁾Department of Cell Processing and Transfusion, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

⁴⁾Japanese Red Cross Tokyo Metropolitan Blood Center

Abstract:

We report the successful prevention of recurrent anaphylaxis with washed cord blood (CB) at second cord blood transplantation (CBT) in a patient who experienced severe anaphylactic events during infusion at the first CBT.

A Japanese woman in her 30s diagnosed with acute myelogenous leukemia (AML) received the first CBT (nucleated cell count (NCC) $1.72 \times 10^7/\text{kg}$). When the approximate 80% compartment of the CB unit was infused, anaphylaxis with dyspnea, hypoxia and hypotension occurred. The infusion was immediately stopped and she was treated with intramuscular injection of epinephrine. Although the remaining 20% portion was not infused, engraftment was achieved at day 25 after transplantation. At 18 months after the first CBT, retransplantation was planned for AML relapse using washed CB to prevent recurrence of anaphylaxis. After one CB unit (NCC $3.20 \times 10^7/\text{kg}$) was thawed in a 37°C water bath, it was slowly diluted with a solution containing albumin and dextran (ALB/D) and centrifuged while cooling. The supernatant was removed, and the ALB/D solution was added to a final volume of 50ml. The washed CB was infused into the patient as soon as possible. No anaphylactic reaction was observed, and CB cells were successfully engrafted at day 13 after the second CBT.

Keywords:

washed cord blood, anaphylaxis, dextran-albumin step dilution method