

## 非血縁者間末梢血幹細胞移植における採取施設と移植施設の CD34 測定値に関する実態調査

原口 京子<sup>1)</sup> 高橋 敦子<sup>2)</sup> 奥山 美樹<sup>1)</sup> 高橋 典子<sup>3)</sup> 宮本 京子<sup>4)</sup>  
李 悦子<sup>5)</sup> 高杉 淑子<sup>6)</sup> 金子 誠<sup>7)</sup> 池田 和彦<sup>8)</sup> 石丸 文彦<sup>9)</sup>  
高梨美乃子<sup>9)</sup> 上田 恭典<sup>10)</sup> 長村 (井上) 登紀子<sup>2)</sup> 田野崎隆二<sup>11)</sup> 日本輸血・細胞治療学会細胞治療合同委員会造血幹細胞移植関連委員会造血細胞検査ワーキンググループ

CD34 陽性細胞 (CD34<sup>+</sup>) 数は測定方法で差が生じる。海外に遅れて非血縁者間末梢血幹細胞移植 (UPBSCT) が開始された 2011 年以降に標準化が推進され、2016 と 2017 年の国内初の外部精度評価研究で施設間差の改善を認めた。今回 2020 年 2 月までの約 10 年間の UPBSCT において、採取施設と移植施設の CD34<sup>+</sup>測定値を比較し施設間差の実態と経時の変化を調査した。日本骨髓バンクより全 1,047 件の CD34<sup>+</sup>数 (採取施設測定) を得たが、調査参加の 117 施設から得られた移植施設 CD34<sup>+</sup>数の情報は 257 件であった。うち 244 件は採取施設の測定法情報も得た。両施設の値は高い相関を示した ( $r^2=0.854$ ) が、最大 5 倍の差の外れ値も認めた。両施設が single platform 法の 159 件と、片方または両方が dual platform 法 (DP group) 85 件とで違い率 (差/平均) に有意差は無かった。2016~18 年は 2011~15 年より違い率が有意に低下し、DP group で顕著に改善した。しかし 2019~20 年には差が再び増加する傾向がみられ、継続的な標準化維持対策の必要性が示された。

キーワード：CD34 陽性細胞，末梢血幹細胞採取，日本骨髓バンク，施設間差，フローサイトメトリー

### はじめに

造血幹細胞移植療法は難治性造血器疾患に対する極めて有効な治療法として確立されている。このうち日本骨髓バンク (JMDP) を介した非血縁者間 (U) 末梢血幹細胞移植 (PBSCT) は 2011 年から実施され、2023 年 12 月現在、140 施設が採取施設として認定されている。

PBSCT の生着には、十分な数の造血幹細胞を移植することが必要で、それが含まれる CD34 陽性細胞 (CD34<sup>+</sup>)

の数にて末梢血幹細胞採取 (PBSCH) 量を規定している。したがって、CD34<sup>+</sup>の精確な定量が移植成功の鍵となるが、存在率が低く、フローサイトメトリーで測定するも方法により値が異なるとされる<sup>1)~3)</sup>。

国際的に CD34<sup>+</sup>測定法は、蛍光標識内部標準粒子を添加しフローサイトメーター (FCM) のみで絶対数を測定する Single Platform 法 (SP) が推奨されている。対して、血球計数装置で測定した白血球数を CD45 陽性細胞 (CD45<sup>+</sup>) として、FCM で測定した CD45<sup>+</sup>中の CD34<sup>+</sup>

- 1) がん・感染症センター 都立駒込病院輸血・細胞治療科
  - 2) 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
  - 3) 国立がん研究センター中央病院臨床検査科
  - 4) 九州大学病院遺伝子・細胞療法部
  - 5) 徳島大学病院輸血・細胞治療部
  - 6) 高松赤十字病院血液内科
  - 7) 三井記念病院臨床検査部
  - 8) 福島県立医科大学輸血・移植免疫学講座
  - 9) 日本赤十字社血液事業本部
  - 10) 倉敷中央病院血液内科，血液治療センター
  - 11) 慶應義塾大学医学部輸血・細胞療法センター
- 第 70 回日本輸血・細胞治療学会学術総会優秀演題  
連絡責任者：原口 京子，E-mail : kyoh-tky@umin.ac.jp  
〔受付日：2023 年 11 月 7 日，受理日：2024 年 1 月 30 日〕

Table 1 Sample characteristics.

	Number of facilities	Number of samples
Data from JMDP	128	1,047
Participants	117	998
Enumeration at transplant sites		
Yes	17	77
Partially*	20	183
No	80	
Enumeration method at transplant sites***		
Single Platform	32	211
Dual Platform	6	46
Participants of collection sites	78	249
Enumeration method at collection sites***		
Single platform	68	197
Dual platform	12	52

\*Facilities where only some samples were enumerated. \*\*The following were excluded: inadequate sampling from only one of two bags (n=1); the data reported by the collection facility to JMDP and those to the transplant facility (by the Harvest Report) differ by an order of magnitude (n=2). \*\*\*In some facilities, both methods were measured, depending on the case.

比から CD34<sup>+</sup>数を求める方法が Dual Platform 法(DP)で、標準粒子を用いない分コストは低いが精確性に問題がある。

国内では、JMDP の PBSCH 施設要件に CD34<sup>+</sup>測定法の規定はなく<sup>4)</sup>、最近まで標準化の動きに乏しかった。そこで、輸血・細胞治療学会では 2013 年より委員会を設置して、CD34<sup>+</sup>測定法の標準化に取り組み、2016 年から 2 年間、国内初の外部精度調査 (external quality assessment ; EQA) 研究を実施した<sup>5)</sup>。さらに 2017 年に日本臨床検査標準協議会で「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」<sup>6)</sup>が発行され、2018 年には検体検査の精度の確保に関する改正医療法が施行、商業ベースの EQA も開始され、飛躍的に環境が整った。これらの変化を受けて、開始から約 10 年で累計約 1,000 件となる JMDP を介した UPBSC T において、施設間差の推移を調査することにした。

## 方 法

本研究は、研究事務局の都立駒込病院および JMDP の倫理審査を受け、調査対象となった各施設の倫理規定に基づき実施した。

JMDP を介して実施した 2020 年 2 月までのすべての UPBSC H を対象とした。Table 1 に検体数と施設数を示す。

JMDP より、対象期間の全 1,047 件の PBSCH 症例毎の採取日、採取施設、末梢血幹細胞液量、採取 CD34<sup>+</sup>数、患者体重あたりの CD34<sup>+</sup>数、移植施設のリストを得た。

研究事務局より全移植 128 施設に該当ドナーの上記情報を提示し、移植日、CD34<sup>+</sup>数測定の有無と測定日、移植施設で測定した CD34<sup>+</sup>総数、患者体重あたりの

CD34<sup>+</sup>数、測定方法を 117 施設より得た。

移植施設での CD34<sup>+</sup>測定値が得られた症例について、当該症例の採取施設に再度確認し、78 施設より CD34<sup>+</sup>数測定方法を得た。

統計解析には JMP9.0 を使用し、5% 以下を有意水準とした。

## 結 果

### 移植施設における CD34<sup>+</sup>測定

回答した 117 の移植施設のうち 68% にあたる 80 施設は、自施設での CD34<sup>+</sup>測定がなかった (Table 1)。

以下、研究対象期間の全採取 1,047 件に対して 25% に相当する 257 件の有効データの解析を示す。

### 採取施設と移植施設の測定値の比較

総 CD34<sup>+</sup>数で強い相関が得られたものの (Fig. 1a)、Bland-Altman 分析で、大きな外れ値が複数認められた (Fig. 1b)。最も大きな差を認めた例は、採取施設の患者体重あたりの記載が  $1.68 \times 10^6$  個/kg、移植施設の記載は  $8.41 \times 10^6$  個/kg と、5 倍異なっていた。

### 測定法と時期による違い

2 つの CD34<sup>+</sup>数の差を、それらの平均で除したものを「違い率」で評価した。2 回測定のばらつきは 10% 以内がガイドラインの推奨である<sup>6)</sup>が、時間の空いた異なる施設での測定を加味し、0.15 すなわち 15% を超えた場合に許容できない差とした。

全データを、採取施設・移植施設いずれでも SP で測定した場合 (SP group) と、いずれかまたは双方が DP で測定した場合 (DP group) を比較したが、有意な差は認められなかった (Fig. 2a)。

測定時期を 2015 年までの UPBSC T 開始「初期」、2016~18 年の CD34<sup>+</sup>測定法標準化「推進期」、2019~20 年の

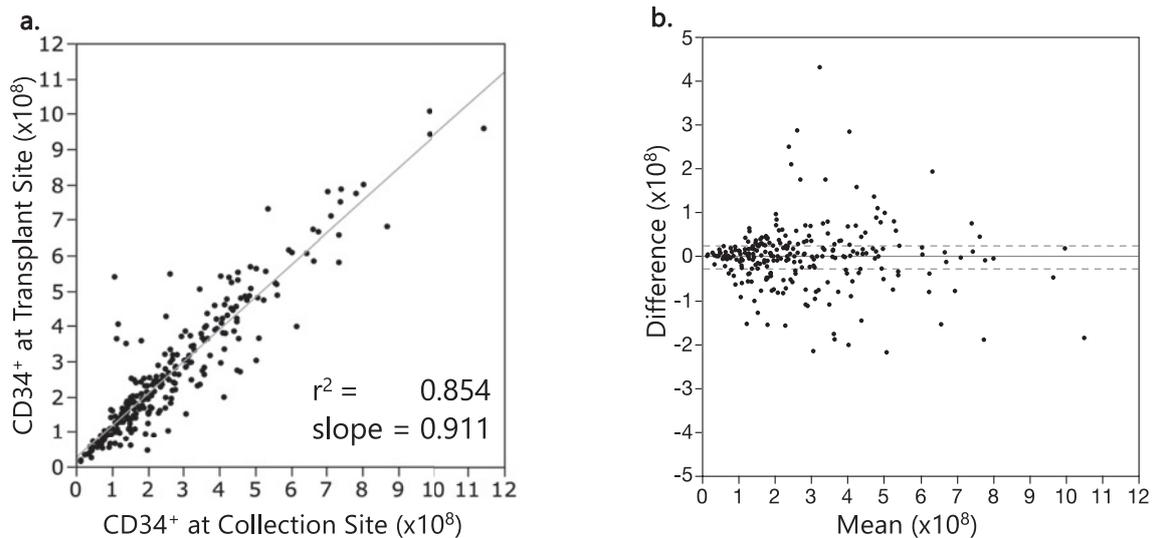


Fig. 1 a. Correlation between CD34<sup>+</sup> values at the collection and transplant sites. The straight line indicates the regression line. b. Mean-Difference plot of CD34<sup>+</sup> values at the collection and transplant sites. The solid line indicates the median, and the broken lines indicate the first and third quartiles.

「維持期」に分けて比較すると、初期には62%のPBSCT症例で違い率0.15を超える、許容できない施設間差を認めたが、推進期は有意に低下し、約半数の70例で違い率0.10以下と高い一致を示した。維持期には初期との有意差が消失し、0.10以下は25例(38%)に減少した (Fig. 2b)。

時期による差を方法別に再解析すると、SP groupは時期による有意差は認めなかった一方、DP groupでは、初期は極端に大きなバラツキを示したが、推進期以降は大きく改善し、SP groupと同様となった。DP group症例の割合も初期は50例中27例(54%)であったが、推進期は135例中35例(26%)と減少した。なお、維持期は59例中23例(39%)であった (Fig. 3)。

採取施設と移植施設のCD34<sup>+</sup>数のうち大きい値を小さい値で除した比を経時的にプロットしたところ、古い時期に差が大きかった症例はDP groupであったが、近年はSP groupでも乖離が見られていた (Fig. 4)。

#### 採取後経過時間別の比較

PBSCTは運搬の都合上、採取翌日に実施する場合も少なくない。実際、CD34<sup>+</sup>測定の有無にかかわらず、552件中248件が採取翌日に、5件は翌々日以降に移植されていた(データ示さず)。測定を翌日以降にすることによる有意な差は認めなかった (Fig. 5)。

## 考 察

PBSCTは、自家移植のほぼ全例と血縁者間移植の多くで実施され、非血縁者間移植においても近年急速にPBSCT数が増加している<sup>7)</sup>。海外では骨髄移植の件数を大きく上回る地域も多い<sup>8)~10)</sup>。

PBSCTは国際的に1990年頃から急速に増加し、国内でも1994年に自家、2000年に同種PBSCTが保険収載された。CD34<sup>+</sup>測定法は1996年に階層化ゲーティングを用いたThe International Society of Hematotherapy and Graft Engineering (ISHAGE, 現 International Society for Cell & Gene Therapy ; ISCT)のガイドライン<sup>11)</sup>、1998年にSPが導入され<sup>12)</sup>、標準的な測定法として確立した<sup>13)</sup>。しかし国内はUPBSCTが開始されるまで自施設内で採取と移植が完結し、CD34<sup>+</sup>測定が独立で算定されないこともあってDPが続けられ、本研究でも開始初期はDP groupの6割以上で許容できない施設間差を示していた。

日本輸血・細胞治療学会細胞治療委員会の活動等が功を奏したか、EQA研究2年目では前年より変動係数が低下し<sup>14)</sup>、SPの施設が増えた<sup>15)</sup>。測定法の統一によって施設間のバラツキが小さくなると報告されている通り<sup>16)</sup>、本研究でも、SPの施設が増え、15%以上の差を示した例は標準化推進期に大きく減った。DPを続けた施設も見直しや改善を実施したと推測される。我々の啓蒙や医療を取り巻く状況の変化による顕著な改善が認められ、取り組みに対する一定の効果が示された。しかし、それでも許容できない差を示した例もみられた。

標準化維持期には、EQAは学会主導研究が終了し民間の有償に移行した。この時期には施設間差が再度広がる傾向がある上、SPの施設同士でも許容できない程度の差が生じた。データは示していないが、施設間差が増加した理由として、施設の移植経験数とも関係がなかった。これまで、推奨測定法のワークショップを

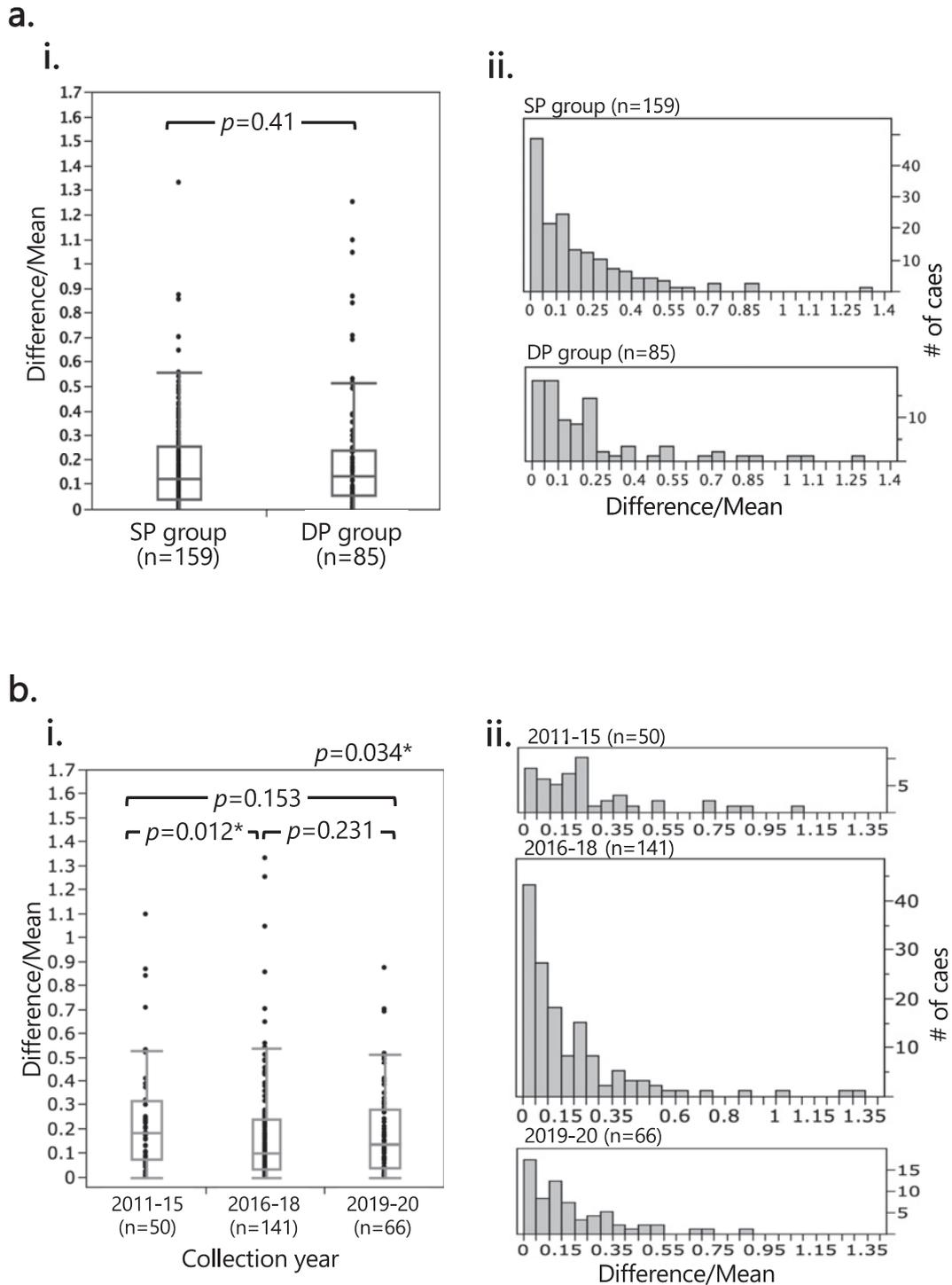
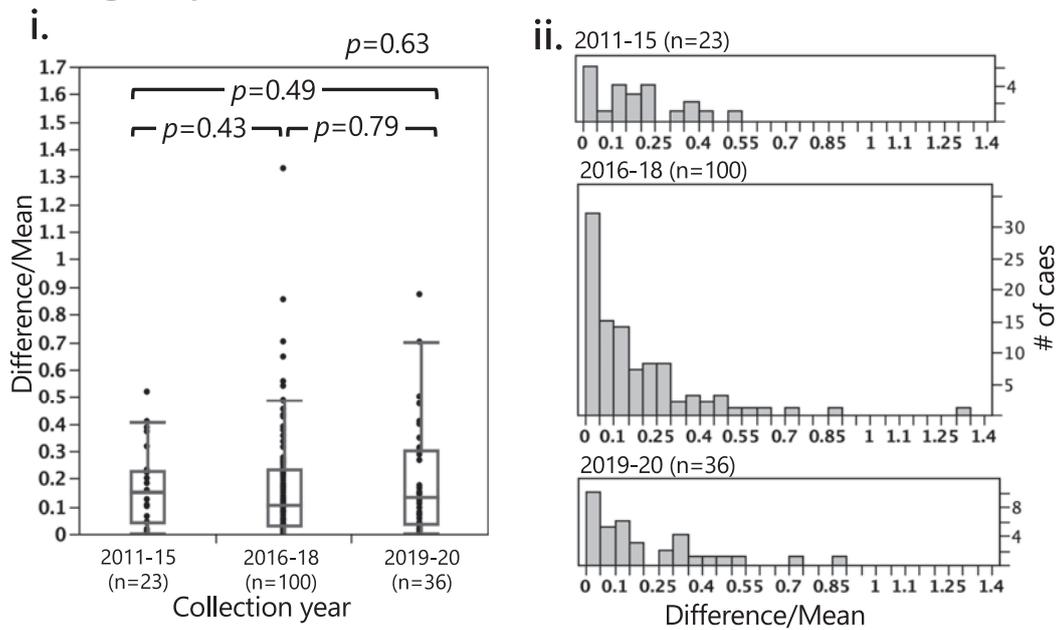


Fig. 2 a.i. Box plots overlaid on a scatterplot (same hereafter) of the difference rate (difference/mean) between enumeration methods. The SP group comprised data obtained using a single-platform method at both the collection and transplant sites. The DP group comprised data obtained using a dual-platform method at one or both sites. The median difference rate between the SP group and DP group was 0.122 and 0.132, respectively. ii. Histogram showing the difference rate per period. The number of cases with a difference rate exceeding 0.15 in the SP group and DP group was 66 (42%) and 40 (47%), respectively. b.i. Box plots of the difference rate by year showing the early stage of unrelated PBSCH (2011-15), standardization promotion period (2016-18), and maintenance period (2019-20). The median difference rate for 2011-15, 2016-18, and 2019-20 was 0.182, 0.100 and 0.139, respectively. ii. Histogram showing the difference rate per period. The number of cases with a difference rate exceeding 0.15 in 2011-15, 2016-18, and 2019-20 was 31 (62%), 53 (38%), and 29 (40%), respectively. The number of cases with a difference rate of less than 0.10 in 2011-15, 2016-18, and 2019-20 was 50 (28%), 70 (50%), and 25 (38%), respectively.

a. SP group



b. DP group

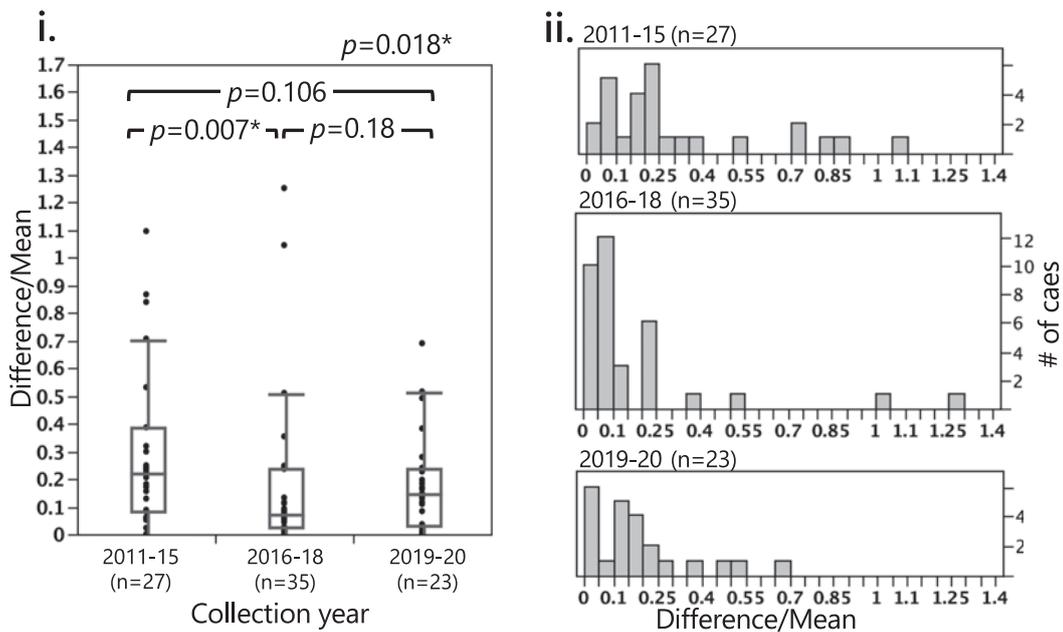


Fig. 3 a.i. Box plots of the difference rate by year in the SP group. The median difference rate for 2011-15, 2016-18, and 2019-20 was 0.158, 0.111, and 0.136, respectively. ii. Histogram showing the difference rate in the SP group per period. The number of cases with a difference rate exceeding 0.15 in 2011-15, 2016-18, and 2019-20 was 12 (52%), 39 (39%), and 15 (40%), respectively. b.i. Box plots of the difference rate by year in the DP group. The median difference rate for 2011-15, 2016-18, and 2019-20 was 0.225, 0.076, and 0.148, respectively. ii. Histogram showing the difference rate in the DP group per period. The number of cases with a difference rate exceeding 0.15 in 2011-15, 2016-18, and 2019-20 was 19 (70%), 10 (29%), and 11 (48%), respectively.

おこなうことにより施設間差を小さくできること<sup>17)</sup>, 標準化の維持には外部精度管理のみならず, 継続した教

育訓練が必要なこと<sup>18)</sup>が報告されており, 本邦も同様と考えられる. そこで輸血・細胞治療学会主導で学術総

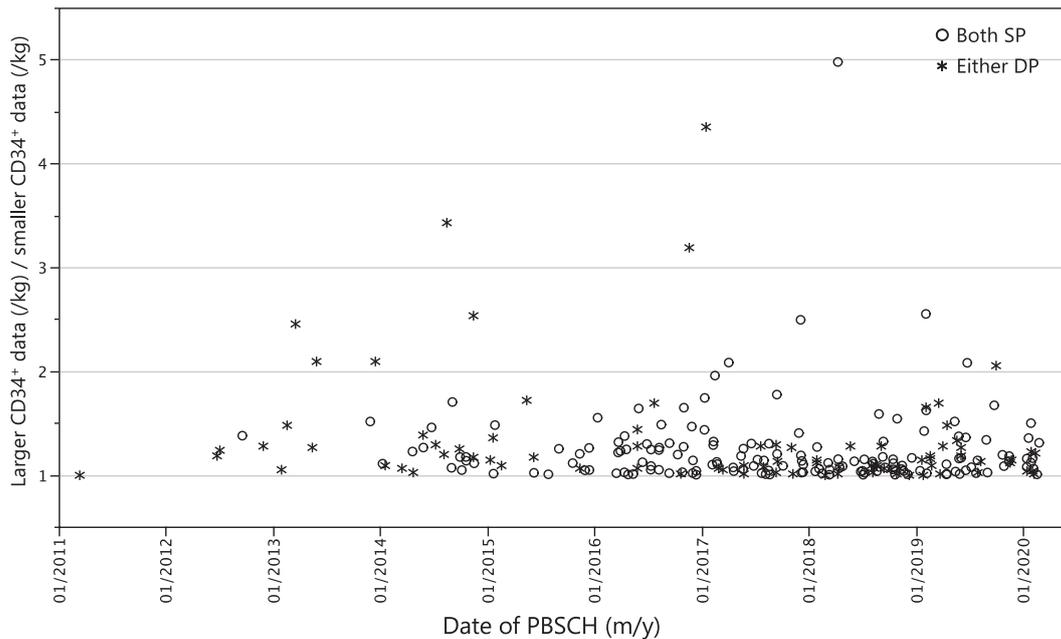


Fig. 4 Scatter plot showing the collection date and value per data set obtained by dividing the larger CD34<sup>+</sup> count/kg by the smaller CD34<sup>+</sup> count/kg. Consistency in patient body weight data was not taken into account.

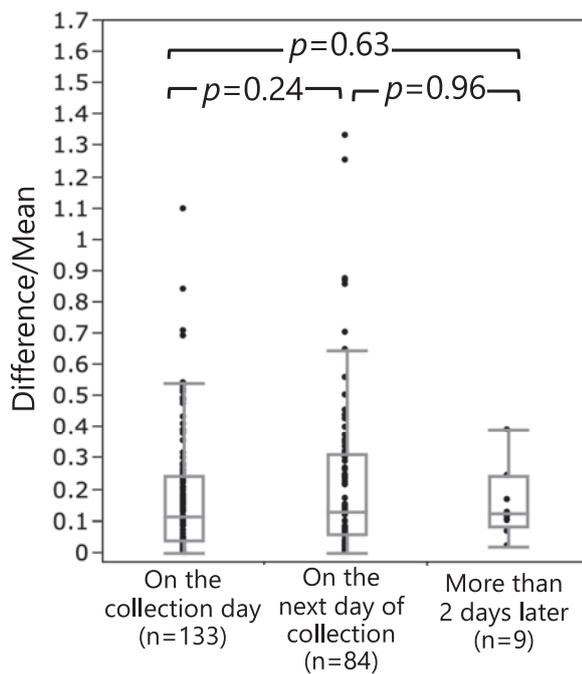


Fig. 5 Box plots of the difference rate by the timing of enumeration.

会時にセミナーを定期的開催する教育プログラムを開始したところである。SPによる測定やEQA参加条件に保険点数を加算する要望も継続している。

大きな施設間差によって最も懸念されることは、採取施設が十分量採取できたと判断したにもかかわらず、実際の移植細胞数は足りていなかったことで生着不全

をきたすことである。今回、移植施設で測定し直して患者体重あたりのCD34<sup>+</sup>数が $1 \times 10^6$ 個以下であったケースは2件あったが、いずれも生着不全はおこさなかったとの情報を得ており(私信)、これまでは少なすぎる測定結果による重大なオカレンスはないと考えられる。一方、多すぎれば移植片対宿主病(GVHD)の懸念もあるが、全量を移植しない場合もあり検証が難しい。生着不全もGVHDも移植細胞の多寡のみが原因ではなく、実際に移植する診療科がCD34<sup>+</sup>測定結果を意識するとは限らないため、検査部門は診療科側との連携に努める必要がある。

今回、多くの施設で、搬入された移植細胞のCD34<sup>+</sup>の再測定をしていないことが判明した。その理由として、1. 診療科からの要望が無い、あるいはそのまま病棟に搬入され検査する機会が無い、2. 移植施設では測定しても結果にかかわらず届いた細胞を移植する以外の選択肢はない上、正解も不明、3. 時間外に到着する可能性がある、4. サンプルは不潔になる恐れがある、5. 保険算定されない、などがあげられる。この中で3は採取翌日の測定でも影響は認めなかったもので、後追いの測定が可能である。4は採取施設にチューブを長く残す等の配慮が求められる。一方2の事情下でも、個体差が大きいCD34<sup>+</sup>数の施設間差が払拭できない現時点では、移植後経過に応じた迅速な対応のため、移植施設での再測定は検討の価値があるものの、5が最も大きなハードルと考えられる。

移植細胞の内容物をどちらの施設が責任を持つべき

か、骨髓液の有核細胞数は、日本骨髓バンクの調査で、採取施設が精確な数値を確認すべきと考える採取責任医師が94% (移植施設と双方48%を含む) を占めた<sup>19)</sup>。移植施設の値は採取施設にフィードバックがない (ただし逆は比較できる)。現状では本検査実施の認証を受ける必要のない採取施設の質の維持が最重要課題である。

なおグラフトの幹細胞量は、血液成分分離装置に表示される液量が経験的に数割程度不正確なことや、サンプリング方法によっても相違が生じうるが、現時点ではデータが不十分である。有核細胞数データでこれらの検証ができる可能性があるが、アフエレーシス産物は末梢血の組成と大きく異なり、血球計数装置での測定の高精度性についても疑問があるため今回は解析に加えなかった。

国内外のEQAは固定血球で実施している。しかし、生検体でなければ確認できない測定誤差も存在する<sup>3)</sup>。本研究対象は全PBSCHの25%であったが、本調査結果は世界的にも貴重なデータと考える。今後も同様の調査を実施できる体制を採取施設の負担を大きく増やさずに構築できないか模索中である。

著者のCOI開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

謝辞：本研究にご協力いただいた以下のご施設に深謝いたします。

日本骨髓バンク、旭川赤十字病院、北海道大学病院、札幌医科大学附属病院、札幌北榆病院、市立函館病院、青森県立中央病院、秋田大学医学部附属病院、岩手医科大学附属病院、山形大学医学部附属病院、東北大学病院、福島県立医科大学附属病院、太田西ノ内病院、筑波大学附属病院、自治医科大学附属病院、獨協医科大学病院、群馬県済生会前橋病院、群馬大学医学部附属病院、自治医科大学附属さいたま医療センター、埼玉医科大学国際医療センター、埼玉医科大学総合医療センター、埼玉県立がんセンター、防衛医科大学校病院、千葉市立青葉病院、千葉大学医学部附属病院、東京慈恵会医科大学附属柏病院、東京大学医学部附属病院、東京医科歯科大学病院、東京医科大学病院、東京慈恵会医科大学附属病院、東京女子医科大学病院、東京都済生会中央病院、東京都立駒込病院、日本医科大学付属病院、日本大学医学部附属板橋病院、聖路加国際病院、国立がん研究センター中央病院、慶應義塾大学病院、虎の門病院、日本赤十字社医療センター、東京都健康長寿医療センター、昭和大学病院、虎の門病院分院、神奈川県立がんセンター、神奈川県立こども医療センター、横浜市立大学附属市民総合医療センター、東海大学医学部附属病院、山梨県立中央病院、信州大学医学部附属病院、長野赤十字病院、新潟大学医歯学総合病院、長岡赤十字病院、静岡県立静岡がんセンター、静岡県立総合病院、浜松医療センター、浜松医科大学医学部附属病院、安城更生病院、名古屋市立大学病院、名古屋大学医学部附属病院、日本赤十字社愛知医療センター名古屋第一病院、日本赤

十字社愛知医療センター名古屋第二病院、名古屋医療センター、江南厚生病院、岐阜市民病院、富山赤十字病院、金沢大学附属病院、石川県立中央病院、三重大学医学部附属病院、滋賀医科大学医学部附属病院、大津赤十字病院、京都市立病院、京都大学医学部附属病院、京都府立医科大学附属病院、京都桂病院、大阪国際がんセンター、大阪市立総合医療センター、大阪公立大学医学部附属病院、大阪赤十字病院、大阪大学医学部附属病院、近畿大学病院、医学研究所北野病院、関西医科大学附属病院、府中病院、りんくう総合医療センター、松下記念病院、奈良県立医科大学附属病院 (小児科)、近畿大学奈良病院、和歌山県立医科大学附属病院、和歌山医療センター、兵庫県立こども病院、兵庫医科大学病院、神戸大学医学部附属病院、神戸市立医療センター中央市民病院、神鋼記念病院、岡山大学病院、川崎医科大学附属病院、倉敷中央病院、鳥取県立中央病院、米子医療センター、鳥根県立中央病院、鳥根大学医学部附属病院、広島赤十字・原爆病院、広島大学病院、山口大学医学部附属病院、香川大学医学部附属病院、高松赤十字病院、徳島赤十字病院、徳島大学病院、高知医療センター、高知大学医学部附属病院、愛媛県立中央病院、愛媛大学医学部附属病院、小倉記念病院、産業医科大学病院、九州病院、九州大学病院、国立病院機構九州医療センター、九州がんセンター、浜の町病院、久留米大学病院、佐賀県医療センター好生館、長崎大学病院、大分大学医学部附属病院、熊本大学病院、国立病院機構熊本医療センター、宮崎県立宮崎病院、宮崎大学医学部附属病院、鹿児島大学病院

## 文 献

- 1) 塩谷美夏, 長村 (井上) 登紀子, 須郷美智子, 他: 凍結臍帯血中のCD34陽性細胞測定法—ProCOUNT法と7-AAD法による比較検討—, 日本輸血細胞治療学会誌, 50: 605—612, 2004.
- 2) 斎藤俊一, 奥津美穂, 小幡悠子, 他: 異なる測定キットを用いたフローサイトメーター2機種間のCD34陽性細胞数測定の比較: Cytomics FC500とFACSCalibur, 日本輸血細胞治療学会誌, 53: 547—552, 2007.
- 3) 原口京子, 奥山美樹, 田野崎隆二, 他: CD34陽性細胞測定における施設間差の検討, 日本輸血細胞治療学会誌, 62: 32—40, 2016.
- 4) 日本造血・免疫細胞療法学会ホームページ: 造血細胞移植ガイドライン 造血幹細胞採取 (第2版) 2022年5月.  
[https://www.jstct.or.jp/uploads/files/guideline/02\\_03\\_harvest02.pdf](https://www.jstct.or.jp/uploads/files/guideline/02_03_harvest02.pdf) (2023年12月現在).
- 5) 原口京子, 奥山美樹, 高橋典子, 他: 固定血球を用いたCD34陽性細胞数測定の外部評価に関する全国多施設共同研究, 日本輸血細胞治療学会誌, 63: 126—134, 2017.

- 6) 日本輸血・細胞治療学会ホームページ：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-A V2.0）.  
[http://yuketsu.jstmct.or.jp/wp-content/uploads/2017/10/Guidelines\\_for\\_CD34aV2.pdf](http://yuketsu.jstmct.or.jp/wp-content/uploads/2017/10/Guidelines_for_CD34aV2.pdf)（2023年12月現在）.
- 7) 日本造血細胞移植データセンターホームページ：日本造血細胞移植データセンター/日本造血・免疫細胞療法学会 日本における造血細胞移植 2022年度全国調査報告書.  
<http://www.jdchct.or.jp/data/report/2022/>（2023年12月現在）.
- 8) Center for International Blood & Marrow Transplant Research ホームページ：Current Uses and Outcomes of Hematopoietic Cell Transplantation (HCT) in the US 2022 Summary Slides.  
<https://cibmtr.org/Files/Summary-Slides-Reports/The-US-Summary-Slides-2022-v4--web-version.pptx>（2023年12月現在）.
- 9) EBMT ホームページ：Transplant Activity Survey 2021 Summary.  
<https://www.ebmt.org/registry/transplant-activity-survey>  
<https://www.ebmt.org/sites/default/files/2023-04/Transplant%20Activity%20Survey%202021%20Summary.pptx>（2023年12月現在）.
- 10) KMDP ホームページ：Statistical Graphs.  
[https://kmdp.or.kr/e\\_2\\_2.php](https://kmdp.or.kr/e_2_2.php)（2023年12月現在）.
- 11) Sutherland DR, Anderson L, Keeney M, et al: The ISHAGE Guidelines for CD34+ Cells Determination by Flow Cytometry. *Journal of Hematotherapy*, 5: 213–226, 1996.
- 12) Keeney M, Chin-Yee I, Weir K, et al: Single platform flow cytometric absolute CD34+ cell counts based on the ISHAGE guidelines. *International Society of Hematotherapy and Graft Engineering. Cytometry*, 34: 61–70, 1998.
- 13) Gratama JW: Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline — Second Edition. CLSI document H42-A2, 2007.
- 14) 原口京子：CD34陽性細胞の標準化測定～外部制度評価の結果と課題，標準化への道筋～. *日本輸血細胞治療学会誌*, 64（5）：巻末 30, 2018.
- 15) 原口京子, 奥山美樹, 高橋典子, 他：国内におけるCD34陽性細胞数測定の外部評価に関する多施設共同研究. 第40回日本造血細胞移植学会総会, 207, 2018.
- 16) Gratama JW, Orfao A, Barnett D, et al: Flow cytometric enumeration of CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells. *Cytometry*, 34: 128–142, 1998.
- 17) Levering WHBM, Preijers FWMB, van Wieringen WN, et al: Flow cytometric CD34+ stem cell enumeration: Lessons from nine years' external quality assessment within the Benelux countries. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, 72B: 178–188, 2007.
- 18) Whitby A, Whitby L, Fletcher M, et al: ISHAGE protocol: are we doing it correctly? *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, 82B: 9–17, 2012.
- 19) 日本骨髄バンクホームページ：骨髄採取マニュアル【移植骨髄液の有核細胞数測定に関する提言】追加について（通知）.  
[https://www.jmdp.or.jp/news/news\\_file/file/manualchange\\_nucleatedcellcount.pdf](https://www.jmdp.or.jp/news/news_file/file/manualchange_nucleatedcellcount.pdf)（2023年12月現在）.

## COMPARISON OF CD34-POSITIVE CELL COUNT BETWEEN COLLECTION AND TRANSPLANT FACILITIES FOR UNRELATED PERIPHERAL BLOOD STEM CELL TRANSPLANTATION

*Kyoko Haraguchi<sup>1)</sup>, Atsuko Takahashi<sup>2)</sup>, Yoshiki Okuyama<sup>1)</sup>, Noriko Takahashi<sup>3)</sup>, Kyoko Miyamoto<sup>4)</sup>, Etsuko Lee<sup>5)</sup>, Yoshiko Takasugi<sup>6)</sup>, Makoto Kaneko<sup>7)</sup>, Kazuhiko Ikeda<sup>8)</sup>, Fumihiko Ishimaru<sup>9)</sup>, Minoko Takanashi<sup>9)</sup>, Yasunori Ueda<sup>10)</sup>, Tokiko Nagamura-Inoue<sup>2)</sup>, Ryuji Tanosaki<sup>11)</sup> and Working Group for Hematopoietic Cell Testing, Cell Therapy Committee, Japan Society Transfusion Medicine & Cell Therapy*

<sup>1)</sup>Division of Transfusion and Cell Therapy, Tokyo Metropolitan Cancer and Infectious Diseases Center Komagome Hospital

<sup>2)</sup>Department of Cell Processing and Transfusion, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

<sup>3)</sup>Department of Clinical Laboratories, National Cancer Center Hospital

<sup>4)</sup>Center for Cellular and Molecular Medicine, Kyushu University Hospital

<sup>5)</sup>Division of Transfusion Medicine and Cell Therapy, Tokushima University Hospital

<sup>6)</sup>Department of Hematology, Takamatsu Red Cross Hospital

<sup>7)</sup>Department of Clinical Laboratory, Mitsui Memorial Hospital

<sup>8)</sup>Department of Blood Transfusion and Transplantation Immunology, Fukushima Medical University

<sup>9)</sup>Japanese Red Cross Society, Blood Service Headquarters

<sup>10)</sup>Department of Hematology/Oncology, Transfusion and Hemapheresis Center, Kurashiki Central Hospital

<sup>11)</sup>Center for Transfusion Medicine and Cell Therapy, Keio University School of Medicine

### **Abstract:**

Standardization for CD34-positive cell (CD34<sup>+</sup>) count has been promoted in Japan since the first unrelated peripheral blood stem cell transplantation (UPBSCT) was performed in 2011. In 2016, an external quality assessment (EQA) study was conducted for the first time in Japan, leading to a reduction in inter-laboratory variations by the second EQA in 2017. Here, we investigated the variations and changes in CD34<sup>+</sup> count by examining pairs of values from collection and transplant sites in each UPBSCT. From the Japan Marrow Donor Program registry, 1,047 CD34<sup>+</sup> counts at collection sites were obtained. Among these, 257 CD34<sup>+</sup> counts were obtained from 117 transplant sites, including 244 data on the method at both sites. The paired values showed a strong correlation ( $r^2=0.854$ ), but outliers with up to a five-fold difference were observed. A single-platform method was used at both sites for 159 data pairs, while a dual-platform method was used at one or both sites (DP group) for the remaining pairs. In 2016-2018, the difference rate (difference/mean) was significantly lower than that in 2011-2015, especially in the DP group. However, in 2019-2020, the difference rate tended to increase, suggesting the need for continued education in cell enumeration methods.

### **Keywords:**

CD34<sup>+</sup> cell, Peripheral blood stem cell harvest, Japan Marrow Donor Program, Inter-laboratory variation, Flow cytometry