

リンパ球採取において、採取ポート内凝集塊形成により採取失敗となった 1 例

山崎 理絵¹⁾ 越川 翠²⁾ 藤沼 優樹²⁾ 稲垣 利紗²⁾ 上岡 天湖²⁾
坂井 聖子²⁾ 大石 知²⁾ 伊藤 太助²⁾ 平林 則行²⁾ 松橋 博子¹⁾
五十嵐靖浩¹⁾ 田野崎隆二¹⁾

採取ポート内血小板凝集により十分なリンパ球が採取出来ず再アフエーシスとなった 1 例を経験したため報告する。症例は 74 歳女性。びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) に対してキムリア®実施の方針となり、リンパ球採取目的で入院となった。ブラッドアクセスカテーテルを挿入し、スペクトラ オプティア、CMNC モードでリンパ球を採取した。採取後 1 時間で採取中間産物の細胞数を測定したところ、ANC : 2,350/ μ l、CD3 陽性リンパ球 : 603/ μ l と採取不良が判明した。終了後回路を確認すると、凝集塊を採取ポートに認め、これによる部分閉塞が原因と考えられた。翌日 AC 比を変更して再採取を実施し、十分量のリンパ球が採取出来た。リンパ球採取においては、インターフェイスを注意深く観察し、通常と異なる動きがある場合には、凝集塊発生の可能性を念頭に採血 AC 比を調整し迅速に対応する。中間産物の細胞数の確認は、適切に採取が進行していることを確認する手段として有効である。

キーワード：リンパ球アフエーシス，CAR-T 細胞療法

背 景

当院では 2018 年 1 月より 5 年 9 カ月の間に 98 件の Chimeric antigen receptor (CAR)-T 細胞療法用リンパ球採取を実施している。ほぼ全例が 1 日で採取出来ているが、凝集により採取出来ず再採取となった 1 例を経験した。

症 例

74 歳女性。X 年 3 月に濾胞性リンパ腫の診断となり、CHOP (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisolone) 療法 6 コースで完全奏功 (CR) となるも再発、BR (bendamustine, rituximab) 療法を 2 コース後、再度 CR となった。X+21 年 12 月にリンパ節病変増大し、再生検にてびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫の診断となった。翌年 1 月に R-ESHAP (rituximab, etoposide, methylprednisolone, cytarabine, cisplatin) 療法施行したが部分奏功で、キムリア®治療の方針となり 2 月にリンパ球採取を実施した。右大腿静脈よりブラッドアクセスカテーテルを挿入し、スペクトラ オプティア (テルモ BCT) を用いて CMNC モードで単核球を採取した。採血 AC 比は 13 : 1 とした。血

液処理速度は 42~48ml/min、開始 13 分後にインターフェイス形成が完了したが、プリファレンスを調整しても色調調整が困難であった。採取開始後 1 時間 (処理量 : 2,600ml、採取量 48ml) で採取中間産物の細胞数を測定したところ、白血球数 : 2,350/ μ l で全く濃縮されていないことが判明した (Table 1)。目視可能ライン内に凝集は認めず、インターフェイスも安定していた。プリファレンスの設定を調整したが改善せず採取中止とした。終了後回路を確認すると、凝集塊を採取ポートに認め (Fig. 1a)、鏡検すると白血球や赤血球を含む血小板凝集であった (Fig. 1b)。

翌日、採血 AC 比=10 : 1 として同じカテーテルを用いて再採取を実施した。採取中間産物中の白血球数は 45,230/ μ l であり (Table 1)、処理量 6.7l で規定量のリンパ球が採取出来た。

テルモ BCT に採取ログの確認を依頼したところ、バフィーコートの蓄積はスペクトラ オプティアが採取を開始した時点 (採血開始後 13 分) で出現、インターフェイスの凹凸は採取開始後 5 分から一時的に顕著になっており、採取開始数分の時点で凝集塊が形成されていたと考えられた。

1) 慶應義塾大学病院輸血・細胞療法センター

2) 慶應義塾大学病院医用工学室

連絡責任者：山崎 理絵，E-mail : r-yamazaki@keio.jp

〔受付日：2024 年 4 月 25 日，受理日：2024 年 6 月 11 日〕

Table 1 採取日の末梢血および採取中間産物の自動血球分析装置およびフローサイトメトリーによる測定値

	採取1日目		採取2日目	
	当日朝末梢血	1時間後採取産物	当日朝末梢血	1時間後採取産物
白血球	4,130/ μ l	2,350/ μ l	3,570/ μ l	45,230/ μ l
ヘモグロビン	10.5g/dl	0.4g/dl	10.6g/dl	0.3g/dl
ヘマトクリット	32.70%	2.00%	32.90%	1.90%
血小板	42.7×10^4 / μ l	39.4×10^4 / μ l	28.3×10^4 / μ l	201.8×10^4 / μ l
好中球	2,790/ μ l	1,180/ μ l	2,550/ μ l	3,000/ μ l
リンパ球	830/ μ l	670/ μ l	590/ μ l	32,300/ μ l
単球	420/ μ l	230/ μ l	350/ μ l	11,500/ μ l
CD3陽性リンパ球	773/ μ l	603/ μ l	549/ μ l	22,320/ μ l

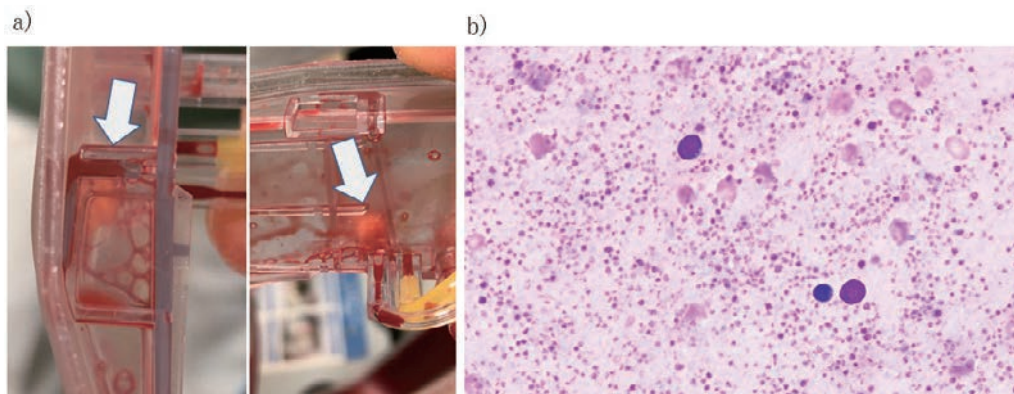


Fig. 1

- a) 採取終了後のオプティカ回路内に認められた凝集塊 (矢印). 中間層採取口に認められた.
 b) 凝集塊のメイ・ギムザ染色. 凝集塊は容易に崩れ, スライドガラス上で薄く引き伸ばしメイ・ギムザ染色後に鏡検すると, 血小板の中に白血球や赤血球が認められた.

考 察

近年 CAR-T 細胞療法に対するリンパ球アフェレーシスが広く実施されているが, 高齢者, 合併症をもつ患者, リンパ球の少ない患者の採取が増え, 有害事象の増加が懸念される. 長時間の採取ではクエン酸中毒の発生率も高くなる¹⁾. 採取中は患者と機器の細かな観察と調整が必須である.

本症例は, 凝集塊の出現により採取失敗となった. 凝集塊の出現は, インターフェイスの凹凸, プリファレンスのドットや採取ポート画像の細胞陰影の乱れ, ライン・バッグ内の血小板凝集などから推測出来る. インターフェイスの凹凸に関しては本症例でも開始後5分から一時的に顕著になっていたが, その後正常化してしまったため気づくことが出来なかった. しかし採取開始直後より色調調整が困難であったことは特徴的であり, このような兆候を認めた場合も凝集形成を疑うべきと考えられる. 当院の過去の解析では血小板数と採取効率 (collection efficiency; CE2) に有意な相関を認めていない²⁾が, 文献的には血小板数が多いと, リンパ球採取に際し CE2 が低下することが報告されている^{3,4)}. また G-CSF による幹細胞動員時には, 血小板数

と共に血小板活性化因子が上昇することが報告されている⁵⁾. 本症例では ESHAP 療法後 day31 に採取していたことから, 血小板が活性化された状態であった可能性がある.

リンパ球採取においては, インターフェイスや採取ステータス画面のドットを注意深く観察する. 通常と異なる動きがある場合には, 凝集塊発生の可能性を念頭に採血 AC 比を調整し迅速に対応する. 中間産物の細胞数の確認は, 適切に採取が進行していることを確認する手段として有効である.

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: テルモ BCT 株式会社, 慶應義塾大学病院血液内科の先生方, 慶應義塾大学医学部 臨床検査医学三ツ橋雄之先生のご協力を深謝いたします.

文 献

- 1) 岸本昌浩, 君島伊造, 大戸 齊, 他: 末梢血造血幹細胞採取時の血中イオン化カルシウム値の動態. 日本輸血細胞治療学会誌, 45: 456—461, 1999.

- 2) 山崎理絵, 上村知恵, 五十嵐靖浩, 他: 自動血球分析装置を用いた効率的な CAR-T 細胞療法用リンパ球採取予測法の検討. 日本輸血細胞治療学会誌, 69: 8—14, 2023.
- 3) Tuazon SA, Li A, Gooley T, Eunson TW, et al: Factors affecting lymphocyte collection efficiency for the manufacture of chimeric antigen receptor T cells in adults with B-cell malignancies. *Transfusion*, 59: 1773—1780, 2019.
- 4) Jo T, Yoshihara S, Hada A, et al: A clinically applicable prediction model to improve T cell collection in Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy. *Transplant Cell Ther*, 28: 365.e1-e7, 2022.
- 5) Nomura S, Inami N, Kanazawa S, et al: Elevation of platelet activation markers and chemokines during peripheral blood stem cell harvest with G-CSF. *Stem Cells*, 22: 696—703, 2004.

LYMPHOCYTE COLLECTION FAILURE DUE TO PLATELET AGGREGATES WITHIN COLLECTION PORT

Rie Yamazaki¹⁾, Midori Koshikawa²⁾, Yuuki Fujinuma²⁾, Risa Inagaki²⁾, Takako Kamioka²⁾, Seiko Sakai²⁾, Aki Ooishi²⁾, Tasuke Ito²⁾, Noriyuki Hirabayashi²⁾, Hiroko Matsuhashi¹⁾, Yasuhiro Igarashi¹⁾ and Ryuji Tanosaki¹⁾

¹⁾Center for Transfusion Medicine and Cell Therapy, Keio University Hospital

²⁾Office of Clinical Engineering, Keio University Hospital

Abstract:

We report a case of lymphocyte apheresis failure due to platelet aggregation. A 74-year-old woman with diffuse large B cell lymphoma was admitted to our hospital for the collection of lymphocytes for Kymriah[®] therapy. Lymphocytes were harvested using Spectra Optia in CMNC mode. After 1 hour of collection, we observed that the product's lymphocyte count was extremely low. We later recognized that platelet aggregates had obstructed the inlet of the collection port of the intermediate layer. During lymphocyte apheresis, careful observation of the interface is needed. If aggregate formation is suspected, the AC ratio of the blood should be adjusted immediately. The complete blood count of the intermediate product will be helpful in confirming if collection is proceeding under appropriate conditions.

Keywords:

Lymphocyte apheresis, CAR-T cell therapy