

原著

肺癌における末梢血幹細胞至適採取時期の指標についての検討

坂尾 直子¹⁾ 大道 和宏¹⁾ 有田 健一¹⁾
 杉原 基弘¹⁾ 坂本 直子¹⁾ 石井 尚子²⁾

要旨: 肺癌患者 17 例に対し CDDP, VP-16 の標準化学療法後の骨髓回復期に G-CSF を併用してのべ 57 回のアフェレーシスを行い各症例で末梢血幹細胞 (PBSC) を採取した。至適採取時期を決定するための指標を求めて PBSC 採取当日の末梢血所見と得られた PBSC の関連を中心に検討した。上記の標準化学療法によって十分量の PBSC 採取が可能であったが、採取効率 50 歳未満の若年者群が 50 歳以上の群に比べて良好であった。PBSC 採取当日の末梢血白血球数が 10,000/ μ l 以上、または末梢血血小板数 100,000/ μ l 以上、あるいは末梢血幼若顆粒球 10% 以上の際に PBSC の採取量は有意に高値であったことから PBSC 採取至適時期は採取当日の末梢血白血球数、末梢血血小板数、末梢血幼若顆粒球の出現状況を組み合わせて総合的に検討することにより十分推定可能であると考えられた。特に末梢血幼若顆粒球の出現は有用な指標で、出現から数日間が至適採取時期の可能性が高かった。

キーワード: 末梢血幹細胞, 肺癌, 幹細胞動員, 幹細胞採取時期, 造血幹細胞移植

Peripheral blood stem cell, Lung cancer, Mobilization, Timing of harvest, Hematopoietic stem cell transplantation

緒言

近年、肺癌化学療法の分野においても末梢血幹細胞移植 (Peripheral Blood Stem Cell Transplantation; 以下 PBST) は造血能回復を早める有効な一手段としての可能性が指摘されている¹⁾。PBST を安全に施行するためには、十分量の末梢血幹細胞 (Peripheral Blood Stem Cell; 以下 PBSC) を採取することが必要であるが、その採取時期の決定は臨床経験に頼るところが多い。PBSC 採取時期決定のための指標を得ることを目的に主に末梢血所見との関連について検討したので報告する。

対象および方法

1995 年 2 月から 1996 年 8 月までに肺癌と診断し、PS が 0 または 1 で末梢血幹細胞採取に対して同意が得られた 17 例 (小細胞癌 13 例, 腺癌 2 例, 扁平上皮癌 1 例, 組織型不明 1 例) を対象とした。(Table 1) 末梢血幹細胞採取の意義について個別に説明を行った。年齢は 40 ~ 66 歳 (平均 55.9 歳), 男女比は 15:2 であった。標準化学療法 (CDDP 50 mg/m² Day 1, 2 VP 16 100 mg/m² Day 1, 3, 5) 後の骨髓回復期に G-CSF (Lenograstim)

〒730 0052 広島市中区千田町一丁目 9 番 6 号

¹⁾ 広島赤十字・原爆病院呼吸器科

²⁾ 呉市医師会病院内科

(受付日平成 8 年 12 月 16 日)

Table 1 Patient characteristics

Case No.	Sex	Age	Histology	Number of cycles of apheresis
1	M	44	Sm	2
2	M	58	Sm	4
3	M	53	Sm	4
4	M	63	Ad	2
5	M	62	Sm	3
6	F	40	Ad	4
7	M	58	Sq	3
8	M	65	Sm	5
9	M	66	Sm	4
10	M	58	Sm	2
11	F	44	Sm	4
12	M	62	Sm	2
13	M	59	Sm	3
14	M	56	Sm	4
15	M	63	Sm	4
16	M	43	Un	3
17	M	56	Sm	4

Sm: Small cell carcinoma Sq: Squamous cell carcinoma

Ad: Adenocarcinoma Un: Unknown

100 μ g/body の皮下注を行った。白血球数が 5,000/ μ l 以上に回復した時期に PBSC 採取を行った。分離装置には COBE Spectra を使用し、処理血液量を 200 ml/kg に設定し 3~4 時間アフェレーシスを行った。採取された単核球抽出液を 1,200 rpm, 5 分間遠心した後、血球分離板で血小板多血漿を分離し患者に返血した。残った細胞

浮遊液 (30~50 ml) にヘパリン, ACD-A 液を加えて細胞濃度が $2 \sim 10 \times 10^7/\text{ml}$ になるよう RPMI 1640 培地を用いて調整した. その一部を用いてフローサイトメトリー法により CD 34 陽性細胞比率を測定した.

アフエーシスで採取された総細胞数や CD 34 陽性細胞数を年齢, 動員化学療法 (前述の標準化学療法) 回数, PBSC 採取当日の末梢血所見 (白血球数, 血小板数, 幼若顆粒球数比率, 単球数比率, リンパ球数比率) についてそれぞれ比較検討した. 統計学的解析には non-paired Wilcoxon test を用いた.

結 果

17 例の患者に対するべ 57 回のアフエーシスが施行された. アフエーシスにおいて得られた総細胞数や CD 34 陽性細胞数と各種パラメーターの関係を解析した結果は以下の如くである. 各症例で得られた CD 34 陽性細胞数は $(8.10 \pm 7.27) \times 10^6/\text{kg}$ (最低 $1.60 \times 10^6/\text{kg}$, 最高 $29.24 \times 10^6/\text{kg}$) であった.

(1) 患者の年齢との関係

50 歳未満の症例群と 50 歳以上の群との間で幹細胞の指標となる CD 34 陽性細胞数を比較検討した. CD 34 陽性細胞数は 50 歳未満の群 (3.39 ± 3.52) $\times 10^6/\text{kg}$ で 50 歳以上の群 (1.95 ± 2.72) $\times 10^6/\text{kg}$ に比べて有意に高値を示した ($p=0.0451$) (Fig. 1).

(2) PBSC 動員化学療法回数との関係

複数回の動員化学療法によって得られた総細胞数ならびに CD 34 陽性細胞数について動員化学療法回数との関係を検討した. 総細胞数は初回動員化学療法群 (210.3 ± 58.2) $\times 10^3/\mu\text{l}$ が 2 回目群 (168.2 ± 42.5) $\times 10^3/\mu\text{l}$ に比べて有意に高値を示した ($p=0.0258$). CD 34 陽性細胞数は初回群 (2.58 ± 3.34) $\times 10^6/\text{kg}$ と 2 回目群 (2.00 ± 2.57) $\times 10^6/\text{kg}$ との間には有意差は認められなかったが, その平均値でみる限り初回群に高値を示す傾向がみられた (Fig. 2).

(3) 末梢血白血球数との関係

PBSC 採取当日の末梢血白血球数が $10,000/\mu\text{l}$ 未満であった群と $10,000/\mu\text{l}$ 以上であった群の 2 群で総細胞数, CD 34 陽性細胞数を比較検討した. 総細胞数は白血球数 $10,000/\mu\text{l}$ 以上の群 (217.3 ± 54.5) $\times 10^3/\mu\text{l}$ が, $10,000/\mu\text{l}$ 未満の群 (168.9 ± 46.3) $\times 10^3/\mu\text{l}$ に比べて有意に高値を示した ($p<0.0001$). CD 34 陽性細胞数も白血球数 $10,000/\mu\text{l}$ 以上の群 (3.20 ± 3.88) $\times 10^6/\text{kg}$ が $10,000/\mu\text{l}$ 未満の群 (1.39 ± 1.13) $\times 10^6/\text{kg}$ に比べて有意に高値を示していた ($p=0.0298$) (Fig. 3).

(4) 末梢血血小板数との関係

PBSC 採取当日の末梢血血小板数が $100,000/\mu\text{l}$ 未満であった群と $100,000/\mu\text{l}$ 以上であった群との 2 群で総細胞

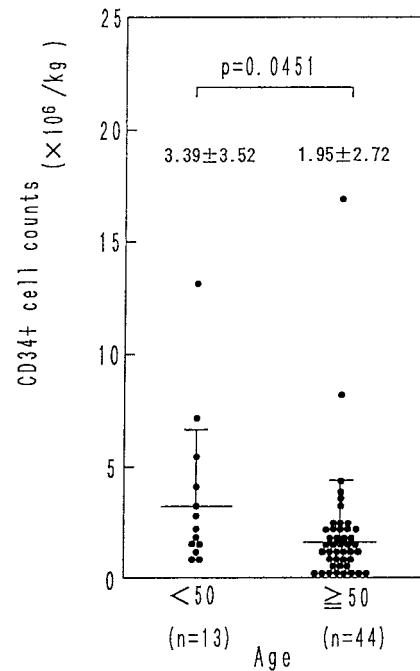


Fig. 1 Relationship between age and collected CD 34+ cell counts. Bars in the graph are means \pm SD.

数と CD 34 陽性細胞数を比較検討した. 総細胞数は血小板数 $100,000/\mu\text{l}$ 以上の群 (206.9 ± 53.1) $\times 10^3/\mu\text{l}$ が, $100,000/\mu\text{l}$ 未満の群 (144.4 ± 33.4) $\times 10^3/\mu\text{l}$ に比べて有意に高値を示した ($p<0.0001$). CD 34 陽性細胞数も血小板数 $100,000/\mu\text{l}$ 以上の群 (2.72 ± 3.22) $\times 10^6/\text{kg}$ が $100,000/\mu\text{l}$ 未満の群 (0.78 ± 0.56) $\times 10^6/\text{kg}$ に比べて有意に高値を示した ($p=0.0009$) (Fig. 4).

(5) 末梢血幼若顆粒球との関係

末梢全白血球数に対する幼若顆粒球 (Blast, Pro, Myelo, Meta) の割合と, 総細胞数ならびに CD 34 陽性細胞数との間にはそれぞれ危険率 1% 未満, 0.01% 未満の強い相関が見られた (Fig. 5).

そこで末梢血幼若顆粒球の割合が 10% 未満群と 10% 以上群との 2 群について総細胞数や CD 34 陽性細胞数に差があるか否かを検討した. 総細胞数に関しては末梢血幼若顆粒球数比率 10% 以上群 (230.3 ± 46.7) $\times 10^3/\mu\text{l}$ が 10% 未満群 (169.0 ± 47.6) $\times 10^3/\mu\text{l}$ に比較して有意に高値を示した ($p=0.0002$). CD 34 陽性細胞数に関しても末梢血幼若顆粒球数比率 10% 以上群 (3.99 ± 4.04) $\times 10^6/\text{kg}$ が 10% 未満の群 (1.21 ± 1.10) $\times 10^6/\text{kg}$ に比較して有意に高値を示した ($p<0.0001$) (Fig. 6).

(6) 末梢血単球との関係

末梢白血球全体に占める単球の割合が 10% 未満と 10% 以上の 2 群について, CD 34 陽性細胞数を比較検討した. 末梢血単球数比率 10% 未満群 (2.53 ± 3.44) $\times 10^6/\text{kg}$ と 10% 以上群 (1.71 ± 1.11) $\times 10^6/\text{kg}$ との間には

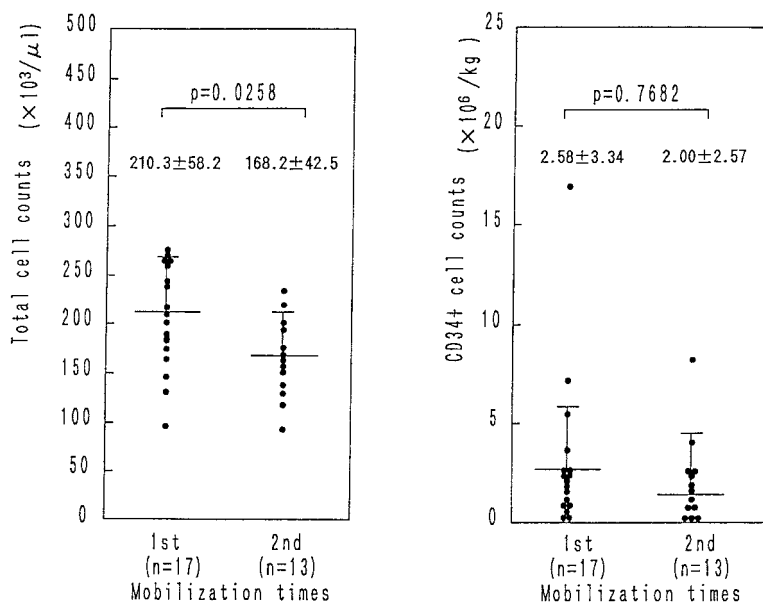


Fig. 2 Relationship between mobilization times and both total collected cell counts and CD 34+ cell counts. Bars in the graph are means \pm SD.

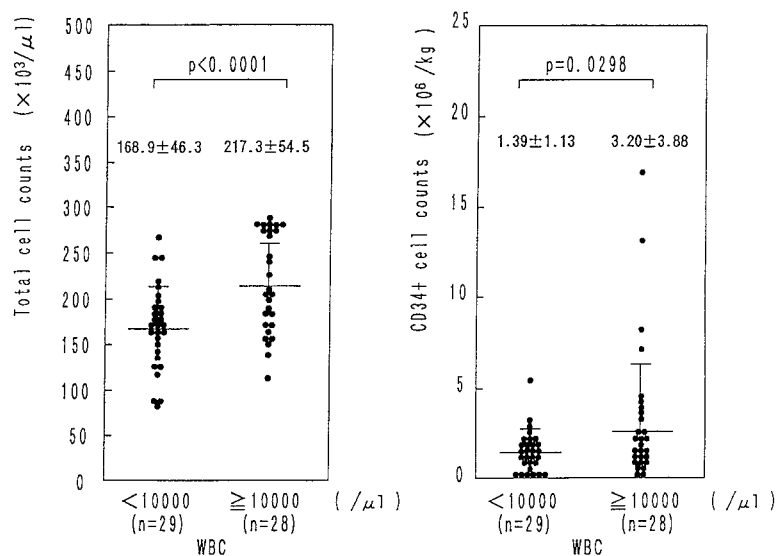


Fig. 3 Relationship between peripheral WBC counts and both collected total cell counts and CD 34+ cell counts. Bars in the graph are means \pm SD

有意差は認めなかった (Fig. 7 左).

(7) 末梢血リンパ球との関係

末梢血リンパ球の割合が 10% 未満である群と 10% 以上の群について CD 34 陽性細胞数を比較検討した。末梢血リンパ球数比率 10% 以上群 (3.00 ± 3.50) $\times 10^6/\text{kg}$) は 10% 未満群 (1.14 ± 1.08) $\times 10^6/\text{kg}$) に比較して有意に高い CD 34 陽性細胞数を示した ($p=0.0006$) (Fig. 7 右)。

考 察

PBSC は手技が比較的簡便であり、骨髄移植に比べて移植後の造血回復が速やかであること、PBSC 採取に全身麻酔を必要としないこと、腫瘍細胞の混入が少ないことなどの利点を有するため、肺小細胞癌の治療成績向上をめざした戦略手段の 1 つとして注目されている。骨髄抑制後の PBSC 動員の程度は先行する化学療法の強度に比例すると言われており、動員化学療法は cyclopho-

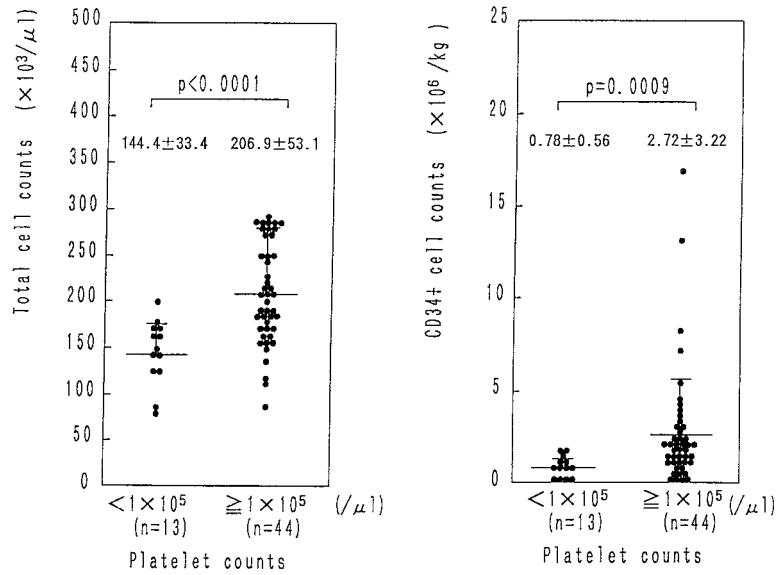


Fig. 4 Relationship between peripheral platelet counts and both collected total cell counts and CD 34+ cell counts. Bars in the graph are means \pm SD.

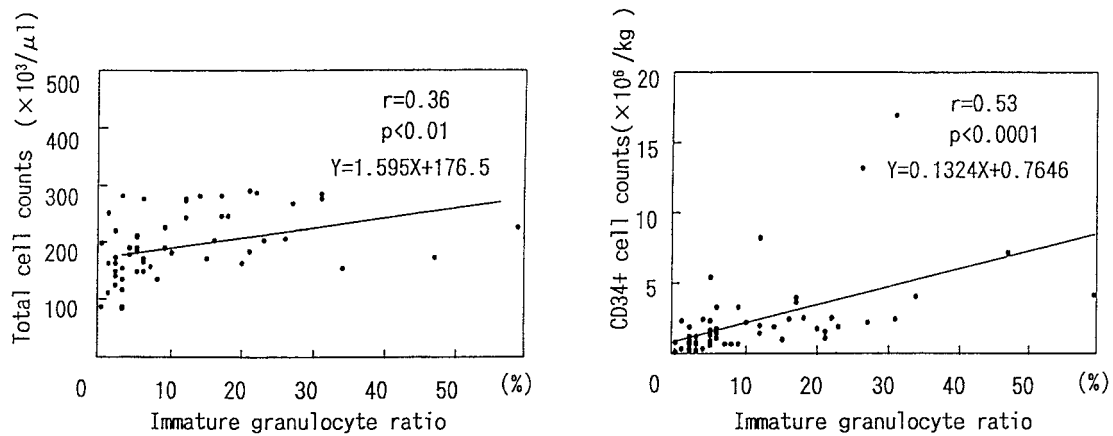


Fig. 5 Relationship between the peripheral immature granulocyte ratio and both collected total cell counts and CD 34+ cell counts.

phamide (CY), Ara-C, etoposide (VP-16) などの大量化学療法が主流である。肺癌分野においても CY 大量療法²⁾や VP-16 大量療法³⁾が G-CSF の併用下に PBSC 採取目的で施行されている。しかし、PBSC 採取のみを目的とした大量化学療法は肺癌に対する抗癌化学療法の限界を考えると決して好ましくはない。一方肺癌例に対して標準化学療法を用いても十分量の PBSC 採取が可能との報告⁴⁾⁻⁹⁾があり、本稿の成績もこれを支持するものであった。

従来、採取された幹細胞数の指標は CFU-GM 数が用いられてきたが、時間を要すること、手技的に安定性に欠けるなどの欠点があった。我々は CD 34 陽性細胞数と CFU-GM 数とは正の相関を示す¹⁰⁾ことや CD 34 陽性

細胞の測定は比較的短時間に、比較的安定して行えることから末梢血幹細胞の指標として CD 34 陽性細胞を用いた。ちなみに我々の経験では移植に十分な量の CD 34 陽性細胞を得るには 2~5 回のアフエーシスが必要であった。もちろん患者の肉体的負担、経済的負担、PBSC 採取に関わる人的負担を考えると、少ない回数のアフエーシスで十分量の PBSC を採取することが望まれる。これまでの血液疾患分野における PBSC 採取時期の検討からは①末梢血白血球数 5,000~20,000/ μ l、②末梢血リンパ球数比率 10% 未満、③末梢血単球数比率 10% 未満、④末梢血血小板数が標準化学療法では 100,000/ μ l 以上、大量化学療法では 30,000~50,000/ μ l¹¹⁾、⑤末梢血中 CD 34 陽性細胞数 40~50/ μ l¹²⁾¹³⁾、⑥網赤血球分画の

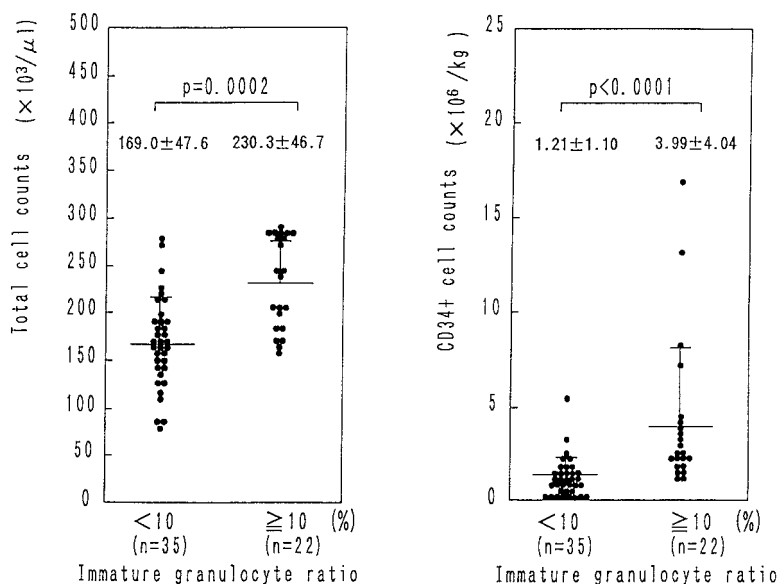


Fig. 6 Relationship between the peripheral immature granulocyte ratio and both collected total cell counts and CD 34+ cell counts. Bars in the graph are means ± SD.

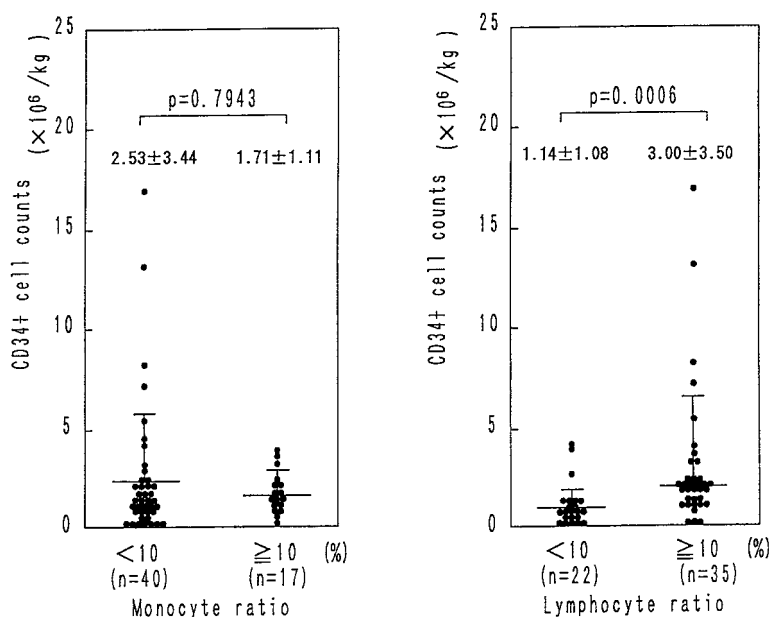


Fig. 7 Relationship between both the peripheral monocyte ratio and the lymphocyte ratio and collected CD 34+ cell counts. Bars in the graph are means ± SD.

high fluorescence ratio 10% 以上¹⁴⁾, などが至適採取時期を決める指標として有用とされてきた。我々の肺癌症例における検討では、①末梢血白血球数 10,000/μl 以上、②末梢血血小板数 100,000/μl 以上、③末梢血幼若顆粒球数比率 10% 以上、④末梢血リンパ球数比率 10% 以上の時期に採取効率が良好であり、末梢血単球に関しては PBSC 採取の指標になりにくいという結果であった。

このような成績は繰り返す強化化学療法によって骨髓

が疲弊している血液悪性疾患例に比べて肺癌例では骨髓の疲弊が少ないという点が関与していると思われるので次にこうした点を考慮しながら至適採取時期決定に対する末梢血所見の意義について考察する。末梢白血球数のみを指標とした場合の問題点として、G-CSF などの造血因子の投与期間中白血球は増加し続けることに注意が必要である。10,000/μl 以上といえども、必要以上に数を引き上げると採取時期を逃してしまう可能性がある。

末梢幼若顆粒球の出現は骨髄の疲弊した症例ではほとんど参考にならない。しかし、多くの肺癌例においては骨髄機能の立ち上がりを示すこの指標はPBSC採取時期決定の重要な指標であると考えられた。自験例では末梢血幼若顆粒球数比率が10%以上に達する時期はおおむね末梢血幼若顆粒球が出現してから数日間であった。しかし、症例によってはG-CSFの投与開始後早期に一時的に末梢血幼若顆粒球が出現することがあるので注意が必要である。末梢血リンパ球数比率も参考にはなると思われたが、末梢血顆粒球の増減による影響が大きいいため、これのみによるPBSC採取時期に対する正確な推定は困難であった。さらに肺癌例では血液疾患例に比べてnadirが浅いため、血液疾患例における化学療法後の骨髄回復期にみられる末梢血単球の著増という現象は起こりにくく、単球の動きは骨髄回復の指標にはなるものの幹細胞採取の厳密な指標にはなりにくいものと考えられた。

以上の検討から幹細胞採取時期の決定は末梢血白血球数、末梢血幼若顆粒球の出現状況、末梢血血小板数を組み合わせて総合的に検討することにより十分推定可能であり、中でも末梢血幼若顆粒球が出現し始めてから数日が至適採取時期の可能性が高いと考えられた。なお、同一肺癌症例で以前に動員化学療法の経験がある場合には治療中の経時的な末梢血所見の変化はPBSC採取時期を決めるための重要な参考指標となることをつけ加えておきたいと思う¹⁵⁾。

文 献

- 1) 大道和宏, 有田健一, 今岡尚子, 他: 肺小細胞癌に対する末梢血幹細胞移植併用大量化学療法の実験. 肺癌 1996; 36: 161-168.
- 2) Leyvraz S, Ketterer N, Perey L, et al: Intensification of chemotherapy for the treatment of solid tumours: feasibility of a 3-fold increase in dose intensity with peripheral blood progenitor cells and granulocyte colony-stimulating factor. British Journal of Cancer 1995; 72: 178-182.
- 3) 徳田 裕: 成人固形腫瘍における末梢血幹細胞移植. 末梢血幹細胞移植 編集: 原田実根, 園田精昭, 高上洋一, 南光堂, 東京, 1995; 150-153.
- 4) Brugger W, Bross K, Frisch J, et al: Mobilization of peripheral blood progenitor cells by sequential administration of interleukin-3 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor following polychemotherapy with etoposide, ifosfamide, and cisplatin. Blood 1992; 79: 1193-1200.
- 5) 張 高明, 横山 晶, 吉沢弘久, 他: 小細胞肺癌. 癌と化学療法 1995; 22: 1741-1748.
- 6) 張 高明, 横山 晶, 林 直樹, 他: 成人悪性腫瘍に対する造血幹細胞移植を併用した超大量化学療法. がん新病誌 1995; 34: 92-100.
- 7) Pettengell R: Practical applications for peripheral blood progenitor cells in the treatment of lymphomas and solid tumours. Annals of Oncology 1995; 6/Suppl. 4: 9-12.
- 8) Kohno A, Takeyama K, Narabayashi M, et al: Low-dose granulocyte colony-stimulating factor enables the efficient collection of peripheral blood stem cells after disease-oriented, conventional-dose chemotherapy for breast cancer, malignant lymphoma and germ cell tumor. Bone Marrow Transplantation 1995; 15: 49-54.
- 9) 清水英治: 肺小細胞癌に対する自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法の実験. 日本外科連合会誌 1995; 20: 185-190.
- 10) 奥 成聡, 芦原英司, 大川克則, 他: 末梢血幹細胞採取時におけるCD34陽性細胞の動態. BIOTHERAPY 1992; 6: 640-643.
- 11) 巽 典之, 山根孝久: 末梢血幹細胞の採取時期と採取方法. 医学のあゆみ 1996; 176: 574-578.
- 12) 島崎千尋: 末梢血幹細胞の化学療法による動員. 医学のあゆみ 1996; 176: 566-569.
- 13) Haas R, Mohle R, Fruhauf S, et al: Patient characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood progenitor cells in malignant lymphoma. Blood 1994; 83: 3787-3794.
- 14) 菅野弘之, 菊田 敦, 細矢光亮, 他: 小児癌患者における末梢血幹細胞の動態と至適採取時期の指標についての検討. 日小血会誌 1996; 10: 22-28.
- 15) 有田健一, 大道和宏, 石井尚子, 他: 末梢血幹細胞採取時期と採取されたCD34+細胞数に関する検討. 日本胸部臨床 1996; 56: 486-491.

Abstract

**A Guide for the Timing of Peripheral Blood Stem Cell
Harvest in Patients with Lung Cancer**

**Naoko Sakao¹⁾, Kazuhiro Daido¹⁾, Ken-ichi Arita¹⁾, Motohiro Sugihara¹⁾,
Naoko Sakamoto¹⁾ and Naoko Isii²⁾**

Department of Respiratory Disease, Hiroshima Red Cross Hospital and Atomic Bomb
Survivors Hospital¹⁾, 1 9 6, Senda-machi, Naka-ku, Hiroshima, 730 0052, Japan
Department of Internal Medicine, Kure City Medical Association Hospital²⁾

Harvest of peripheral blood stem cells (PBSC) was performed 57 times in 17 lung cancer patients after standard-dose chemotherapy (cisplatin, etoposide) supplemented with granulocyte-colony stimulating factor (G - CSF). In every case, more than $1.5 \times 10^6/\text{kg}$ CD 34+ cells were collected by 2-5 apheresis. Statistical significance was noted between peripheral leukocyte counts (WBC) and collected CD 34+ cell counts ($p=0.0298$), between peripheral platelet counts and collected CD 34+ cell counts ($p=0.0009$), and between the peripheral immature granulocyte ratio and collected CD 34+ cell counts ($p<0.0001$). Because of the remarkable relationship between collected CD 34+ cell counts and peripheral WBC counts, peripheral platelet counts and the peripheral immature granulocyte ratio, these parameters were useful for determining the correct timing of PBSC harvest.