

## IMPACT STUDY での自家末梢血単核球細胞の採取と移植方法

### (1) 採取方法

#### 1) G-CSF 投与の手順

- ① G-CSF を 1 回  $200\mu\text{g}/\text{m}^2$  ( $5\mu\text{g}/\text{kg}$  相当) の用量で、1 日 1 回 4 日間皮下注射する。
- ② G-CSF 投与中は連日血液学的検査を施行する。白血球数が  $50,000/\mu\text{L}$  を超えた場合は G-CSF を 1 日 1 回  $100\mu\text{g}/\text{m}^2$  ( $2.5\mu\text{g}/\text{kg}$  相当) に減量し、 $75,000/\mu\text{L}$  を超えた場合は G-CSF 投与を中止する。
- ③ 4 あるいは 5 日目に血液成分分離装置を用いてアフエレシスを行う。

#### 2) 血液成分分離装置

米国 GAMBRO BCT 社製 COBE Spectra 及び独国フレゼニウス社製 COM.TEC204, AS-104, AS.TEC204, 米国 ヘモネティクス社製 ヘモネティクス コンポーネントコレクションシステム(CCS)を用い、各機種の末梢血幹細胞採取プログラム又は末梢血単核球採取プログラムによって末梢血単核球採取を実施する。

#### 3) 血液処理量

血液処理量は  $100\sim 200\text{mL}/\text{kg}$  (体重  $50\text{kg}$  の場合  $5\sim 10\text{L}$ ) とし、総血液処理量が  $10\text{L}$  を超えないように調整する。

#### 4) 自家末梢血単核球採取の手順

- ① 採取に先立ち、十分な血流が維持できる静脈又は血液透析用シャントから採血ラインと返血ラインを確保する。
- ② 採取中は医師と看護師が立ち会い、定期的に血圧と心電図をモニターしながら実施する。血管迷走神経反射、クエン酸中毒、不整脈、心虚血症状、穿刺部位の出血や血腫などの合併症に細心の注意を払う。
- ③ 採取に伴って血小板数が減少するため、採取終了直後に血小板数を測定する。
- ④ 採取終了後少なくとも 30 分間は採取施設内で安静を保ち、体調に問題がないことを確認する。

#### 5) 採取細胞の評価

成分採血装置の回路より単核球液の入った採血パックを無菌的に取り出し、操作アダプターを採血パックに取り付け検体の一部を、シリンジで無菌的に採取し、血液検査と CD34 陽性細胞の定量用に提出する。

### (2) 細胞移植方法

細胞移植は手術室で麻酔の下で実施し、両下肢に病変がある場合は両下肢に、採取細胞全量を使用し細胞移植を実施する。

#### 1) 採取液の準備

採取液は採取バックのからシリンジで無菌的に採取する。

#### 2) 移植予定部位

血管造影で血流の途絶がある範囲を中心とした筋肉内(腓腹筋・前脛骨筋・足底部・足趾等)とする。なお、該当領域に壊疽、潰瘍がある場合には、その周囲を移植予定部位とする。

#### 3) 消毒方法

移植予定部位をポビドンヨードで消毒する。消毒は移植予定部位よりも十分に広く行う。全周性に行い、指間は無消毒野が残らないよう十分に注意して行う。壊死部がある場合には綿球を変え十分に消毒を行う。ポビドンヨードがアレルギー等で使用できない場合は塩化ベンザルコニウムなどを使用する。

#### 4) 細胞溶液の注入方法

1 ヲ所の注入量は  $0.5\text{mL}$  を目安とし、採取された細胞溶液量より概算で何ヶ所注射できるかを検討し注入箇所数(目安として  $70\sim 150$  箇所)を決定し、注入部位をマーキングする。採取液は均一に攪拌した上で、採取バックの操作アダプターからシリンジで無菌的に採取し、移植予定部位に 23-27G 針を用いて筋注する。指腹、足底部の皮膚が厚い部位への注入は 1 回の注入溶液量を少なめに調節する。

#### 5) 細胞移植後の局所処置法

移植部位をポビドンヨードで消毒する。注射部位から軽度出血があれば圧迫止血を行う。

## IMPACT STUDY での除外基準

- 1) 1ヶ月以内に Fontaine 分類あるいは Rutherford 分類で重症度が増悪している病態進行性の患者
- 2) 大切断が予定されている患者
- 3) G-CSF 製剤及びアフェレシスに対する重篤な過敏症、副作用の既往を有する患者
- 4) コントロール不良な虚血性心疾患、心不全、不整脈を合併する患者
- 5) 頭蓋内外の主幹動脈に重度の狭窄性病変を有する患者
- 6) 心筋梗塞、脳梗塞、脳出血又は一過性脳虚血発作発症後 6ヶ月未満の患者
- 7) 虚血性心疾患、脳梗塞又は脳出血の既往があり、これらの疾患に対して追加治療を要し、Fontaine IV度に分類される透析施行中の患者
- 8) 糖尿病増殖性網膜症（新福田分類 BI から BV）を合併する患者
- 9) 悪性腫瘍を合併する、又は 3年以内の既往である患者
- 10) 血液検査の結果、白血球 4,000/ $\mu$ L 未満又は 10,000/ $\mu$ L 以上、血小板数が 50,000/ $\mu$ L 未満、AST(GOT)100 IU/L 以上、ALT(GPT)100 IU/L 以上のうち、いずれかに該当する患者
- 11) 間質性肺炎の合併あるいは既往のある、又は間質性肺炎を起こす可能性のある薬剤を服薬中の患者
- 12) 38°C以上の発熱を伴う感染症を合併する患者
- 13) 脾腫が認められる患者
- 14) 原疾患に起因しない他の要因による跛行症状、安静時疼痛、皮膚潰瘍及び壊疽を有する患者
- 15) コントロール困難な精神障害を合併する患者
- 16) 甲状腺機能亢進症を合併あるいは既往のある患者
- 17) 妊婦、授乳婦、妊娠している可能性のある又は治療期終了時まで妊娠を計画している女性患者、あるいはパートナーの妊娠を希望する男性患者

## 予期される有害事象

### G-CSF 製剤投与に伴う有害事象

末梢血幹細胞の動員ドナー51例中全例に副作用（臨床検査値異常変動を含む）が認められた。主な副作用は腰痛 24件（47.1%）、頭痛 10件（19.6%）、関節痛 8件（15.7%）、発熱 6件（11.8%）等であった。主な臨床検査値異常変動は LDH 上昇 44件（86.3%）、Al-P 上昇 35件（68.6%）、白血球減少・好中球減少 15件（29.4%）、尿酸上昇 12件（23.5%）、血小板減少 7件（13.7%）、CRP 上昇 6件（11.8%）等であった。

好中球減少症の対象患者延べ 6,391例中 679例（10.6%）に副作用（臨床検査値異常変動を含む）が認められた。主な副作用は骨痛（胸部、腰部、骨盤部等）97件（1.5%）、発熱 73件（1.1%）、腰痛 52件（0.8%）、肝機能異常 39件（0.6%）等であった。主な臨床検査値異常変動は LDH 上昇 222件（3.5%）、Al-P 上昇 202件（3.2%）、ALT（GPT）上昇 68件（1.1%）、AST（GOT）上昇 51件（0.8%）等であった。

重大な副作用としては、ショック（頻度不明）、間質性肺炎（頻度不明）、急性呼吸窮迫症候群（頻度不明）、芽球の増加（頻度不明）、脾破裂（頻度不明）等が現れることがある。

（グラン添付文書より）

健常人ドナーから PBSC を動員する際の、G-CSF 投与に伴う短期的有害事象としては、重大なものとして、ショック、間質性肺炎のほか、腰痛、胸痛、骨痛、背部痛、関節痛、筋肉痛、血圧低下、肝機能異常（AST、ALT、LDH、ALP 上昇）、発疹、紅斑、悪心、嘔吐、発熱、頭痛、倦怠感、動悸、尿酸値上昇、血清クレアチニン値上昇、CRP 値上昇などが知られている（日本医薬品集 2000）。全国集計データでも、高頻度に見られる骨痛（71%）の他、全身倦怠感（33%）、頭痛（28%）、不眠（14%）、食思不振（11%）、悪心嘔吐（11%）、などが報告されている。いずれも G-CSF 投与終了後 2-3 日以内に消失するが、必要に応じて鎮痛剤（アフェレシス中の出血傾向を避けるため、アスピリン製剤以外の鎮痛剤が望ましい）などを投与する。G-CSF 投与を中止しなければならないような重篤な有害事象はまれとされるが、これまで心筋梗塞、脳血管障害、脾破裂などの報告例の他、死亡例も報告されている。また、G-CSF 投与に伴って急性虹彩炎、痛風性関節炎など炎症の増悪も指摘されている。C-CSF 投与後、血小板の二次凝集が亢進するという報告があるが、血栓症発症との因果関係は明らかではない。一方、血小板減少（ $< 100,000/\mu$ L）も高頻度（50%以上）にみられるが、G-CSF よりはアフェレシスの影響が大きい。以上のように、G-CSF 投与に伴う有害事象は、多くの場合一過性であり、許容範囲内と考えられる。

（同種末梢血幹細胞移植のための健常人ドナーからの末梢血幹細胞動員・採取に関するガイドライン 2003 年 4 月 21 日 改訂第 3 版より）

Tigue らの報告によると、ドイツのドナー登録 3286 例中に心筋梗塞 1 例、脳梗塞 3 例が認められており、文献やケースレポートで報告されている脾破裂は 11 例であった。

### 海外の末梢血幹細胞の動員ドナーにおける死亡症例

平成 14 年度厚生労働科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業「造血細胞の自己修復能力、再生能力を利用した治療法の開発と普及に関する研究」班の第一回会議で報告がある。直接の因果関係は明らかになっていないが死亡が 8 例報告されており、その内訳は、心血管系疾患療養中の事例が 6 例（心不全 1 例、心筋梗塞 1 例、脳血管障害 2 例、脳卒中 1 例、硬膜下血腫 1 例）、内頸静脈にカテーテルを挿入し採取した事例で空気塞栓が 1 例、鎌状赤血球

貧血患者をドナーとした事例で鎌状赤血球貧血クライシスが1例であった。

(同種末梢血幹細胞移植のための健康人ドナーからの末梢血幹細胞動員・採取に関するガイドライン 2003年4月21日 改訂第3版より)

#### 末梢血幹細胞ドナーに対する G-CSF 投与に伴う長期的有害事象

健康人に対する G-CSF 投与に伴う長期的有害事象に関しては、十分なデータは得られていないが、最近わが国では、G-CSF 投与を受けた血縁ドナーにおける、骨髄増殖性疾患と急性骨髄性白血病の発症が報告された。日本造血細胞移植学会からは、G-CSF と白血病発症の因果関係については、「健康者に短期間 G-CSF を投与しただけで白血病が発症する可能性は医学的には考えられないが、完全に否定することはできない」という見解が示された。

(同種末梢血幹細胞移植のための健康人ドナーからの末梢血幹細胞動員・採取に関するガイドライン 2003年4月21日 改訂第3版より)

#### 高齢者への G-CSF 投与及びアフエレススの施行経験と有害事象

日本造血細胞移植学会全国調査で報告された 1991 年から 2004 年までに行われた移植で、65 歳以上の自家末梢血幹細胞移植は 446 例であった。2000 年 4 月から 2005 年 3 月までの 65 歳以上の、血縁間末梢血幹細胞移植ドナー 50 例のうち、重篤な有害事象(動員から 30 日以内)が発生したのは 2 例(アフエレスス中の狭心症様発作で採取中止と薬物治療により回復、アフエレスス後の血小板減少で無治療にて回復)である。

(日本造血移植学会全国調査 2005 年、キリンファーマ社資料より)

#### 【G-CSF 投与時の有害事象発生時の対応】

- 1) ショックを起こすことがあるので、観察を十分行い、異常が認められた場合には投与を中止し、適切な処置を行なう。
- 2) 間質性肺炎が発現又は増悪することがあるので、観察を十分行い、発熱、咳嗽、呼吸困難及び胸部 X 線検査異常等が認められた場合には、投与を中止し、副腎皮質ホルモン剤の投与等の適切な処置を行う。
- 3) 急性呼吸窮迫症候群が発現することがあるので観察を十分行い、急速に進行する呼吸困難、低酸素血症、両側性びまん性肺浸潤等の胸部 X 線異常等が認められた場合には投与を中止し、呼吸管理等の適切な処置を行う。
- 4) 造血幹細胞の末梢血中への動員を目的としてドナー及び患者にフィルグラスチムを使用する場合には、過剰な作用に伴い脾破裂が発現する可能性があるため、血液学的検査値の推移に留意するとともに、腹部超音波検査等により観察を十分に行い、脾臓の急激な腫大が認められた場合には投与を中止し適切な処置を行う。

#### アフエレスス施行に伴う有害事象

ドナー/患者のこれまでに報告されている副作用は、ごくまれに、不安、悪感、手足及び顔面の感覚異常、発熱、血腫、呼吸亢進、低血圧、立ちくらみ、吐き気及び嘔吐、失神、不快な味覚、じんま疹及びアレルギー反応がある。高齢者は腎機能、肝機能等の生理機能が低下していることが多く、使用において危険性が增大する恐れがあり、適用に当たっては十分な注意をすること。(ガンプロ株式会社 資料より)

アフエレススに伴う副作用として全身倦怠感(30%前後)のほか、四肢のしびれ(抗凝固剤として用いる ACD 液によるクエン酸中毒)、めまい、吐き気、嘔吐など血管迷走神経反射(vaso-vagal reflex, VVR)や一過性の hypovolemia による症状がみられる。アフエレススでは単核球だけでなく血小板も大量に採取されるので、採取後に血小板減少が高頻度(50%以上)にみられ、50,000/ $\mu$ L 未満の高度の血小板減少(5%前後)も少なからず(5%前後)みらる。

(同種末梢血幹細胞移植のための健康人ドナーからの末梢血幹細胞動員・採取に関するガイドライン 2003年4月21日 改訂第3版より)

#### 【アフエレスス時の有害事象発生時の対応】

- 1) クエン酸中毒による低カルシウム血症はカルシウム液の持続注入(グルコン酸カルシウム 5-10mL/hr)によってほとんどの場合予防することができる。しかし、アフエレスス中は常にクエン酸中毒の危険(10mL/hr のカルシウム液の持続注入でも発生しうる場合がある)がありうるので注意する。
- 2) 血管迷走神経反射(VVR)が重篤な場合は高度の「徐脈(脈拍数 29/分以下)」が出現し、意識喪失、失禁がみられることがあり、さらに「心停止」に至る可能性もあることから、ECG モニターが必須であり、硫酸アトロピン、エホチール、エフェドリンなどを直ちに静注するための準備が必要である。
- 3) アフエレススでは単核球だけでなく血小板も大量に採取されるので、採取後に血小板減少が高頻度(50%以上)にみられ、50,000/ $\mu$ L 未満の高度の血小板減少も少なからずみられており(5%前後)、注意を要する。したがって、アフエレスス終了後1週間くらいは必ず血小板数をチェックし、採取前値への回復を確認する。また、PBSC 動員からアフエレスス終了までアスピリン製剤は使用しない。

#### 下肢への細胞移植に伴う有害事象

細胞移植に伴う、発熱・筋肉内及び皮下出血・移植部の腫脹疼痛を生じる。また移植時に末梢神経を損傷し、足先のしびれが生じる場合もある。稀だが、潰瘍の状態によっては、移植後に潰瘍の悪化や、局所の感染の可能性もある。