連続成分採血装置を用いたリンパ球採取と 患者におよぼす副反応の検討

重田 勝義 月本 一郎 廣田 彰男*

東邦大学医学部付属大森病院輸血部

* 東邦大学医学部第三内科

(昭和63年10月13日受付)

STUDIES ON LYMPHOCYTE COLLECTION BY CONTINUOUS-FLOW CENTRIFUGATION AND ADVERSE REACTIONS OF PATIENTS

Katsuyoshi Shigeta, Ichiro Tsukimoto and Akio Hirota*

Division of Blood Transfusion, Toho University Oomori Hospital

*Department of Internal Medicine, Toho University School of Medicine

We studied optimal procedure and adverse reactions of lymphocytapheresis using continuous-flow centrifugation.

When centrifugation speed and flow rate were fixed to 650 rpm, 45 ml/min respectively, maximum lymphocyte yields and minimal platelets loss ratio were obtained.

According to this procedure, mean yield of lymphocytes was expected to be 2×10^9 from 2500 ml of processing whole blood.

We evaluated 55 times of lymphocytapheresis to 12 patients, no adverse reaction were observed in these patients.

はじめに

成分採血装置による白血球の採取は、当初顆粒球採取が感染症の補助治療法として行なわれてきた¹⁾。近年リンパ球採取が免疫療法として行なわれるようになり、生体腎移植術²⁾、多発性硬化症³⁾、重症筋無力症⁴⁾、全身性エリテマトーデス⁵⁾、慢性関節リウマチ⁶⁾などでのリンパ球除去療法、リンパ浮腫に対する自己リンパ球輸注療法、最近では、LAK細胞誘導用のリンパ球採取⁸⁾として行なわれるようになってきた。リンパ球採取に対する採取効率や供血者の変化の報告⁹⁾¹⁰⁾は少ない。また、リンパ球採取は、通常は健康な供血者を対象としているが、治療フェレシスにおいては、疾患を伴う患者が対象となる。

本稿では、リンパ球の採取効率と患者におよぼす影響を調べ、患者にできるかぎり負担のかからない採取条件を検討したので報告する。

対象および方法

昭和59年7月から昭和61年7月までに行なったリンパ浮腫の患者、男性4名、女性8名を対象とし、計55回の採取を行なった。

リンパ球採取には、連続採血装置としてIBM 2997血液成分分離装置を用い single stage channel を使用した。採取パラメーターは(表1)、平均処理量2,569ml、処理時間65分、回転数400rpm

表1 採取パラメーター

処理量	ml	2569±669
処理時間	分	65±17
回転数	rpm	701±143
採血流量	ml/分	43.7±5.8
採取量	ml	126±41
抗凝固剤比 (ACD-A液)		10:1

M±SD

～1,100rpm, 平均701rpm, 採血流量1分間に30ml～60ml 平均43.7ml, 採取量126mlであった。抗凝固剤としてACD-A液を使用し, 全血対抗凝固剤比10:1にて採取を行なった。採取成分の組成を調べるために血液一般検査, 患者への影響を調べるために採取前後における血液一般検査, T, P., Alb., Ca, Pを測定した。

結 果

1. 採取成分組成 (表2)

表2 採取成分組成

採取総量	ml	126± 41
白血球数	×10 ³	28.3± 8.8
顆粒球数	×10 ³	9.3± 8.2
リンパ球数	×10 ³	15.9± 5.2
単球数	×10 ³	2.4± 1.5
血小板数	×10 ³	699± 295
総リンパ球数	×10 ³	2.0± 0.7
総顆粒球数	×10 ³	1.1± 1.0
総単球数	×10 ³	0.3± 0.2
総血小板数	×10 ³	89.9±50.0
ヘモグロビン	g/dl	2.8± 2.8

表3 採取による濃縮倍率

	種 類	濃縮倍率
組 成	顆粒球	0.6± 0.3
	リンパ球	1.7± 0.6
	単 球	2.5± 2.8
個 数	顆粒球	3.0± 2.0
	リンパ球	8.1± 2.6
	単 球	11.1±12.0
	血小板	3.0± 1.3

採取成分
採取前値

表4 患者の血液成分におよぼす影響

	採取前	採取後	変化率(%)	検定
白血球数	×10 ³ 5.7± 1.2	4.5± 0.8	△16.5	t<0.01
ヘモグロビン	g/dl 13.3± 0.9	12.2± 0.9	△ 8.5	t<0.01
血小板数	×10 ³ 218±42	181±45	△17.0	t<0.01
白血球組成 (%)				
顆粒球	52.8±10.9	52.6± 9.8	△ 0.4	
リンパ球	35.5±10.0	34.1 9.6	△ 3.9	
単球	5.1± 2.7	5.1± 2.4	0	
総蛋白	g/dl 6.6± 0.4	5.9± 0.3	△11.1	t<0.01
アルブミン	g/dl 3.8± 0.3	3.4± 0.2	△11.2	t<0.01
総Ca	mg/dl 9.0± 0.3	8.9± 0.2	△ 1.6	
総P	mg/dl 3.2± 0.4	2.8± 0.5	△12.4	t<0.01

採取前リンパ球数が平均2,100±600の患者より平均130mlの採取を行ない, 平均リンパ球数2×10⁹個, 顆粒球数1.1×10⁹個, 単球数0.3×10⁹個, 血小板数89.9×10⁹個がえられた。

2. 採取効率 (表3)

採取成分を供血者採血前の値で割ったものを濃縮倍率とし, 採取による濃縮倍率を求めた。白血球分画の組成比率では, 顆粒球0.6倍, リンパ球1.7倍, 単球2.5倍, 個数では顆粒球3倍, リンパ球8.1倍, 単球11.1倍, 血小板3倍と, 単球, リンパ球の濃縮率が良く, 顆粒球が悪かった。

3. 患者におよぼす影響 (表4)

患者の血液成分におよぼす影響は, 約2,500mlの血液処理量で白血球数16.5%, ヘモグロビン8.5%, 血小板17%, 総蛋白11.1%, アルブミン11.2%, 総リン2.4%と有意に減少を示した。白血球分画と総カルシウムは, 有意差が認められなかった。

身体的異常は, 女性患者が1回目に軽い唇の痺れを感じただけで, 特記するものはなかった。

4. 採取回転数と血小板減少率 (図1)

Yを血小板減少率, Xを回転数として計算すると, $Y = -11.5 + 0.04X$, 相関係数0.79と良い相関関係がえられた。このことは, 患者の血小板を減少させないためには, 出来るかぎり低遠心による採取が必要なことを示唆する。

5. 最適採取条件の検討

リンパ球採取の最適遠心力を求めるために, 相対的遠心力gを $1.11863 \times 10^5 \times \text{rpm}^2 \times \text{半径}$, 血液が遠心力を受けている時間, 循環時間mを $90 \div \text{採血流量}^{11)}$ で算出し, その積分を求めgmとした¹²⁾。循環時間算出の90はsingle stage channelを600回転時に採取部位まで充填するための血液量を実測にて測定したものである。

積分gmとリンパ球濃縮倍率は, 比率で220以下, 個数倍率では, 100～140をピークとして220未満で良い成績が得られた。ピーク値は比率個数濃縮倍率で1.5倍, 個数濃縮倍率で9.1倍, 回転数平均598rpmであった (図2)。

回転数とリンパ球濃縮倍率では, 650～750rpmをピークとした山が比率倍率, 個数倍率ともにみ

図1 採取回転数と血小板減少率

図2 積分 (gm) と濃縮倍率

図3 回転数と濃縮倍率

られた。ピーク値は、比率濃縮倍率で2.1倍、個数濃縮倍率で10.3倍、積分 gm の平均は156であった(図3)。

リンパ球最適採取方法は、回転数で600~750 rpm、積分 gm では120~160であった。この両者は回転数の平均では669rpmと650rpm、積分 gm の平均では、155と142とほぼ同じ群に属していた。この範囲内では比率倍率2倍、個数倍率9.6倍、血

小板減少率9%の値が得られ、回転数600~850 rpm、積分 gm 80~220、また、その他の値との間には有意な差を示した(表5)。

6. IBM 2997血液成分分離装置での最適採取条件(図4)

最適採取条件をIBM 2997血液成分分離装置の遠心条件にあわせ、Xを採血流量、Yを回転数として、 $Y = \sqrt{X/1.068 \times 10^{-4}}$ の式が得られた。この

表5 最適採取方法

		組成比率	比率倍率	個数倍率	血小板減少率
回転数	600~750	64.0	2.0	9.6	9.0
	600~850	62.0	1.7	8.3	15.0
	その他	52.0	1.5	6.9	23.9
gm	120~160	65.8	1.9	9.5	8.8
	80~220	61.6	1.8	8.5	12.2
	その他	52.2	1.3	6.5	21.2

図4 IBM 2997連続成分採血装置のリンパ球最適採取条件

式に合せた採血流量45ml, 回転数650rpm, 積分gm 150, 処理量2,500mlでの採取予想は, 採取前の患者の値が, リンパ球比率35.5%, リンパ球数2,100, 血小板数21.8万個だと, 採取100ml中の採取リンパ球比率71%, リンパ球数20億個, 患者血小板数20万個と血小板の減少は1.8万ですむと思われる。また, リンパ球比率濃縮倍率2倍, 個数濃縮倍率9.6倍の採取物が得られることが予想された。

考 察

リンパ球採取の至適条件は, IBM 2997のプロトコール¹³⁾によれば, リンパ球採取は900rpmとされている。この操作で実際に行なうと, 処理量2,500mlで24.5%の血小板減少が予想される。実際に, 顆粒球採取では, 820rpm 5,000ml処理で25%²⁾, 血小板採取では, 1,400rpm, 3,500ml処

理で33%¹⁴⁾の血小板減少が示唆されている。

Heslerら⁹⁾も低遠心力によるリンパ球採取を検討しており, 40ml/minの流速量で580rpmで比率70%, 820rpmで比率80%のリンパ球濃縮物が得られるとしている。また, 高回転で行なうと比率の濃縮が良いとしているが, 同時に血小板の混入が多くなり, HESを使用することにより580rpmで90%のリンパ球比率のものが得られるとしている。しかし, HESは血中に残留すること¹⁵⁾や副作用¹⁶⁾も知られており, 繰り返し行なわれる治療フェレシスにおいては使用しないほうが良いと思われる。また, 成分採血による多くの副作用¹⁷⁾や死亡例¹⁸⁾が報告されており, 治療フェレシスにおいては, 対象が患者である以上, 十分な配慮が必要であり, なるべく負担を掛けない採取方法が必要となる。特に血小板が少ない患者にとっては, 低遠心による操作が必要と思われる。

今回私どもの行なった回転数600~750rpm, 積分gmで120~160と低遠心で採取を行なうことにより, 従来のものに比べ採取100ml中の採取リンパ球比率71%, リンパ球数20億個, 患者血小板数20万個, 患者血小板減少1.8万と推測された。この方法では, より多くのリンパ球がえられるとともに, 患者の血小板減少や副反応も少ない秀れた方法と思われる。また, 採取物内に血小板の少ないことにより, リンパ球の単離操作が容易に行なわれ, 末梢血中の幹細胞の採取など多くの面¹⁹⁾で応用が可能と思われる。

結 語

疾患を伴う患者を対象としたリンパ球の採取効率と患者におよぼす影響を検討した。

リンパ球採取時の患者の血小板減少率と回転数は良い相関を示し, $Y = -11.5 + 0.04X$ の式がえられた。

リンパ球の最適採取条件は, 回転数で600~750rpm, 積分gmで120~160と低遠心による採取が有効であった。IBM 2997血液成分分離装置の遠心条件では, 採血流量と回転数は, $Y = \sqrt{X / 1.068 \times 10^{-4}}$ の計算式がえられた。

低回転での採取は, 処理量2,500ml, 採取前の患者の値が, リンパ球比率35.5%, リンパ球数2,100,

血小板数21.8万だと、採取100ml中の採取リンパ球比率71%、リンパ球数20億個、患者血小板数20万個と血小板の減少は1.8万ですむと推測され、血小板の少ない患者にとって有効な方法と思われた。

文 献

- 1) 月本一郎, 他: 高分子 HES を用いた顆粒球採取の諸問題。—IBM2997血球分離装置による顆粒球採取—。臨床血液, 22: 1651—1657, 1981.
- 2) 重田勝義, 他: 自動血液成分分離装置の使用経験, IBM2997. *Immunoheamatology*, 5: 320—327, 1983.
- 3) 田島 悟: Lymphapheresis—腎移植の臨床における免疫抑制法の試み。日本泌尿器科学会雑誌, 74: 1098—1112, 1983.
- 4) Giordano, G.W., et al.: An investigation of lymphocytapheresis in multiple sclerosis. *Plasma. Ther. Trans. Technol.*, 3: 417—420, 1982.
- 5) Valbonesi, M., et al.: Plasma exchange combined with cytotoxic drugs and lymphocytapheresis for myasthenia gravis. *Vox Sang.*, 43: 27—32, 1982.
- 6) 橋本博史, 他: 治療としてのリンパ球アフェレーシス。全身性エリテマトーデスにおける lymphocytapheresis について。臨床血液, 26: 1892—1897, 1985.
- 7) 吉田弥太郎, 他: Lymphocytapheresis による関節リウマチの治療。 *Immunoheamatology*, 4: 122—126, 1982.
- 8) Rosenberg, S.A., et al.: Observations on the systemic administration of autologous lymphokine activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *New Engl. J. Med.*, 313: 1485—1492, 1985.
- 9) Hester, J.P., et al.: Mononuclear cell (MNC) collection by continuous-flow centrifugation (CFC). *K. Clin. Apheresis*, 1: 197—201, 1983.
- 10) Blanchette, V.S., et al.: Factors that influence lymphocyte yields in lymphocytapheresis. *Transfusion*, 25: 242—245, 1985.
- 11) Hester, J.P., et al.: ディスポーザブル連続流シングルステージチャンネルによる血液の分離と成分採取の原理。IBM 医用システムレポート。
- 12) 大西泰敏, 他: 遠心条件からみた血漿及び血小板の回収率について (第一報)。血液事業, 5: 340—341, 1982.
- 13) IBM: IBM2997血液成分分離装置操作員の手引き。p. 61, 1981.
- 14) 月本一郎, 他: IBM2996血球分離装置による血小板採取—Single stage channel と dual atage channel の比較—。臨床血液, 24: 81—88, 1983.
- 15) Maguire, L.C., et al.: The elimination of hydroxyethyl starch from the blood of donors experiencing single or multiple intermittent-flow centrifugation leukapheresis. *Transfusion*, 21: 347—353, 1981.
- 16) Ring, J. and Messmer, K.: Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes. *Lancet*, 1: 446—469, 1977.
- 17) Kalmin, N.D. and Grindon, A.J.: Pheresis with the IBM2997. *Transfusion*, 21: 325—329, 1981.
- 18) Huestis, D.W.: Mortality in therapeutic haemapheresis. *Lancet*, 1: 1043, 1983.
- 19) Lasky, L.C., et al.: Collection of pluripotent hematopoietic stem cells by cytapheresis. *Blood*, 59: 822—837, 1982.