

原 著

我々の行っている骨髄移植の簡便法について

昭和40年12月10日 受付

諏訪日赤病院外科

(院長: 佐藤元一郎博士)

島 田 実

A Simplified Method for Bone Marrow Transplantation

Makoto Shimada, M. D.

Department of Surgery, Suwa Red Cross Hospital

I 緒 言

1951年 Lorenz 等^①が初めて、モルモット及び廿日鼠に致死量のX線を照射しても、その後正常同系骨髄の懸濁液を静脈内注射すると、大部分の生命を助け得ることを発表して以来、臨床の分野にあつても、1958年にはユーゴの原子炉事故に際し、中性子及びγ線の大量被爆による骨髄障害患者に同種骨髄移植が試みられ、著効が認められたという報告をみ^{②③}、骨髄移植の臨床的応用の可能性及びその価値が広く認められるようになった。

近時、臨床医学の分野にあつては、悪性腫瘍の治療に際し、種々な制癌剤の大量投与方法及び放射線大量照射が布及され、之等に合併する重篤な骨髄障害の発生も増加の傾向にある現在、骨髄移植の持つ役割及びその意義は益々大であると言わねばならない。

著者も、制癌剤及び放射線大量療法に由来した重篤な骨髄障害に対し、同種骨髄移植^④、或は又保存自家骨髄移植^⑤を試み、いずれの場合においても著効を経験している。

さて骨髄移植の具体的な手技については Lorenz^⑥、Thomas^{⑧⑨⑩}、Tocantins^⑪、Newton^⑫、McFarland^⑬、Schwartz^⑭の詳細且つ理想的な手技が報告されているが、之等の手技は、操作があまりにも複雑であり又種々な設備及び準備を必要とするので普通一般病院では、たやすく実施しにくいという難点がある。

一方、C. Reich^⑮は1958年どんな病院においても簡単に又手軽に実施し得る簡便法を発表した。著者はこの Reich の原法に多少の改良を加えて、以下に述べる極めて簡単な手技により、今迄20余回の骨髄移植を試みて来たが、塞栓症等の不都合な事故は何等経験していない。この簡便法は、単に手技が簡単容易であ

るという利点のみでなく、採取骨髄の細胞数の損失も殆んどなく、また viability も極めて良好に保たれるという見のがし難い利点を有している。

II 準備すべき器具

1) 骨髄穿刺器

一般に骨髄穿刺に用いられる、小宮式勝沼式又は島山式のいずれでもよい。穿刺針はなるべく太いものの方が便利である。

2) 50cc容量のガラス製組織ホモゲナイザー 1本、市販にあり。

3) 150cc~200cc容量のガラス製ビーカー又はコップ2個。

4) 5cc注射筒3本、及び2cc注射筒2本

以上を(1)、(2)、(3)及び(4)一括してトレイに包みオートクレーブにて滅菌する。急ぐ時は煮沸消毒にて可。

5) ヘパリン溶液

○著者は「ヘパリン末・ノボ」10,000 i. u. 入り(小玉商事発売)を使用し、1バイアル(10,000 i. u.)を20ccの生理食塩水にて溶解する。従つてこのヘパリン溶液の濃度は500 i. u./ccとなる。

○Reich の原法では骨髄5ccに対し、ヘパリン1250 i. u. (10mg)を用いているが、著者は骨髄5ccに対し、ヘパリン1,000 i. u. (上記ヘパリン溶液の2ccに当る)を用いている。

6) 滅菌生理的食塩水(以下生食水と略す)

骨髄稀釈用に生食水を約500cc~1000cc用意する。

III 骨髄採取

1) 供髓者(donor)について

同種骨髄移植を実施するに際し、先ず当面する大きな問題は供髓者の決定である。donor の血液型は、

ABO 型のみならず、その他の細かい subtype までなるべく一致していることが望ましいわけであるが、多少の genetic の差のある方が骨髓移植後、宿主 (host) 体内における donor 型の細胞の消長を追跡する面等よりは好都合である¹⁰⁾。

とにかく現在では単に ABO 型のみ合致すれば、供髄者 (donor) としては適格であるとされている。著者は16才~30才までの健康な人をえらんでいる。採取骨髓細胞の量的な面からなるべく若い人が donor としては望ましいことは勿論である。著者は現在までに30余例の donor より骨髓採取を行つているが (各 donor より約30cc 前後の骨髓を採取する) donor にその後、認むべき後遺症の如き訴えは何等経験していない。

2) 採取 (穿刺) 部位¹⁰⁾

採取部位としては、

- (1) 胸骨前面¹⁰⁾
- (2) 前及び後腸骨棘付近¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁵⁾
- (3) 後腸骨棘より仙腸関節にかけた腸骨縁
- (4) 脊椎骨棘突起

等があげられているが、最も容易に行える部位は、図1に示す胸骨前面及び図2に示す前上腸骨棘付近である。

3) 採取手技

(1) 採取部位は、ヨードテンキにて消毒し0.5%プロカインにて局麻する。この時骨膜付近を特に充分に浸潤麻酔する。

(2) 穿刺は、手放しても穿刺針が倒れない深さまで針をすすめる。この位置で以下の操作を行う。

(3) 骨髓有核細胞数の算定及び骨髓塗抹標本の作製：(金井 泉著「臨床検査法提」要参照のこと) これは採取骨髓の全有核細胞の概算に又移植後の経過追求上必要である。

(4) 穿刺針より骨髓の吸引採取：この為には著者は5ccの注射筒を骨髓に刺入した穿刺針に接合し、強い瞬間陰圧をかけて吸引する。(この時多少疼痛あり) 吸引量については1カ所より2cc~3ccが適当とされている¹⁰⁾¹⁵⁾。それ以上吸引すると徒に末梢血の混入が多くなるだけである。

著者は1カ所より瞬間に2.5cc宛2回(合計5cc)吸引採取し、下記の如く処理する。

4) homogenization

図3に示す如く、予めヘパリン1,000 I. u. (之は前述のヘパリン溶液の2ccに当る)を入れたホモゲナイザーに1カ所より採取した5ccの骨髓を注入し、約2分間ホモゲナイズする。この場合骨髓をなるべく破

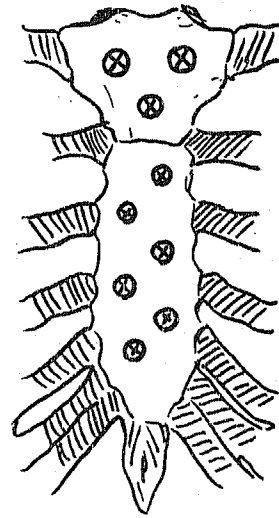


図 1

胸骨前面で柄及び体にかけて5~10カ所で穿刺する。胸骨では穿刺回数は15カ所位が限度とされている。

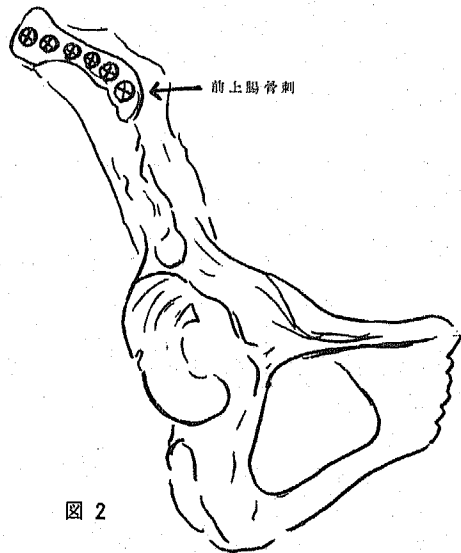


図 2

前上腸骨棘付近で⊗の部位で5~10カ所穿刺する。両側の刺付近で実施出来る。

壊さない為、ピストンは用手的に上下に又、廻転を加えてホモゲナイズする。

ホモゲナイズした骨髓は更に5cc~10ccの生食水で洗滌しピーカーに注ぎ移す。このような操作をくりかえして、各穿刺部位より得た夫々の5ccの骨髓を処理してピーカーに次々と注ぎ、全採取骨髓を一つのピーカーにためる。

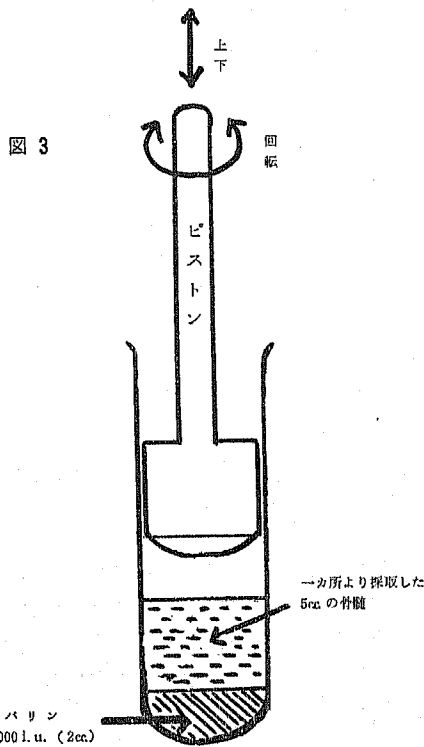


図 3

5) 抗生物質の添加

勿論、全操作は無菌的に行うわけであるが更に細菌による汚染を防ぐ為(特に保存を行う場合は重要である)に、著者は水性ペニシリン約5万を全量中に混入する。ペニシリンテスト陽性の場合には他の静注用抗生物質を少量混入する。

6) 採取量について

骨髄移植の効果をj得るために必要な有核細胞数は、動物実験の成績から推量すると 10×10^9 個以上とされている¹⁷⁾。従つて概算では骨髄 50cc~100cc の採取がのぞましいわけであるが、著者は臨床例において僅かに 5cc の骨髄移植で著効を認めた症例を経験している。

IV 稀釈及び注入

1) 稀釈法

Reich の原法では骨髄 5cc に対し、生食水 250cc で稀釈するとしているが¹⁶⁾、著者は骨髄 5cc に対し生食水約 100cc の割合で稀釈しているが、何等の合併症も認めていない。

2) 注 入

○部 位

静脈内注入が最も簡便であり著者も、もつぱら之を

行つている。その他骨髄内注入、腹腔内注入、心腔内注入及び脾内注入等があげられている。しかし皮下注及び筋注は無効とされている¹⁸⁾²⁰⁾。

○注入速度

(a) Reich は in the usual manner としている¹⁸⁾。

(b) Schwartz は 15~30滴/分としている¹⁹⁾。

(c) 著者は 100cc/時間 (40滴/分) の比較的速い速度で注入しているが、何等の合併症も認めていない。この速度でも約 30cc の骨髄 (大体 600cc に稀釈される) を注入するには約 6 時間を要する。

V 受随者 (又は宿主=host) に対する
前処置の問題

骨髄移植を実施する場合、他の器官の移植におけると同様、最も慎重に考えねばならないのは免疫の問題である²¹⁾²²⁾。しかし同系移植 (一卵性双生児) や自家移植では、この免疫の問題は全然考慮に入れなくてよい。同種骨髄移植及び異種骨髄移植では、この免疫の問題をj考えの外におくことは出来ない。同種及び異種骨髄移植において生着するか否かは一にかかつて、いかにこの免疫現象を抑制し得るかにあるわけである。

1) 免疫現象抑制手段 (同種又は異種の
移植に対する宿主の抗体産生能を抑制
する手段)

現今、免疫現象の抑制された状態を作り出す手段としては、以下の諸操作が考えられている。

(1) 全身放射線照射 (100 r ~ 2,000 r) radiation chimera と言われる²³⁾。

(2) 制癌剤の連続投与

中でも 6MP (6-mercaptopurine) が効果的であると言われる²⁴⁾。(drug induced immunological tolerance²⁵⁾)

(3) ステロイドホルモン大量連続投与

著者はデカドロン 8mg (2cc) を 1日 1回 ~ 2回連日投与法を用いている。

以上の3手段があげられるが、實際上簡単に用い得るものは、ステロイドホルモン投与法であろう。又 6MP 投与による drug induced immunological tolerance の手段も今後益々希望のもてる手段と考えられる。

2) 遅発反応又は二次疾患 (secondary
disease) の問題<sup>17)26)27)28)29)30)31)32)33)
34)35)36)</sup>

上記諸手段を用いて幸にも、同種或は異種骨髄移植が成立生着したとしても、現在のところ之等の抗体産

生能抑制状態は、時的か又は条件的である限り、生着した同種或は異種骨髓細胞と宿主 (host) の間に起る抗原抗体反応に由来すると言われる遅発反応又は二次疾患 (secondary disease) を完全に防ぐことは困難と思われる。

とにかく現在のところ、之等の免疫現象を抑制する手段としては、適量のステロイドホルモン又は 6MP の単独又は併用をうまく用うる以外に手はない。

secondary disease とは同種又は異種骨髓移植の成立後 2~3 週間より食事摂取量が不変であるのに次第に動物 (host) の体重が減少し、立毛、下痢が甚しく、ついには死亡する現象をいい、その本態は移植骨髓を抗原として宿主に抗体が産生されるという説 (host-versus-graft 説^{②⑨⑩⑪⑫⑬⑭}) と、逆に宿主が抗原となり、移植骨髓組織内に抗体が出来るという説とがある (graft-versus-host 説^{⑮⑯⑰⑱⑲})。

VI 採取骨髓の保存法

勿論、骨髓は採取直後移植注入するのが最も効果的であるが、時に (特に) 自家移植では保存を必要とする場合もある。

1) 著者の保存法

採取骨髓 (Ⅲにのべた処理を加え、多少稀釈された) をブルートラン (Blotran: ミドリ十字発売の血液保存液加採血びん 200cc 用) に吸入する。この保存には一般保存血の場合と同一に出来るだけ無菌的に全操作を行い、4°C~5°C の冷蔵庫に保存する方法を用いる。(この場合冷蔵庫は出来る限り温度の変動の少ないものがよい。)

この場合の保存期限は、一般保存血の場合と同様せいぜい 2 週間である。著者はこの方法で 10 日以上は保存しないようにしている。

2) Bender, M. A. (1961年) の

保存法^{⑳㉑㉒}

採取骨髓を 15% グリセリン内で凍結し、液体窒素 (-196°C) 内で保存すると、2 年半後においても凍結前と同じ効果があると報告されているが、未だ我が国では不可能の手段である。

VII 人間の疾患に対する骨髓移植の応用

現在骨髓移植の臨床的応用としては、下記疾患があげられている。

- 1) 急性放射能障害^{③④⑤⑥}
- 2) 白血病^{⑦⑧⑨⑩⑪⑫⑬}
- 3) 骨髓障害^{⑭⑮⑯⑰⑱⑲⑳㉑}
- 4) 再生不能性貧血^{㉒㉓㉔}

- 5) 無ガンマグロブリン血症^㉕
- 6) 腎臓移植^㉖

文 献

- ①Lorenz, E. et al.: Modification in irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. J. Nat. Cancer. Inst., 12: 197, 1951
- ②Jammet, H. et al.: Étude de six cas d'irradiation totale aiguë accidentelle. Rev. Franç. Études clin. et Biol., 4: 210, 1959
- ③Mathé, G. et al.: Transfusions et greffes de moelle osseuse homologue chez des humaines irradiées à haute dose accidentellement. Rev. Franç. Études clin. et Biol., 4: 226, 1959
- ④島田 寔: 制癌剤及び Co⁶⁰ 照射に起因する汎骨髓癆に対する同種骨髓移植の成功例, (未発表)
- ⑤島田 寔: 自家骨髓移植による制癌剤大量療法 of 副作用対策の経験, (未発表)
- ⑥Lorenz, E. et al.: Modification of acute irradiation injury in mice and guinea pig by bone marrow injections. Radiology, 58: 863, 1952
- ⑦Lorenz, E. et al.: Modification of acute irradiation injury in mice and guinea pigs by injection of bone marrow: A histopathologic study, J. Nat. Cancer Inst., 13: 73, 1952
- ⑧Thomas, E. et al.: Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. New. Engl. J. Med., 257: 491, 1957
- ⑨Thomas, E. et al.: Irradiation of the entire body and marrow transplantation. Blood, 14: 1, 1959
- ⑩Lochte, H. L. Jr. et al.: In vitro studies on the preservation of marrow cells in glycerol at low temperatures. J. Lab. Clin. Med., 53: 117, 1959
- ⑪Tocantins, V. M.: Transplantation of bone marrow, II. Bone marrow transplantation conference. Blood, 13: 228, 1958
- ⑫Newton, K. A. et al.: Total thoracic super-voltage irradiation followed by the intravenous infusion of stored autogenous marrow, Brit. med. J., i, 531, 1959
- ⑬McFarland, W. et al.: Autologous bone marrow infusion as an adjunct in therapy of malignant disease. Blood, 14: 503, 1959
- ⑭Schwartz, V. R. et al.: A technique of bone marrow transplantation in man, Blood, 15: 137, 1960
- ⑮Reich, C.: A simplified method for bone marrow transfusions, Acta

- haemat, 20: 376, 1958 ⑩服部孝雄・他: 骨髓移植を併用したマイトマイシン大量療法の臨床経験について, 癌の臨床, 7: 9, 1961 ⑪Van Bekkum, D. W., et al.: Immunological aspects of homo- and heterologous bone marrow transplantation in irradiated animals. J. Cell. Comp. Physiol., 50: 139, 1957 ⑫Wilson, R. F.: New Engl. J. Med., 261: 781, 1959 ⑬Lorenz, E. et al.: Proc. 4th internat. Congress Soc. Hemat., p.192, 1954 ⑭Lorenz, E. et al.: Ann. Rev. Med., 5: 323, 1954 ⑮石橋幸雄: 骨髓移植と免疫, 日本臨床, 18: 122, 1960 ⑯三好利夫・他: 骨髓移植の臨床とその問題点, 日本臨床, 19: 895, 1961 ⑰Sahler, O. D.: Development of a room specifically designed for total-body irradiation. Radiology, 72: 266, 1959 ⑱Thomas E. D. et al.: Supralethal whole-body irradiation and isologous marrow transplantation in man. J. Clin. Invest., 38: 1709, 1959 ⑲Schwartz, R. et al.: Drug induced immunological tolerance. Nature, 183: 1682, 1959 ⑳Congdon, C. C. et al.: Humoral factor in irradiation protection; Modification of lethal irradiation injury in mice by injection of rat bone marrow. J. Physiol., 176: 297, 1954 ㉑Barnes, D. W. H. et al.: What is the recovery factor in spleen?, Nucleonics, 12: 68, 1954 ㉒Congdon, C. C. et al.: Homologous bone marrow in the treatment of radiation injury in mice. Am. J. Path., 33: 749, 1957 ㉓Makinodan, T.: Circulating rat cells in lethally irradiated mice protected with rat bone marrow. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 92: 174, 1956 ㉔Makinodan, T. et al.: Agglutinin production in normal, sublethally irradiated, and lethally irradiated mice treated with mouse bone marrow. J. Immunol., 77: 520, 1956 ㉕Makinodan, T. et al.: Physio-chemical properties of circulating red blood cells of lethally x-irradiated mice treated with rat bone marrow. Blood, 12: 984, 1957 ㉖Trentin, J. J.: Mortality and skin transplantability in x-irradiated mice receiving isologous, homologous and heterologous bone marrow. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 92: 688, 1956 ㉗Barnes, D. W. H. et al.: Tissue transplantation in the radiation chimera, In, "symposium on antibodies" sponsored by the biology division Oak Ridge National Laboratory, April 8-10, 1957, J. cell & comp-Physiol., 50, suppl., 1, 123, 1957 ㉘Trentin, J. J.: Induced tolerance and homologous disease in x-irradiated mice protected with homologous bone marrow. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 96: 139, 1957 ㉙Gengozian, N., et al.: Mortality of mice as affected by variation of the x-ray dose and number of nucleated rat bone marrow cells injected. Cancer Research, 17: 970, 1957 ㉚Porter, K. A.: Use of foetal haemopoietic tissue to prevent late deaths in rabbit radiation chimaeras. Brit. J. Exper. Pathol., 40: 273, 1959 ㉛Bender, M. A.: Preservation of mouse marrow. Abstracts of conference on cryobiology and methods of preserving living tissues (Authors' abstracts presented August 18 and 19, 1961 at Buffalo, N. Y.), pp 8-9 ㉜Schwartz, R. et al.: J. Appl. Physiol., 11: 22, 1957 ㉝Ferrebee, J. W. et al.: Blood, 12: 1096, 1957 ㉞芳賀圭五: 日本血液学全書, 第2巻, p.866, 1963 ㉟Andrews, G. A.: Radiation injury and marrow transfusion from a correspondent. Lancet, pp. 677, 1959 ㊱King, J.: Radiation injury and marrow transfusion from a correspondent. Lancet, pp. 667, 1959 ㊲Haurani, F. I. et al.: Amer. J. Med., 794, May, 1960 ㊳Thomas, E. D. et al.: Irradiation and marrow transplantation. Lancet, pp. 1289, 1960 ㊴Maxwell, R. E. et al.: Amelioration of myleran-induced bone marrow damage in rats with homologous marrow injections. Fed. Proc., 15: 457, 1956 (abstract). Thomas, New Engl. J. med, 257, 491, 1957 ㊵Westbury, G. et al.: Disseminated malignant melanoma. Response to treatment by massive dosage of a cytotoxic agent combined with autologous marrow replacement. Lancet, pp. 968, 1959. Thomas, Blood, 14: 1, 1959. McFarland, Blood, 14: 503, 1959 ㊶Bridge, J. B., et al.: Toxic marrow failure treated by a homograft of foetal hemopoietic tissue. Lancet, pp. 629, 1960 ㊷Ferrebee, J. W.: Summary of proceedings of the bone marrow transplantation and chemical radiation protection conference. Blood, 14: 602, 1959 ㊸芳賀

圭五:骨髓移植の實驗的及び臨床的研究, 日血誌, 22: 5号補冊, 昭34 ㊦Dameshek, W.: Clinical and fundamental aspects of transplantation of bone marrow. Blood, 13: 1096, 1958 ㊧Haurani, F. I. et al.: Attempts at transplantation of human bone marrow in patients with acute leukemia and other marrow depletion disorders. Amer. J. Med., 794: May, 1960 ㊨三好和

夫・他:白血病並びに再生不良性貧血症例に於ける骨髓移植の経験, 日内誌, 49: 676, 1960 ㊩Domz, C. A.: Bone marrow transplant in acquired hypogammaglobulinemia. J. Lab. a. Clin. Med., 55: 105, 1960 ㊪Dammin, G. J.: Transplantation of bone marrow. II. Bone marrow transplantation conference. Blood, 13: 588, 1958