

キメリズム解析における新規 T 細胞分離法の検討と効果

◎大山 幸永¹⁾、白石 祐美¹⁾、福田 真恵¹⁾、姫野 真由子¹⁾、大野 彩¹⁾、丸岡 隼人¹⁾
独立行政法人 神戸市民病院機構 神戸市立医療センター 中央市民病院¹⁾

【はじめに】造血幹細胞移植におけるキメリズム解析はドナー細胞生着のモニタリングに重要な役割を果たす。T 細胞分画・非 T 細胞分画を用いたキメリズム解析は移植後再発・生着不全の早期発見に有用である。しかしながら、国内では細胞分離をはじめとする解析法の標準化が行われていない。当院では、2012 年より院内での T 細胞分離および short tandem repeat (STR)-PCR 法によるキメリズム解析を実施しており、迅速かつ適切な移植後のフォローに貢献している。その中で、リンパ球比率の低い検体や、細胞数が十分に確保できない場合の T 細胞分離精度が課題となっていた。今回、新たな分離プロトコルの検討を行い、良好な結果が得られたので報告する。

【方法】”The Big Easy” EasySep™ Magnet と EasySep™ HLA Chimerism Whole Blood CD3 Positive Selection Kit (STEMCELL Technologies、以下 EasySep 法)の導入を検討し、以前より使用していた MS Columns 及び OctoMACS™ Separator (Miltenyi Biotec、以下 MACS 法)との分離精度の比較を行った。患者末梢血・骨髄血 12 例を用いて分離を行い、分離後

の T 細胞純度(T%)を測定した。また、分離前後の分画におけるドナーキメリズム(DC%)を検証した。STR-PCR 反応は KAPA2G Fast Multiplex Mix(KAPA Biosystems)、フラグメント解析は 3500 Genetic Analyzer(Applied Biosystems)を使用した。

【結果】リンパ球割合 5%以下の検体において、MACS 法では T%が 2-65%であったが、EasySep 法では T%が 60-96%であった。また、造血幹細胞移植後の解析において分離前のサンプルでは DC が 95-100%(完全キメラ)の場合であっても、分離後の分画では 95%未満(不完全キメラ)となっている症例が存在した。

【まとめ】EasySep 法の導入は T 細胞分離の精度向上に有効であった。分離後の T%は DC%の結果に影響するため、分離を行った場合は純度報告する必要があると考える。今後も他の細胞分画の分離などの検討を継続し、キメリズム解析法の標準化に発展させたい。

連絡先 078-302-4321(内線 3540)