

表2. 副作用発生頻度

	有														無		不明		総計					
	発熱	発熱+ 呼吸困難	発熱+ アレルギー	アレルギー	アナフィラキシー	血圧低下	呼吸困難	クエン酸 中毒	総計	件	%	件	%	件	%	件	%							
赤血球製剤	アグリガード	12	0.64	1	0.05	1	0.05	1	0.05	3	0.16	2	0.11	1	0.05			21	1.12	154	31.4	337	68.6	491
	セバセルRZ	1	0.36															1	0.36	103	37.5	171	62.2	275
	ポー ルRC	17	1.04			4	0.25	3	0.07	2	0.05	1	0.06					22	1.35	548	33.5	1065	65.1	1635
計	30	0.70	1	0.02	1	0.02	5	0.12	3	0.07	2	0.05	2	0.05			44	1.03	2024	47.3	2213	51.7	4281	
血小板製剤	セバセルPLX	7	0.39			1	0.06	26	1.44	4	0.22	1	0.06					39	2.16	1293	71.6	475	26.3	1807
	無																	15	68.2	15	68.2	7	31.8	22
計	7	0.39			1	0.06	26	1.42	4	0.22	1	0.06					39	2.13	1308	71.5	482	26.4	1829	
新鮮凍結血漿	無	2	0.13			2	0.13	9	0.57									15	0.94	865	54.5	708	44.6	1588
	計	2	0.13			2	0.13	9	0.57									15	0.94	865	54.5	708	44.6	1588
自己血	アグリガード																			52	31.5	113	68.5	165
	ポー ルSQ																			1	9.1	10	90.9	11
計																				3	20.0	12	80.0	15
計																				56	29.3	135	70.7	191
計	39	0.49	1	0.01	4	0.05	40	0.51	7	0.09	3	0.04	2	0.03	2	0.03	98	1.24	4253	53.9	3358	44.8	7889	

表3. 症例

最終診断	術式	症例数	周術期総輸血単位数/症例数			微小凝集塊除去フィルター使用症例数
			MAP	FFP	自己血	
S状結腸癌	S状結腸切除術	10	4 / 1			1
	S状結腸切除術,人工肛門造設	1	2 / 1			
	結腸右半切除術	1				
	高位前方切除術	3				
横行結腸癌	横行結腸切除術	3				
	結腸右半切除術	2	4 / 1			
	結腸左半切除術	2	4 / 1	10 / 1		
上行結腸癌	右結腸切除術	1				
	結腸亜全摘術	1	2 / 1			
	結腸右半切除術	6	4 / 1			
	結腸右半切除術,胆嚢摘出術	1	4 / 1			1
上行結腸癌,右腎癌	結腸右半切除術,右腎摘出術	1				
直腸癌	マイルス術	2			2 / 1	
	結腸右半切除術	1				
	結腸右半切除術,小腸部分切除術,両側卵巢切除術	1	10 / 1			1
	高位前方切除術	4				
	超低位前方切除術	2	2 / 1		6 / 2	
	低位前方切除術	7	6 / 1			1
	腹会陰式直腸切除術	3	18 / 2		4 / 1	
盲腸癌	結腸右半切除術	1				
肛門管癌	後方骨盤内臓全摘術	1	6 / 1			1

表4. 症例

	無輸血	同種赤血球輸血	p
症例数	41	13	
性別(M/F)	31 / 10	5 / 8	
年齢	64.4 ± 11.6	69.2 ± 9.8	0.1937
術前Hb	12.6 ± 2.08	10.0 ± 1.89	0.0003
術中出血量	218 ± 226	454 ± 295	0.0047
周術期輸血単位数	0.0 ± 0.0	5.1 ± 2.8	<0.0001

(mean ± SD)

表5. 術後経過

	無輸血		同種赤血球輸血	
	あり	なし	あり	なし
術後感染症				
手術部位	1	39	1	11
尿路	0	40	0	12
その他	1	39	0	12
再発	2	30	2	7
重篤な合併症	4	36	0	12
	生存	死亡	生存	死亡
予後				
1ヶ月	39	0	12	0
1年	0	2	0	2
	生存率	生存率	生存率	生存率
	100.0	100.0	100.0	100.0
	0.0	0.0	0.0	0.0

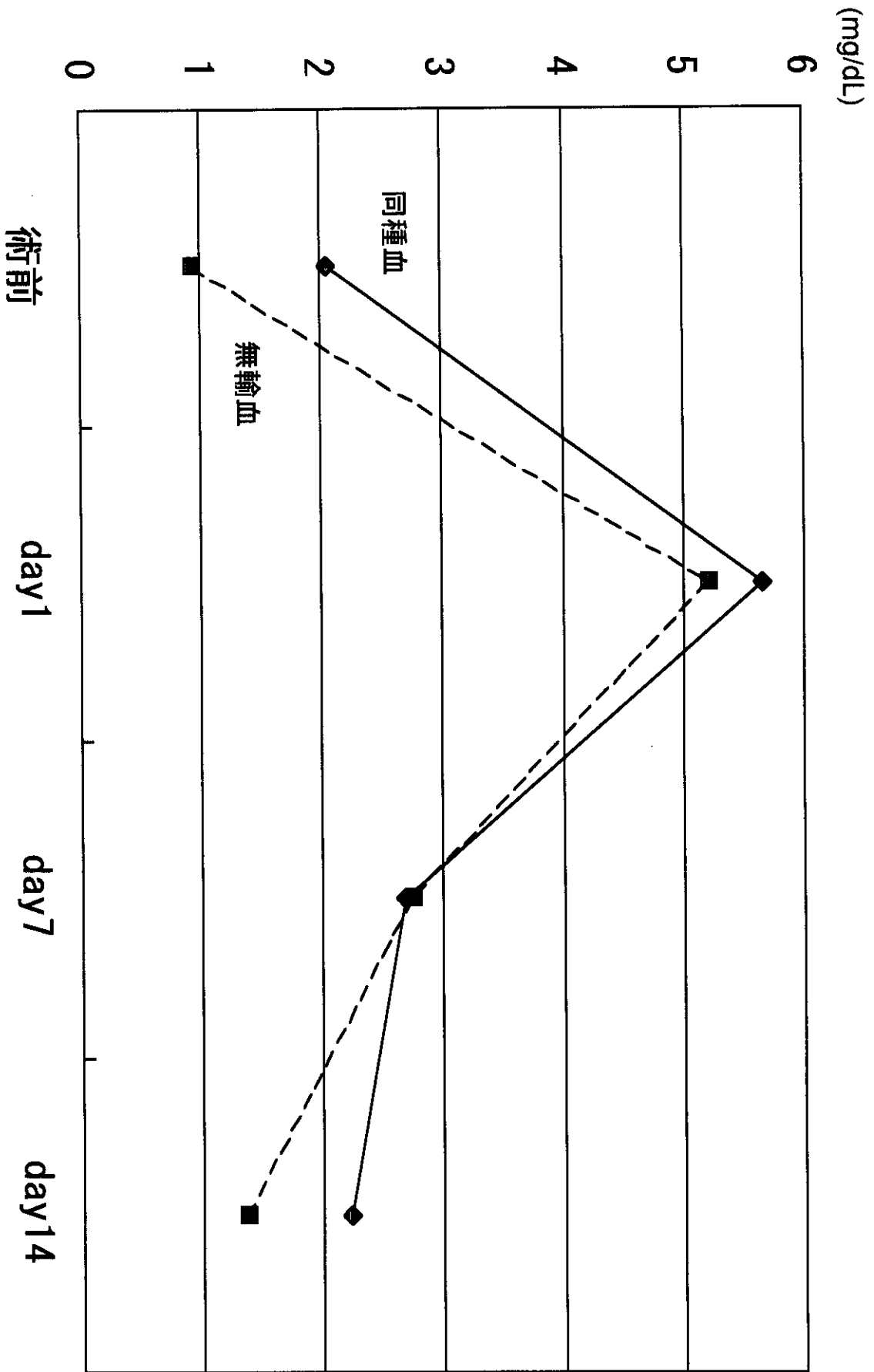


図1. CRP

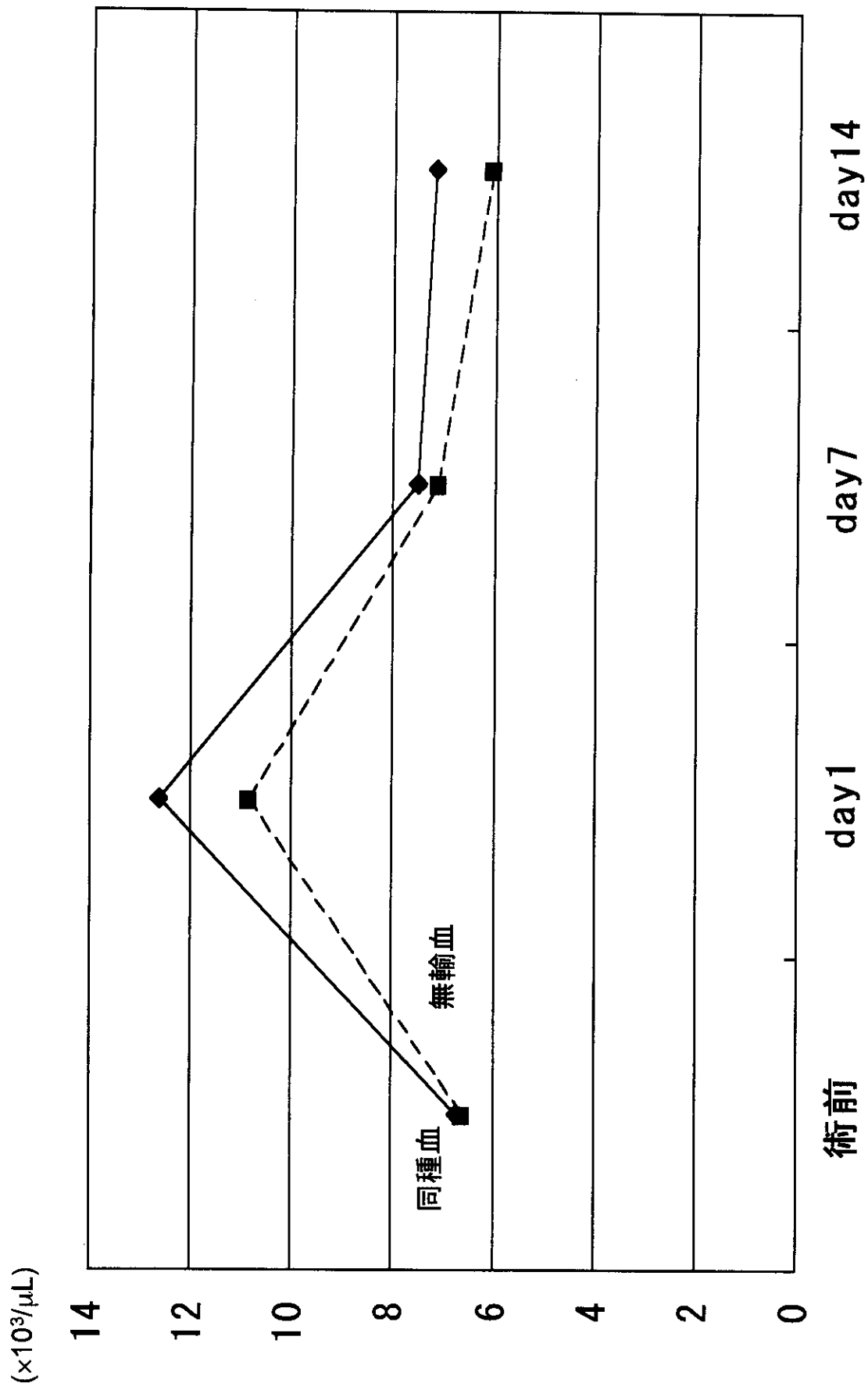


図2. 白血球数

血液白血球除去技術の臨床評価 -前方視的検討- (H13-医薬-038)

主任研究者： 半田誠助教授 慶應義塾大学医学部附属病院輸血センター

分担研究：即時型輸血副作用と周術期同種輸血に伴う免疫学的修飾への影響

分担研究者： 浅井隆善 千葉大学医学部附属病院輸血部

研究要旨

即時型輸血副作用の発生率は、赤血球製剤の0.32%、新鮮凍結血漿使用の0.19%に比較して、濃厚血小板使用による副作用は4.14%と最も多く、諸家の報告に一致する所見であった。この血小板製剤の副作用の発生数は120件であったが、その多くは皮疹のみの比較的軽度なものであった。しかし、その他にも、内訳は1%と低頻度であったものの、咳、眼瞼浮腫、結膜充血、嘔吐・呼吸困難、血圧低下、喘鳴等が認められ、重篤につながるもの、あるいは、既に重篤な副作用も見られた。

これら副作用の対策として、血液製剤中の残存白血球や、主に白血球中に多く含まれている各種サイトカインとの関連が考えられるが、今回の対象のなかで、即時型副作用の最も多かった血小板輸血は全例に対して、ベッドサイドで白血球除去フィルターが使用されていた。また、即時型輸血副作用を呈した、濃厚血小板の白血球数は $1,000$ 個/ mm^3 以下であった。このことから、保存前白血球数と、即時型輸血副作用との関連性を明らかにすることはできなかったが、今後の検索に期待したい。

一方、大腸癌手術患者における輸血と周術期免疫学的修飾への影響については、他施設との共同で、大腸癌の手術例について、周術期輸血と、感染症等の合併症の発生や、さらには予後との関連を調査する計画であり、今年度は、準備に供した内容の解析を行った。当院の大腸癌手術例74例で、周術期に輸血が行われた症例は23例と、全手術例の31%であった。次年度も、可能な限り症例を蓄積して、大腸癌手術患者における輸血と周術期免疫学的修飾への影響についての解析を行う。

A. 目的

輸血用血液の白血球除去効果を判断する指標として、即時型輸血副作用に対する影響を観察した。特に、血小板輸血における即時型副作用の出現と、白血球数との関連についても比較検討した。

また、輸血用血液の白血球除去効果のもう一つの指標として、外科手術患者における周術期の免疫学的修飾への影響をみることを計画し、大腸癌患者における輸血の有無と、それらの患者における術後の感染や腫瘍の経過とを比較することを試みた。

B. 方法

(1) 即時型輸血副作用に対する残存白血球数との関連

当院の輸血実施報告記録用紙に、即時型輸血副作用の報告欄を設けて、即時型輸血副作用発生モニターを行った(図1)。調査期間は、平成13年6月から平成14年11月までの18ヶ月(1.5年間)の即時型輸血副作用を集計した。また、血小板輸血による副作用については、その発生状況と血小板製剤の白血球数とを比較した。

(2) 大腸癌手術患者における輸血と周術期免疫学的修飾への影響

大腸癌の周術期における輸血と周術期免疫学的修飾への影響を見るために、大腸癌手術前後患者合併症や検査結果から、周術期感染症の有無等を観察し、免疫修飾への影響の指標とした。また、輸血による同種免疫抗体の産生状況を観察するために、手術前後の血清を採取し、福島医科大学の輸血・移植免疫部に、特に抗HLA抗体の検査を依頼した。

これらの調査を行うにあたって、調査内容の詳細を当院の倫理委員会に報告し、許可を得た方法に基づいて、所定の用紙を用いて、説明をして同意を得た後に調査対象とした(図2, 3)。

C. 結果

(1) 即時型輸血副作用の発生状況

平成13年6月から平成14年11月までの1.5年間(18ヶ月)に使用された輸血用血液は27,664本であった。回収された輸血実施記録は26,145本と回収率は約94.5%であった。回収が得られた記録にも記載の不備があり、輸血実施医署名、実施確認者署名、輸血開始時間、輸血開始15分後確認者署名の記入不備が、それぞれ、81、89、170、183件あった。また、未使用製剤に輸血実施署名が記載されたものが49件、副作用の有無についての記載不備が572件認められた。

即時型副作用については174件の発生が記載されて報告された。このうち、赤血球製剤(赤血球M・A・P)使用による副作用は23件で、即時型輸血副作用のなかの13.2%、赤血球製剤使用の副作用発生率は0.32%であった。新鮮凍結血漿使用による副作用は31件で、即時型輸血副作用のなかの17.8%、新鮮凍結血漿使用の副作用発生率は0.19%であった。濃厚血小板使用による副作用は120件と最も多く、即時型輸血副作用のなかの69.0%を占め、濃厚血小板使用時の副作用発生率は4.14%であった(表1)。

濃厚血小板による副作用の内容は、皮疹・膨疹が106件と過半数を占め、濃厚血小板による副作用の88%を占めていた。そ

他の副作用は、腹痛が2件で濃厚血小板による副作用の2%であったが、発熱、咳・眼瞼浮腫・結膜充血、嘔吐・呼吸困難、嘔吐・発疹、血圧低下、胸部不快、眼瞼浮腫、嘔吐・膨疹、皮疹・発熱・喘鳴、眼瞼浮腫・咳、呼吸困難、そして、嘔気・嘔吐がそれぞれ1件、1%であった。これらの、副作用を呈した輸血に用いた濃厚血小板の血液センター出庫時の含有白血球数は、全て1,000個/mm³以下であった(表1)。

尚、調査対象となった輸血に際してのベッドサイドでの白血球除去フィルター使用は、新鮮凍結血漿に対しては用いておらず、血小板製剤輸血に際しては前例に用いられた。赤血球製剤については、保険適応のある患者への輸血に際してのみ使用されており、外科系疾患での手術に際しては、微小凝集塊除去用のフィルターのみが使用された。

(2) 大腸癌手術患者における輸血と周術期免疫学的修飾への影響

調査期間中に手術が行われた大腸癌の症例は74例であった。部位は直腸癌が35例と最も多く、次いでS状結腸癌が30例と多かった。これらの手術の前後で輸血が行われた症例は23例と全手術例の31%であった。輸血の種類は、赤血球製剤の赤血球MAPが最も多かったが、新鮮凍結血漿との併用や、新鮮凍結血漿だけの輸血も見られた。輸血の時期は、手術前のみが3例、手術前と手術中が1例、手術の前、当日と共に手術後にも行われている例が2例であった。また、手術当日のみが6例、手術当日と手術後に輸血が行われている例が5例、そして、手術後のみの輸血が3例に行われていた(表2)。

これらの、手術例に対して採血が得られた症例について、可能な限り手術前後の血清を保存し、HLA抗体測定等の同種免疫に対する検査に供したが、これらの検査結果は次年度に判明予定である。

D. 考察

輸血実施時の照合確認や輸血開始後の患者観察は、その実態を十分に確認すること

は難しい。そこで、当院では、平成13年4月より輸血実施記録用紙を作成し、それらを回収することにより、輸血実施時の安全確認励行の状況を確認している。その結果、記載結果を確認して不備を具体的に指摘できることになり、輸血実施時の安全確認の改善を進める上で有用であった。

また、副作用のモニターについては、従来も輸血副作用報告のシステムを設けていたものの、輸血実施現場からの自発的な報告に委ねていたシステムでは、必ずしも全ての副作用が報告されていなかった。今回、輸血実施記録用紙に副作用記録欄を設けたことにより、より実態に近い副作用の頻度が把握できたと思われる。記入不備は、手術における麻酔中の輸血が多く、手術中輸血実施の責任所在が懸念されたが、麻酔記録によって多くが追求可能と思われた。今回の方法では、報告内容が即時型副作用に限られたが、この範囲で今回の調査対象にして、集積した。

即時型輸血副作用の発生率は、赤血球製剤の0.32%、新鮮凍結血漿使用の0.19%に比較して、濃厚血小板使用による副作用は4.14%と最も多く、諸家の報告に一致する所見であった。この血小板製剤の副作用の発生数は120件であったが、その多くは皮疹のみの比較的軽度なものであった。しかし、その他にも、内訳は1%と低頻度であったものの、咳、眼瞼浮腫、結膜充血、嘔吐・呼吸困難、血圧低下、喘鳴等が認められ、重篤につながるもの、あるいは、既に重篤な副作用も見られた。

これら副作用の対策として、原因を究明し予防方法の開発に寄与すべく多くの研究がなされているが、その一つに、血液製剤中の残存白血球や、主に白血球中に多く含まれている各種サイトカインとの関連が指摘されている。今回の対象のなかで、即時型副作用の最も多かった血小板輸血は全例に対して、ベッドサイドで白血球除去フィルターが使用されており、輸血時に白血球が輸注されたことによる影響は考えにくい。そこで、保存中に白血球から遊離された各種サイトカインの影響の可能性を見るため

に、保存中の白血球数との関連を調査してみた。保存中の白血球数の実数を調査することはできなかったが、少なくとも、120件の即時型輸血副作用を呈した、濃厚血小板は、血液センターで採血製造し保管して、出庫するまでの間に測定した白血球数が $1,000$ 個/ mm^3 を超えるものは1件もなかった。このことは、保存前白血球数と、即時型輸血副作用との関連性は明らかではないと考えるべきであろう。しかし、今後も、白血球数の実数との関連を追及する必要があると考えられる。また、血小板製剤は保存中の温度が室温であることでもあり、細菌感染との関連も否定できない。保存前に白血球除去をすることにより、混入細菌数を減らせる効果があることが報告されてきており、今後の検索に期待したい。

一方、大腸癌手術患者における輸血と周術期免疫学的修飾への影響については、諸家の報告にも、影響がある旨が指摘されてきている。今回、他施設との共同で、大腸癌の手術例について、周術期輸血と、感染症等の合併症の発生や、さらには予後との関連を調査する予定であるが、解析のためには多くの症例の蓄積が必要であり、今年度は、準備に供した内容の解析に留めた。当院での大腸癌手術例は74例であったが、周術期に輸血が行われた症例は23例と、全手術例の31%であった。最近の大腸癌手術は、手術法の改良等により、輸血量が減ってきている傾向にあり、適正輸血推進の意味では、喜ばしい傾向である。しかしながら、この条件のなかで、可能な限り症例を蓄積して、大腸癌手術患者における輸血と周術期免疫学的修飾への影響についての解析を目指したい。

最後に、本研究が他氏との共同研究により、血液白血球除去技術の臨床評価につながり、輸血用血液の保存前白血球除去の有用性の解明の一助になれることを期待する。

図1. 輸血実施記録と即時型輸血副作用報告欄

血液製剤添付伝票用スペース

輸血副作用記録	
記載医師： _____	
輸血前投薬：無、有 ()	
輸血開始前	血圧： / mmHg、 脈拍： /m、体温： °C
輸血終了後	血圧： / mmHg、 (測定の場合) 脈拍： /m、体温： °C
即時型輸血副作用の有無	
発熱	：無、有 (発症時間： /)
皮疹	：無、有 (発症時間： /)
悪寒	：無、有 (発症時間： /)
嘔気	：無、有 (発症時間： /)
嘔吐	：無、有 (発症時間： /)
呼吸困難	：無、有 (発症時間： /)
血圧低下	：無、有 (発症時間： /)
血色素尿	：無、有 (発症時間： /)
その他	()
	：無、有 (発症時間： /)
処置内容 ()	
遅延型副作用 (輸血後肝炎、輸血後GVHD、遅延型溶血性副作用、細菌感染症等)：疑われた時点で輸血部に連絡して下さい。	

交差適合試験成績		輸血実施・経過観察記録						
試験者： 試験日： 月 日		輸血実施 医師署名	輸血実施 確認者署名	輸血開 始時間 (時/分)	15分後 観察者 署名	輸血終 了確認 者署名	輸血終 了時間 (時/分)	異常の有無 (時間), 異常内容
製品番号	成績							
				/			/	無、有 (/)
				/			/	無、有 (/)
				/			/	無、有 (/)
				/			/	無、有 (/)
				/			/	無、有 (/)
				/			/	無、有 (/)

図2. 本調査に使用した説明と同意のための説明書

「周術期同種血輸血に伴う免疫学的修飾に対する白血球除去血の予防効果に関する観察」
の説明書

(1) 研究の目的

この研究は、我が国における白血球除去製剤の標準化（保存前白血球除去）の導入に向け、周術期同種血輸血に伴う免疫学的修飾について、術後感染症の発生等の面から、白除血の有用性を評価することが目的です。

(2) 研究の方法

術中術後の感染症の状態を詳細に観察・記録し、多施設の結果を解析します。また、HLA抗体が産生するか否かを、採血血液で検査いたします。評価は、白血球除去を行った輸血とそうでない輸血とで比較します。当施設では、ベッドサイドでの白血球除去は行わずに、通常の輸血と同じように、血液センターから供給された血液をそのまま輸血いたします。

(3) 予想される効果

我が国における白血球除去製剤の標準化（保存前白血球除去）の導入に向け、周術期同種血輸血に伴う免疫学的修飾について、術後感染症の発生等という面から、白除血の有用性を評価することができます。

(4) 予想される危険性

数mlの採血を、数回余分に採血させていただく予定です。
白血球除去フィルターを使用する場合も、既に、他の疾患のために正式に認可されている医療器具を使用いたします。感染症の観察は、通常における診療範囲内の結果を用いさせていただきます。

(5) 同意しない場合でも不利益を受けないこと

もし、同意をいただけない場合でも、不利益を被ることはありません。

(6) 同意した後、いつでも同意を撤回できること

一旦、同意した後でも、いつでも同意を撤回することができますので、その際には、成る可く早く申し出て下さい。

(7) プライバシーの保護

この研究で得られた情報については、患者さんのプライバシーの保護に努めるよう、十分に努力します。

(8) 検査結果の報告を得られること

本研究で得られた検査結果で、お知りになりたい結果はお教えできますので、お申し出下さい。

(9) 研究終了後の試料の再利用に関すること

本研究に用いた検体は、個人の情報守秘をし、処分します。

(10) 検査結果報告以外の検体に関する権利を放棄すること

本研究に用いた検査結果報告以外の検体に関する権利は放棄いたします。

(11) 研究費用負担のないこと

本研究に、特別費用負担はありません。

図3. 本調査に使用した説明と同意のための同意書

同意書

(同意者用)

千葉大学大学院医学研究院長 殿

私は「周術期同種血輸血に伴う免疫学的修飾に対する白血球除去血の予防効果に関する観察」について、目的、方法等に関する以下の説明を文書および口頭により受け、内容について十分理解しました。この書面をもって、私がこの研究に参加することを自由意志で決定したことを示すものとしします。

説明を受け理解した項目（□の中にご自分でチェックをつけてください。）

- 研究の目的
- 研究の方法
- 予想される効果
- 予想される危険性
- 同意しない場合でも不利益を受けないこと
- 同意した後、いつでも同意を撤回できること
- プライバシーの保護
- 検査結果の報告を得られること
- 研究終了後の試料の再利用に関すること
- 検査結果報告以外の検体に関する権利を放棄すること
- 研究費用負担のないこと

同意者署名 _____ 印 平成 年 月 日

代理人署名 _____ 印 本人との続柄（ ）
平成 年 月 日
(代理人が署名する理由：)

担当医師署名 _____ 印 平成 年 月 日

表 1. 輸血実施記録用紙による輸血副作用モニター

(1) 調査期間

平成 13 年 6 月から平成 14 年 11 月までの 1.5 年間 (18 ヶ月)

(2) 輸血副作用の発生状況結果

輸血実施記録 (輸血本数) : 26,145 本
 即時型輸血副作用有無の記載数 : 25,573 本 (記載率 : 97.8%)
 即時型輸血副作用発生の記載 : 174 件 (発生率 : 0.67%)

(3) 製剤別輸血副作用発生数

輸血副作用製剤	発生数	内訳	発生率
MAP 加赤血球製剤 :	23 件	(13.2%)	(0.32%)
新鮮凍結血漿 :	31 件	(17.8%)	(0.19%)
濃厚血小板製剤 :	120 件	(69.0%)	(4.14%)

(4) 濃厚血小板製剤による副作用の内容

副作用の種類	発生数	内訳
皮疹・膨疹	106	(88%)
腹痛	2	(2%)
発熱	1	(1%)
咳、眼瞼浮腫、結膜充血	1	(1%)
嘔吐、呼吸困難	1	(1%)
嘔吐、発疹	1	(1%)
血圧低下	1	(1%)
胸部不快	1	(1%)
眼瞼浮腫	1	(1%)
嘔吐、膨疹	1	(1%)
皮疹、発熱、喘鳴	1	(1%)
眼瞼浮腫、咳	1	(1%)
呼吸困難	1	(1%)
嘔気、嘔吐	1	(1%)

<使用した血小板製剤の白血球数は何れも 1,000/cmm 以下>

表2. 大腸癌手術例と周術期輸血

診断名	術前輸血内容	手術日の輸血内容	術後輸血内容
1 直腸癌			
2 直腸腫瘍			
3 S状結腸癌			
4 直腸癌			
5 直腸癌+胆石症		MAP2:2袋、FFP2:5袋	
6 直腸癌			
7 直腸癌		MAP2:1袋	
8 S状結腸癌			
9 大腸癌			
10 S状結腸癌、転移性肝腫瘍		MAP2:5袋、FFP2:2袋	FFP2:9袋
11 S状結腸癌再発		FFP2:4袋	FFP1:3袋、FFP2:3袋
12 S状結腸癌			
13 直腸癌			
14 直腸癌			
15 直腸癌			
16 直腸癌			
17 直腸癌			
18 S状結腸癌			
19 直腸癌			
20 直腸癌、肝転移		FFP2:3袋、MAP2:1袋	:FFP2:7袋
21 直腸癌		FFP2:2袋、MAP2:1袋	
22 直腸癌	MAP2:3袋		
23 S状結腸癌			
24 直腸癌			
25 S状結腸癌			
26 大腸癌		MAP2:3袋	MAP2:3袋、FFP:4袋
27 S状結腸癌			
28 直腸癌			MAP2:5袋
29 S状結腸癌		FFP2:2袋	
30 直腸癌		MAP2:6袋、FFP2:11袋	MAP2:26袋
31 直腸癌			
32 直腸癌			
33 直腸癌			
34 直腸癌			
35 S状結腸癌			
36 直腸癌			

37	S狀結腸癌				
38	S狀結腸癌				
39	下行結腸癌(FAP疑)			FFP2單位2bag	
40	S狀結腸癌				
41	大腸癌		MAP2:2bag	MAP2單位3bag	
42	直腸癌・脾轉移				
43	S狀結腸癌、下行結腸癌				
44	S狀結腸癌				
45	直腸癌				FFP2單位:1bag
46	S狀結腸癌		MAP2:2bag		
47	S狀結腸癌				
48	S狀結腸癌				MAP2單位3bag
49	直腸癌				
50	直腸癌・脾轉移橫行結腸癌				MAP2單位2bag
51	直腸癌				
52	直腸癌				
53	直腸癌				
54	大腸癌				
55	直腸癌			MAP2:4bags	
56	大腸癌			MAP2:6bags	
57	直腸癌(吻合部再發)				
58	大腸癌(回盲部)				
59	S狀結腸癌				
60	S狀結腸癌		MAP2:3bag		
61	S狀結腸癌				
62	S狀結腸癌				
63	S狀結腸癌、直腸膀胱浸潤		MAP2:1bag	MAP2:2bags	FFP2:3bag
64	直腸癌				
65	直腸癌				
66	S狀結腸癌		MAP2:3bag	MAP2:2bags	FFP2:4bags
67	橫行結腸癌				
68	直腸癌				
69	S狀結腸癌+卵巢囊腫				
70	下行結腸癌、胆石症				
71	下行結腸癌			MAP2:2bags	
72	S狀結腸癌、胆石症				
73	S狀結腸癌、肺肝轉移				
74	S狀結腸癌				

MAP:赤血球M-A-P、 PC:濃厚血小板、 FFP:新鮮凍結血漿

平成 14 年度 厚生労働科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

血液白血球除去技術の臨床評価：前方視的検討

分担研究報告書

非白血球除去血輸血療法の術後合併症の調査および

輸血関連免疫修飾に関する基礎的研究

分担研究者 比留間潔（都立駒込病院 輸血科）

研究協力者 奥山美樹、久保田尚子、山本恵美（都立駒込病院 輸血科）

研究要旨

【目的】 保存前白血球除去（PreSLR; prestorage leukocyte reduction）の有効性を検証する目的で、PreSLR が導入されていない現在の大腸直腸癌手術症例の術後感染症などの合併症を把握する。PreSLR が導入された後の術後合併症の状況と比較することで白血球除去の効果を検証することができる。今年度は大腸直腸癌手術症例をプロスペクティブに登録し術後感染症の発症率などを調査した。また、昨年度は白血球による免疫抑制作用の機序に関する基礎的な検討を行い、白血球を除去しない全血中にはリンパ球の増殖を抑制する作用があることを明らかにした。今年度はこの機序の一つとしてリンパ球のアポトーシスに焦点を絞り検討した。

【方法】 1. 平成 14 年 1 月から 11 月までの大腸直腸癌手術症例を対象に患者背景、輸血量、出血量、術後感染症などを調査した。2. TRIM の基礎研究：白血球除去全血と白血球除去を行わない CPDA-1 全血を保存し、それぞれの血漿を同一ドナーのリンパ球に作用させ FAS、FAS ligand (FAS-L)、細胞質内 7A6 抗原の発現をフローサイトメトリーで調べた。

【結果および考察】 1. 登録された大腸直腸癌手術症例は全例で 162 例であった。全て白血球除去フィルターおよび微小凝集塊除去フィルターは使用されていなかった。赤血球輸血例は 30 例（18.5%）で、出血量と輸血量はよく相関した（ $r^2=0.856$ ）。輸血群は無輸血群に比較し、術後 1 日の白血球数と CRP が有意に高く、術後 7 日の体温も有意に高かった。また、術後病巣感染と尿路感染発症率も輸血群で有意に高かった。2. *in vitro* の検証では保存全血由来の血漿はリンパ球にアポトーシスを惹起させ、白血球除去によりこのアポトーシス惹起作用は抑制された。【考察】 大腸直腸癌手術症例の術後感染症は輸血群で明らかに高い可能性があり、PreSLR により白血球除去が導入された後に同様の調査を行うことで、本研究班の目的が達せられる可能性が明らかになった。白血球除去を行わない全血中にはリンパ球のアポトーシスを誘導する作用が明らかに存在し、これらの作用は白血球除去によって予防できることが明らかになった。この結果は、輸血関連免疫変調（TRIM; transfusion-related immune modulation）の機序を考慮する上で重要な意義を有すると考えられた。

A. 目的

輸血用血液中の白血球による種々の有害事象（保存障害、免疫性副作用、感染性副作用など）は周知され、一部の患者に対してはベッドサイドで白血球除去が行われ一定の効果が得られている。一方、欧米では保存前白血球除去（PreSLR; prestorage leukocyte reduction）が導入され、この場合、原則的に全ての輸血用血液から白血球が除去されるため、輸血を受ける患者、全てに白血球除去輸血用血液が供給されることになる。白血球による有害事象はベッドサイドで白血球除去を行うより、PreSLRの方がより効果的であるとされるが、実際の臨床的な効果、患者への利点に関しては必ずしも明らかになっていないとは言えない。

我が国においては未だ PreSLR は導入されていないが、非白血球除去輸血用血液が一般である現時点における受血者の輸血合併症を把握し、今後 PreSLR が導入された時の輸血合併症を比較することで PreSLR の意義を検証することができる。昨年度の検討では一定の頻度で輸血が必要となり、白血球除去フィルターが使用されていない対象疾患として大腸癌、直腸癌、肝癌、胃癌胃切除が調査対象症例として適していることが判明した。そこで、本年度はこのうち大

腸直腸癌の手術例に症例を絞り、プロスペクティブに登録し術後の合併症などを調査した。PreSLR が導入された場合これらの術式の術後合併症を調査することで白血球除去の有効性を検証できるものとする。

また、昨年度は白血球を除去しない全血には保存中にリンパ球の増殖や活性化を抑制する物質が発生することを明らかにし、白血球を除去することでこれらの免疫抑制物質の発生を抑制することを明らかにした。したがって、あくまで *in vitro* の成績ではあるが、輸血用血液中の白血球によって輸血関連免疫変調（TRIM; transfusion-related immune modulation）が起こる可能性があり、これを白血球 PreSLR によって予防できる可能性が示された。本年度は白血球に起因する免疫抑制作用を明らかにするため、そのリンパ球へのアポトーシス誘導の有無を検討した。

B. 方法

1. 大腸直腸癌手術症例の輸血合併症の調査

平成 15 年 1 月より平成 15 年 11 月まで、都立駒込病院で手術が行われた大腸直腸癌の連続症例を登録し、輸血量、患者背景、合併症などを調査した。特に白血球数、CRP、体温、局所の感染症の有無などを調査し、

術後感染症の発生頻度を調べた。赤血球輸血群と無輸血群に分け、術後感染症の頻度を比較した。両群の比較に関しては Student's t-test、Welch's t-test および Fisher's exact test で検定した。

2. TRIMの基礎研究

CPDA-1 保存液 56mL の入った全血採血バッグ、白血球除去フィルター（セパセル RZ）および白血球除去全血用バッグが直列に連続した PreSLR 用 CPDA-1 全血採血バッグを用い PreSLR 全血を調整した。採血後 2-3 時間室温で保存した後、85cm の落差でろ過した。対照として白血球除去を行わない CPDA-1 全血を調整した。

35 日間 4°C で保存後、血漿を遠心分離した。同一者のヘパリン加全血を比重遠心法で単核球を分離し RPMI-1640 に浮遊し 1×10^6 /mL に調整した。この浮遊液と等量の保存血漿を加え 5%CO₂ 存在下 37°C で培養し細胞増殖を Alamar blue 試薬を用い評価した。また、細胞表面上の FAS、FAS ligand (FAS-L) の発現をフローサイトメトリーで測定し比較した。さらに、アポトーシスが生じると発現する細胞質内 7A6 抗原もフローサイトメトリーで測定した。

C. 結果

1. 大腸直腸癌手術症例の輸血合併症の調査

162 症例が登録され、その背景を表 1 に示した。平均年齢 65.4 歳（範囲 24-92 歳）、男性 83 女性 79 例であった。術前の合併症としては高血圧 38.9%、糖尿病 17.9%、貧血 30.2% の頻度が高かった。疾患部位は直腸が最も多く 32.1% であった。

30 例（18.5%）に赤血球輸血（MAP 液加赤血球濃厚液；RC-MAP）が行われ、全例において白血球除去フィルターも微小凝集塊除去フィルターも用いられていなかった。新鮮凍結血漿（fresh frozen plasma；FFP）は 5.6% の症例で輸血され、血小板濃厚液（platelet concentrate；PC）は全く使用されていなかった。

出血量は赤血球輸血群で平均 1685.5mL、無輸血群で平均 253.8mL と、当然と思われるが明らかに出血量が多い場合に輸血が行われていた（表 3）。また、出血量と赤血球輸血単位数には有意な正の相関（ $r^2=0.856$ ）を認めた（図 1）。

術後感染症の指標として両群の体温、白血球数および CRP の差を図 2 に示した。術後の体温は術後 7 日で輸血群 $37.1 \pm 0.6^\circ\text{C}$ 、無輸血群 $36.8 \pm 0.5^\circ\text{C}$ と輸血群で有意に高く、術後 1 日の白血球数は輸血群 $12703 \pm 3650/\mu\text{L}$ 、無輸血群 $10660 \pm 3219/\mu\text{L}$ と輸

血群で有意に高かった。また、CRP も術後 1 日で輸血群 $9.7 \pm 4.0 \text{mg/dL}$ 、無輸血群 $7.9 \pm 4.0 \text{mg/dL}$ と輸血群で有意に高かった。さらに、実際の感染症として、手術部感染、病巣感染および尿路感染の発症率を調査したところいずれも輸血群で発症率が高く、病巣感染と尿路感染に関しては統計学的に有意であった。術後入院期間は輸血群で 17.9 ± 7.5 日、無輸血群で 12.9 ± 5.2 日であり、前者で有意に入院期間が長かった。以上の結果から輸血群で有意に感染症の発症率が高い事実が明らかになった。

2. TRIM の基礎研究

通常の CPDA-1 添加全血と白血球除去全血を 35 日間保存し、分離した血漿を同一ドナーの新鮮リンパ球に添加し 24 時間後の増殖を評価した。その結果は図 1 に示したように新鮮血漿下での増殖に比較し通常の保存全血由来血漿では著しく増殖が抑制された。しかし、白血球除去全血由来血漿ではその抑制が予防された。

白血球除去しない全血の保存後の血漿にリンパ球の増殖を抑制する作用があることが明らかになったため、この作用がアポトーシスを惹起することに起因するのではないかと考え、それを検証するために、まず、リンパ球上の FAS および FAS-L の発現を

検索した (図 4)。その結果、培養後 5 時間で FAS の発現が新鮮血漿、保存全血血漿、白血球除去保存全血血漿でそれぞれ、14.96%、13.42%、15.83% と差が乏しかったが、FAS-L はそれぞれ、1.77%、8.84%、1.75%、と白血球除去しない保存全血血漿で高かった。培養後 5 日では 3 群で FAS-L の発現は乏しかった。

細胞質内 7A6 抗原は培養後 5 時間、3 日で保存全血血漿で最も高く、白血球除去保存全血血漿、新鮮血漿の順に低くなった (図 5)。図 6 には FAS、FAS-L、細胞質内 7A6 抗原の発現をまとめて示した。この結果から白血球除去を行わない全血の保存後の血漿中にリンパ球のアポトーシスを誘導する作用があることが明らかになった。

D. 考察

1. 大腸直腸癌手術症例の輸血合併症

今回の調査では大腸直腸癌 162 症例のうち 18.5% で赤血球輸血が行われていた。輸血群と無輸血群を比較したところ術後の体温、白血球数および CRP は明らかに輸血群で高く、輸血群での感染症発症率が高い可能性があることが明らかになった。しかし、当然のことながら出血量が多い理由から輸血が行われるので、輸血群ではより侵襲の大きい手術が行わ

れていた可能性があり、これらの感染症の発症要因が輸血のみと判断することはできない。輸血量と出血量が $r^2=0.856$ と非常によく相関していたことより、赤血球輸血は出血量に準じて行われていたことが分かり、このことから、感染症の発症率は出血量の多寡でも規定されると言ってもよい。

術後感染症発症の機序を考慮した場合、出血量に起因する原因は腫瘍が大きく浸潤度が高く手術創からの細菌感染が多いことが考えられる。あるいは、失血に伴い循環不全が生じ局所の組織循環不全から、免疫不全、再生不全となり感染しやすい状態が生じることなどが考慮される。ただし、後者に関しては出血に見合う量の血液が輸血され術中の循環動態管理が適切に行われていることが考慮されることから、考え難いかもしれない。

一方、輸血に起因する原因としては従来から考察されるように、同種血輸血による免疫修飾すなわち TRIM の可能性が考慮される。TRIM の機序そのものが明らかになっていないが、これまでに同種血輸血による免疫抑制が生じる事実は報告されている。輸血によって移植腎の拒絶が予防できること、炎症性大腸疾患が同種血輸血で改善することなどである。ま

た、大腸手術において同種血輸血が自己血輸血より明らかに感染症が発症しやすいというメタナリシスがあることより、同種血輸血による同種免疫反応が TRIM の本態であると考えられている。

今回の 162 症例の調査結果から、原因は特定されなくとも、輸血群で明らかに感染症が発症しやすいという事実が得られたことは、今後、TRIM の原因を追求するために意義あることと考える。PreSLR が導入された後に同様の調査を行うことで、その感染症発症率が減少すれば、TRIM の原因として同種白血球あるいは同種血小板による同種免疫応答による可能性が高くなり、白血球除去輸血の有用性が明らかになることと思われた。

2. TRIM の基礎研究

昨年度は、保存全血由来の血漿がリンパ球の増殖や種々のマイトジェンによる増殖刺激を抑制することを明らかにした。そして、PreSLR で保存した全血由来の血漿ではその抑制効果が予防可能であった。

今年度はさらにその機序を追求する目的で、保存全血由来の血漿がリンパ球にアポトーシスを惹起させる可能性に焦点を絞り検討した。保存全血由来の血漿をリンパ球に作用させると少なくとも 5 時間後には細胞