

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

免疫学的輸血副作用の把握と
その対応に関する研究

(H17 - 医薬 - 053)

平成 17 年度報告書

主任研究者 高本 滋

(愛知医科大学医学部輸血部)

平成 18 年 (2006 年) 3 月

平成 17 年度 厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

免疫学的輸血副作用の把握とその対応に関する研究
(H17 - 医薬 - 053)

総括・分担研究報告書

研究組織

主任研究者

高本 滋(愛知医科大学医学部輸血部)

分担研究者

清水 勝(杏林大学医学部臨床検査科)

倉田義之(大阪大学医学部輸血部)

半田 誠(慶應義塾大学医学部輸血・細胞治療部)

岡崎 仁(日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)

研究協力者

- 加藤栄史（愛知医科大学医学部輸血部）
宇留間元昭（愛知医科大学医学部輸血部）
比留間潔（東京都立駒込病院輸血科）
藤田 浩（東京都立墨東病院輸血科）
石田 明（慶応義塾大学医学部輸血・細胞療法部）
上村知恵（慶応義塾大学医学部輸血・細胞療法部）
松橋博子（慶応義塾大学医学部輸血・細胞療法部）
岡本真一郎（慶応義塾大学医学部血液内科）
嶋田英子（日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所）
高橋雅彦（東京都赤十字血液センター）
佐竹正博（東京都赤十字血液センター）
中島一格（東京都赤十字血液センター）
西村元子（東京都赤十字血液センター）
渡辺嘉久（日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所）
平山文也（大阪府赤十字血液センター）
飯島毅彦（杏林大学医学部麻醉科）
安田博之（杏林大学医学部麻醉科学）
堀田 一（杏林大学医学部中央検査部）

（掲載順）

目次

総括研究報告

高本 滋(愛知医科大学医学部輸血部)	1
--------------------------	---

分担研究報告

1. 免疫学的輸血副作用実態調査報告

倉田義之(大阪大学医学部輸血部)	10
------------------------	----

2. 輸血副作用の実態調査

高本 滋(愛知医科大学医学部輸血部)	20
--------------------------	----

3. 非溶血性免疫学的輸血副作用と抗血漿蛋白抗体との関連性 についての検討

半田 誠(慶応義塾大学医学部輸血・細胞療法部)	29
-------------------------------	----

4. 輸血関連急性肺障害(TRALI)に関する基礎的、臨床的研究

岡崎 仁(日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)	54
---------------------------------	----

5. TRALI 関連抗白血球抗体の新たな検出系の樹立

平山文也(大阪府赤十字血液センター)	65
--------------------------	----

6. TRALI 診断基準の検討

清水 勝(杏林大学医学部臨床検査科)	72
--------------------------	----

平成 17 年度 厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

総括研究報告書

免疫学的輸血副作用の把握とその対応に関する研究

(H17 - 医薬 - 053)

主任研究者 高本 滋 (愛知医科大学医学部輸血部)

研究要旨

【目的】 本研究は、我国では未だ確立されていない輸血副作用の集計について、全国的な報告体制を確立すると共に、輸血副作用の現状を把握し、さらには新たに注目されている輸血関連急性肺障害 (TRALI) など、特に免疫学的副作用について、実態を把握し、治療ならびに予防法を追求することを目的とする。

【方法】

1. 免疫学的輸血副作用の全国調査と実態把握
 - 1) 輸血副作用をほぼ 100%把握していると回答した全国 216 施設に対し、免疫学的副作用についてアンケート調査を行い、その結果を解析した。調査期間は保存前白血球除去処理導入前 (平成 16 年 1~6 月) と導入後 (平成 17 年 1~6 月) の各半年間とした。
 - 2) 副作用報告に積極的な 4 施設 (愛知医大、大阪大、都立駒込、都立墨東) について、輸血副作用の実態を集計し、保存前白血球除去処理導入前後の比較を行った。
 - 3) 免疫学的輸血副作用について、頻回輸血を受ける血液疾患患者を対象とし、抗血漿蛋白抗体との関連について検討した。
2. 輸血関連急性肺障害 (Transfusion Related Acute Lung Injury: TRALI)
 - 1) 日本赤十字社に報告された TRALI 症例を確診例、疑診例に分け、発症時間、抗白血球抗体の陽性率などについて比較検討した。また、TRALI の発症機序を探るため、*in vitro* の実験系を構築した。単球、肺血管内皮細胞および被検血清を共培養し、Leukotriene B₄ の遊離、接着分子の発現、アポトーシスの出現などについて検討した。
 - 2) TRALI に密接に関連すると言われる抗白血球抗体の検出法について、フローサイトメトリー (FCM) を用いた新検出系の確立を試みた。具体的には、①EDTA 採血した全血に被験血清を加え反応させ、洗浄後、FITC-ヤギ抗ヒト IgG で染色する。②同検体を洗浄後、2 次抗体の残余結合部位をマウス血清でブロックし、PE-抗 CD4、PE-抗 CD20、PerCP-抗 CD14 で更に染色する。③溶血剤で赤血球を溶血させた後、FCM で抗体の有無を測定した。
 - 3) TRALI の診断基準としての PaO₂/FiO₂ (P/F) 比および発症に関連するとされる抗白血球抗体について、輸血を受けた ICU 入室患者を対象に、その特異性、有用性を検討した。

【結果と考察】

1. 免疫学的輸血副作用の全国集計と実態把握
 - 1) 全国 216 施設に対する集計

全国 216 施設の内、160 施設 (74%) から回答を得た。副作用頻度はバッグ当たり約 1.4% であり、両期間に差は見られなかった。製剤別では MAP 濃厚赤血球 (RC) で約 0.8%、濃厚血小板 (PC) で約 4.2%、新鮮凍結血漿 (FFP) で約 0.6% であり、白血球除去導入前後で著名な変化は認められなかった。副作用種類としては、PC による蕁麻疹・かゆみが 3% 強と明らかに高頻度であり、その他は 1% 以下で、RC では発熱、蕁麻疹・かゆみ、寒気・振るえの順、PC では発熱、寒気・振るえの順、さらに FFP では蕁麻疹・かゆみ、発熱などの順であり、平成 17 年も著変はなかった。その他、発熱性副作用は RC、PC とも 0.35~0.41% 程度であった。

2) 副作用報告に積極的な 4 施設における輸血副作用の実態

今年度 (保存前白血球除去導入後)、4 施設における総輸血単位数、総使用バッグ数に昨年度 (導入前) と大きな相違は認められなかった。ただし、輸血副作用の発生件数は 715 件 (バッグ当たり 1.6%) であり、昨年度の 2.0% より有意に低値であった ($p < 0.001$)。製剤別では、RC、FFP では各 0.7%、1.1% と昨年度と同様な頻度であったが、白血球除去が導入された PC に関しては昨年度の 5.1% から今年度の 3.6% と有意な減少が認められた ($p < 0.001$)。すなわち、保存前白血球除去が輸血副作用削減に有効であると判断された。さらに副作用の種類別に発生率を検討した結果、蕁麻疹は不変であったが、発赤、搔痒感、発熱については導入前に比べ、導入後は有意な減少が認められた。今後、RC、FFP に対する保存前白血球除去導入による輸血副作用の軽減が期待される。

3) 免疫学的輸血副作用と抗血漿蛋白抗体 (11 種類) との関連

(1) 輸血歴のある 40 例について、輸血副作用と抗血漿蛋白抗体の有無を検討した。その結果、副作用は 20 例、抗体は 5 例に認められたが、副作用 20 例中、陽性は 4 例に留まり、副作用のない 20 例中にも陽性が 1 例あり、抗体陽性と副作用との間に明確な相関はなかった。(2) 輸血歴のない 20 例に対し、前方視的に同様な検討を行った結果、抗体は 5 例 (内 4 例は輸血前から陽性) に認められた。一方、副作用は 6 例に認められたが、いずれも抗体陰性例であり、両者の間に相関は認められなかった。(3) 中等度以上の輸血副作用を示した 20 例について 11 種類の血漿蛋白の欠損ならびに抗体を測定した結果、欠損例はなく、抗血漿蛋白抗体も検出されず、今回検索した抗血漿蛋白抗体の輸血副作用への関与は否定的と考えられた。

2. 輸血関連急性肺障害 (Transfusion Related Acute Lung Injury: TRALI)

1) TRALI に関する基礎的、臨床的研究

国際的診断基準に従って登録症例を、TRALI 確診例 99 例と疑診例 27 例に再分類した。発症時間について確診例、疑診例とも輸血後 2 時間以内が多かった。確診例の年齢の中央値は 66 才、男女比は 3 : 2、呼吸困難以外の症状では発熱、低血圧、咳および喀痰が多かった。抗白血球抗体の内訳は、抗 HLA 抗体単独 60%、抗顆粒球抗体単独 20% および両者合併 20% であった。抗白血球抗体はドナー側で確診例の 50%、疑診例では約 30% に留まりやや低めであった。また、患者側では確診例の 38%、疑診例の 21% に認められた。一方、基礎的研究として TRALI の発症機序についての *in vitro* の実験系を構築した。特異性の決定している HLA class II 抗体を含む血清を、その抗原陽性の単球と肺毛細血管内皮細胞と共培養すると有意に Leukotriene B₄ の上清中への遊離が見られ、好中球の遊走を促進する可能性が示された。さらに単球表面上、肺毛細血管内皮細胞上の接着分子の発現も上昇し、相互作用の促進が伺われた。また、肺毛細血管内皮細胞の傷害は軽度であったが、一部アポトーシスが認められ、内皮細胞の脆弱化の可能性が示された。

2) 抗白血球抗体の新検出系の確立

TRALI に密接に関連する抗白血球抗体の検出には好中球、単球のみならず T&B リンパ球や血小板に対する反応性の確認も必要であり、FCM による蛍光抗体法では好中球、単球のバックグラウンドの高さが問題となる。今回、二次抗体として FITC-ヤギ抗 IgG を用いる新しい検出系を構築した結果、何れの細胞においても低バックグラウンドを実現し、FCM による抗体測定を容易とした。しかも本法では、5 系統の細胞を同時に解析できることから、TRALI に関連する抗白血球抗体の同定に極めて有用と考えられ、今後、TRALI 症例の抗体検索における有用性が大いに期待される。

3) PaO₂/FiO₂ (P/F) 比、抗白血球抗体の TRALI 診断基準としての特異性、有用性の検討

外科手術 24 例（一般 6、心臓 18 例）を対象に術前、術後の P/F 比を検討した結果、術前 2 例（心臓のみ）、術後では 12 例（一般 1、心臓 11 例）に P/F 比 300mmHg 以下が認められたが、対象例中に TRALI 症例はなく、P/F 比は呼吸不全の程度を把握するための指標と考えられた。抗白血球抗体について、手術とは関連なく TRALI が疑われた 2 症例については共に陰性であり、手術症例 24 例の術前、術後の抗 HLA 抗体を検索した結果、術前では 2 例、術後では 1 例に検出されたが、いずれの対象症例にも呼吸機能障害は認められず、今調査では患者血中の、抗白血球抗体、抗 HLA 抗体と TRALI 発症との相関は認められなかった。

【結論】 全国 216 施設および輸血副作用報告に積極的な 4 施設に対する調査結果より、バッグ当たりの副作用発生頻度は 1~2% の範囲であり、大部分が免疫学的副作用と考えられた。製剤別では、血小板製剤で 3% 以上と赤血球製剤、新鮮凍結血漿の 1% 前後に比べ有意に高率であった。両調査の比較では、新鮮凍結血漿にのみ差があり、全国調査が 4 施設に比べ半分近く低率であった。副作用の種類としては血小板製剤による蕁麻疹が約 3% と最も高率であり、発熱、搔痒感、発赤、悪寒などが 1% 未満の頻度で認められた。血小板製剤に対する保存前白血球除去導入前後の比較では、4 施設では副作用頻度に有意な減少が認められたが、全国では変化はなかった。原因として、全国調査では各施設の診療形態の特徴が、あるいは施設間の観察力の差が反映されたものか、今後、さらなる詳細な解析を要する。また今後、全国集計を行ってゆくには施設間の観察力の差を解消するとともに、副作用種類について発熱、蕁麻疹など項目により、軽、中、重症など程度毎の分類も必要と考えられる。

一方、TRALI に関して原因究明はなかなか困難ではあるが、少しずつ成果が得られている。国際的に推奨される診断基準に従い登録症例を TRALI 確診例と疑診例に再分類した。診断基準では発症は輸血後 6 時間以内とされるが、確診例、疑診例とも輸血後 2 時間以内が多かった。確診例の年齢の中央値は 66 才、男女比は 3:2、呼吸困難以外の症状では発熱、低血圧、咳および喀痰が多かった。抗白血球抗体の内訳は抗 HLA 抗体単独 60%、抗顆粒球抗体単独 20% および両者合併 20% であった。抗白血球抗体はドナー側では確診例の 50% に、疑診例の約 30% に、患者側では確診例の 38%、疑診例の 21% に認められた。また、TRALI に密接に関連する抗白血球抗体の検出に、二次抗体として FITC-ヤギ抗 IgG を用いる新しい検出系を構築した結果、何れの細胞においても低バックグラウンドを実現し、FCM による抗体測定を容易とした。しかも本法では、5 系統の細胞を同時に解析できることから、TRALI に関連する抗白血球抗体の同定に極めて有用と考えられ、今後、TRALI 症例の抗体検索における有用性が大いに期待される。さらに、ICU における手術症例の検討から、PaO₂/FiO₂ 比は術後には低下し、症例によっては 300mmHg 以下になる場合も多数あることが明らかとなった。このことより、P/F 比は呼吸不全のレベルを示す指標と考えられるが、TRALI の診断には輸血後の経過など総合的に判断することが重要と考えられる。

A. 研究目的

輸血療法は適正に行なわれれば極めて有効かつ必須の治療法である。しかしながら、血液製剤は他人の血液を原料とするため、感染症、免疫反応などある程度の輸血副作用は回避しきれない。輸血副作用についてはエイズ感染以降、ヨーロッパでは特に注意が払われ、輸血副作用を監視するヘモビジランス (hemovigilance) という体制が確立されつつあり、一部では国レベルで指導が行なわれている。我国でも輸血副作用については日本赤十字社が集計を行っているものの、基本的には医療施設の自主申告であり、重症例に偏りがちであり、決して十分な把握ができていたとは言い難い。救命あるいは治療のための輸血により、かえって患者の状況を悪化させることは社会的にも受け入れがたい問題であり、我国でも全国的な輸血副作用の把握とその対応が重要かつ急務と考えられる。

輸血副作用の内、感染症に関しては HIV, HCV, HBV に対する核酸増幅検査 (Nucleic-acid Amplification Test: NAT) の導入により安全性は向上し、被害者救済についても医薬品医療機器総合機構の発足により道が開けた。しかし、ニュースで報道される過誤輸血などの免疫学的な輸血副作用については被害者救済の道はなく、最近注目されている輸血関連急性肺障害 (Transfusion Related Acute Lung Injury: TRALI) などを考慮に入れれば、免疫学的な輸血副作用はむしろ増加している感さえあり、これらは可及的速やかに解明されなければならない。

本研究では、平成 16 年度厚生労働科学特別研究で行なったアンケートなどの調査結果を基に、第一には、全国の医療施設における輸血副作用を把握する体制の構築を目指すとともに、第二には、輸血副作用、特に輸血過誤など免疫学的副作用について、その種類、頻度を明らかにし、第三には、最近特に注目されている TRALI について、本副作用の

発症機序、診断基準、関連検査などについて解析を行い、これら免疫学的副作用についてその対策を立ててゆくことを目的とする。

B. 研究方法

1. 免疫学的輸血副作用の全国調査と実態把握

1) 免疫学的輸血副作用の全国調査

昨年度の調査で、輸血副作用をほぼ 100%把握していると回答した全国 216 施設に対し、免疫学的副作用についてアンケート調査を行い、その結果を解析した。調査内容は使用血液製剤種類及びバッグ数および輸血副作用種類と件数などである。調査期間は保存前白血球除去処理導入前 (平成 16 年 1~6 月) と導入後 (平成 17 年 1~6 月) の各半年間とした。平成 17 年 11 月に上記施設へアンケート調査用紙を送付し、12 月末日を締め切りとした。

2) 免疫学的輸血副作用の 4 施設における実態調査

副作用報告に積極的な 4 施設 (愛知医大、大阪大、都立駒込、都立墨東) について、輸血副作用の実態を集計した。調査内容は使用血液製剤種類及びバッグ数および輸血副作用種類と件数などである。本調査については、昨年度、保存前白血球除去処理導入前を対象とし調査結果が明らかになっており、今年度は同施設、同期間を対象とし導入後の調査を行い、導入前後の比較も行った。調査対象は平成 16 年 11 月から平成 17 年 10 月までの 1 年間である。

3) 免疫学的輸血副作用と抗血漿蛋白抗体 (11 種類) との関連

免疫学的輸血副作用について、頻回輸血を受ける血液疾患患者を対象とし、抗血漿蛋白抗体がその原因となり得るのか、その関連について検討した。対象としたのは、輸血歴のある患者 40 例、輸血歴のない患者 20 例および中等度以上の輸血副作用を示した患者 20 例 (3 例の癌患者を含む) であ

る。これら症例について、ハプトグロビン、トランスフェリン、セルロプラスミンなど 11 種類に及ぶ血漿蛋白欠損の有無、それに対する抗体の有無と輸血副作用との関連について検討した。

2. 輸血関連急性肺障害 (Transfusion Related Acute Lung Injury: TRALI)

1) 輸血関連急性肺障害 (TRALI) に関する基礎的、臨床的研究

日本赤十字社に報告 (1997~2004) された TRALI 症例を国際的に提唱された診断基準に従い、確診例、疑診例に分け、発症時間、抗白血球抗体の陽性率などについて比較検討した。また、TRALI の発症機序を探るため、*in vitro* の実験系を構築した。単球、肺血管内皮細胞および被験血清を共培養し、Leukotriene B₄ の遊離、CD11/CD18、VCAM-1 などの接着分子の発現、アポトーシスの出現などについて検討した。

2) 抗白血球抗体の新検出法の確立

TRALI に密接に関連すると言われる抗白血球抗体の検出法について、フローサイトメトリー (FCM) を用いた新検出系の確立を試みた。具体的には、①EDTA 採血した全血に被験血清を加え反応させ、洗浄後、FITC-ヤギ抗ヒト IgG で染色する。②同検体を洗浄後、2 次抗体の残余結合部位をマウス血清でブロックし、PE-抗 CD4、PE-抗 CD20、PerCP-抗 CD14 で更に染色する。③溶血剤で赤血球を溶血させた後、FCM で抗体の有無を測定した。

3) TRALI 診断基準としての PaO₂/FiO₂ 比および抗白血球抗体の特異性の検討

TRALI の診断基準としての PaO₂/FiO₂ (P/F) 比および発症に関連するとされる抗白血球抗体について、輸血を受けた ICU 入室患者を対象に、その特異性、有用性を検討した。術後 ICU 入室予定症例 (24 例) を対象に、術中および ICU 入室後の血液ガスを測定し、P/F 比を算定した。さらに TRALI

の強く疑われる症例 (2 例) については抗血漿蛋白抗体、血漿蛋白欠損の有無、抗 HLA 抗体、抗顆粒球抗体の検査を行った。また、術中輸血が予想される患者 (24 例) を対象に、手術前と手術後 1 週間の抗 HLA 抗体を検索した。

C. 研究結果と考察

1. 免疫学的輸血副作用の全国調査と実態把握

1) 免疫学的輸血副作用の全国調査

対象 216 施設中、160 施設 (回答率 74%) より回答を得た。平成 16 年、17 年における総使用バッグ数は各 328, 390、349, 324 バッグ、総副作用件数は 4, 506、5, 010 件であり、バッグ当たりの総頻度は各 1.37%、1.43%と算定された。各製剤別の頻度は、赤血球製剤で同様に 0.77%、0.78%、血小板製剤で 4.26%、4.17%、新鮮凍結血漿で 0.53%、0.72%であり、両期間に著名な差は認められなかった。

副作用種類別に見ると、赤血球 1 バッグ当たりの副作用頻度 (平成 16 年、17 年) は発熱 0.41%、0.40%、蕁麻疹・かゆみ 0.16%、0.17%、寒気・振るえ 0.08%、0.07%などであった。血小板製剤では蕁麻疹・かゆみ 3.37%、3.33%、発熱 0.35%、0.34%、寒気・振るえ 0.13%、0.13%などであった。新鮮凍結血漿では蕁麻疹・かゆみ 0.35%、0.48%、発熱 0.09%、0.12%などであり、僅かながら平成 17 年に増加する傾向が見られた。副作用の中では血小板製剤での蕁麻疹・かゆみが最も頻度多く 3.3%であった。発熱性副作用は赤血球、血小板製剤とも 0.35~0.41%程度であった。血小板製剤がすべて白血球除去製剤となった後も蕁麻疹や発熱などの副作用頻度に変化はなかった。

副作用頻度 (平成 16 年、17 年) に関して、4 施設の結果、2.0%、1.6%に比べると全国調査結果は 1.37%、1.43%とやや低めで

あった。製剤別で見ると、赤血球製剤、血小板製剤ではほぼ同等であったが、新鮮凍結血漿では4施設の1.3%、1.1%に比し、全国調査では0.53%、0.72%と明らかに低く、全頻度の差が新鮮凍結血漿の差によるものと考えられた。また、白血球除去処理導入前後の比較でも、4施設では明らかな減少が認められたのに比し、全国調査では差は認められなかった。全国調査では、100%副作用を把握していると回答しているにもかかわらず、使用製剤バッグ数から考慮して明らかに副作用件数の少ない施設も少なからず含まれており、特に新鮮凍結血漿に関して多い傾向が認められた。両調査結果の差が対象施設の特徴を反映するものか、あるいは副作用の観察力の差によるものか、今後、さらなる詳細な解析を要すると考えられる。

2) 免疫学的輸血副作用の4施設における実態調査

副作用報告に積極的な4施設(愛知医大、大阪大、都立駒込、都立墨東)について、輸血副作用の実態を集計した。4施設における総輸血単位数は177,874単位、総使用バッグ数は44,435バッグであり、昨年度と大きな相違は認められなかった。このうち、輸血副作用の総発生件数は715件、バッグ当たり1.6%と算定され、昨年度の2.0%より有意に低値であった($p<0.001$)。輸血副作用の内、感染症の報告は認められず、溶血性副作用の4件を含め、殆どが免疫学的輸血副作用と判断された。

製剤毎のバッグ当たりの副作用発生頻度を検索した結果、保存前白血球除去処理未導入のMAP濃厚赤血球(RC)、新鮮凍結血漿(FFP)では各0.7%、1.1%と昨年度と同様な頻度であったが、本処理導入済のPCに関しては、昨年度の5.1%から今年度の3.6%と有意な減少が認められた($p<0.001$)。この結果から、本処理が輸血副作用軽減に有効であると判断された。

次に、PCにおけるバッグ当たりの副作用種類別の発生率を検討した結果、蕁麻疹は2.92% (導入前:3.01%)と不変であったが、発赤、掻痒感、発熱は導入前の各1.02%、1.68%、0.39%に対し、導入後は各0.55% ($p<0.001$)、0.92% ($p<0.001$)、0.24% ($p<0.005$)と有意な減少を示した。この結果から、本処理は発熱のみならず、発赤、掻痒感といったアレルギー反応に対しても予防効果があり、多くの免疫学的副作用を軽減できる可能性が示された。また、RCによる副作用では発熱反応が主体であり、FFPでは掻痒感などアレルギー反応が主体であることから、今後、これら2製剤に対する保存前白血球除去処理の導入により、免疫学的輸血副作用のさらなる軽減が期待される。

また、全国調査では本処理導入前後で副作用頻度に軽減が認められなかったが、160施設に及ぶ調査結果であることから、各施設の診療形態の特徴が反映されたものか、施設間の観察力の差が反映されたものか、今後さらなる解析が必要と考えられた。

3) 免疫学的輸血副作用と抗血漿蛋白抗体(11種類)との関連

(1)輸血歴のある血液疾患40例について、輸血副作用と抗血漿蛋白抗体の有無を検討した結果、副作用は20例、抗体陽性は5例に認められたが、副作用20例中、抗体陽性例は4例(20%)、陰性例は16例(80%)であり、また副作用のなかった20例中にも抗体陽性例が1例あり、抗体陽性と副作用との間に明確な相関はなかった。(2)輸血歴のない血液疾患20例に対し、前方視的に同様な検討を行った。その結果、抗体は5例(内4例は輸血前から陽性)に認められた。一方、副作用は6例(内3例は初回輸血時)に認められたが、いずれも抗体陰性例であり、両者の間に相関は認められなかった。(3)中等度以上の輸血副作用を示した20例(3例の癌患者を含む)について11種類の

蛋白の欠損ならびに抗体を測定した。1 例の MAP 受血者を除き、19 例はいずれも PC 輸血例であった。検索の結果、ハプトグロビン、トランスフェリンなど 11 種類に及ぶ血漿蛋白の欠損例はなく、また抗血漿蛋白抗体も検出されず、今回検索した抗血漿蛋白抗体の輸血副作用への関与は否定的と考えられた。ただし、11 種類の血漿蛋白が輸血副作用に関与していないという事実は貴重であり、今後の検索対象とすべき血漿蛋白の範囲に制限を加えたものと考えられる。

2. 輸血関連急性肺障害 (Transfusion Related Acute Lung Injury: TRALI)

1) 輸血関連急性肺障害 (TRALI) に関する基礎的、臨床的研究

国際的診断基準に従って登録症例を、TRALI 確診例 99 例と疑診例 27 例に再分類した。発症時間について、診断基準では輸血後 6 時間以内に起こるとされているが、TRALI 確診例、疑診例とも輸血後 2 時間以内が多かった。TRALI 確診例の年齢の中央値は 66 才、男女比は 3 : 2、症状として多かったのは呼吸困難以外では発熱、低血圧、咳および喀痰であった。抗白血球抗体の内訳は 46 例中、抗 HLA 抗体単独 28 例 (60%)、抗顆粒球抗体単独 9 例 (20%) および両者合併 9 例 (20%) であった。抗白血球抗体は TRALI 確診例のドナーの 50% に認められたが、疑診例ではドナーの約 30% に留まり、やや低めであった。また、患者中では確診例の 38%、疑診例の 21% に認められた。一方、基礎的研究として TRALI の発症機序についての *in vitro* の実験系を構築した。特異性の決定している HLA class II 抗体を含む血清を、その抗原陽性の単球と肺毛細血管内皮細胞と共培養すると有意に Leukotriene B₄ の上清中への遊離が見られ、好中球の遊走を促進する可能性が示された。さらに単球表面上の接着分子 (CD11/CD18) の発現も有意に上昇し、肺毛細血管内皮細胞上の接

着分子 (VCAM-1) の発現も上昇し、相互作用の促進が伺われた。また、肺毛細血管内皮細胞の傷害は軽度であったが、一部アポトーシスが認められ、内皮細胞の脆弱化の可能性が示された。

2) 抗白血球抗体の新検出法の確立

FCM を用い、前方散乱光、側方散乱光の直線、対数表示を用いることにより、全血中の血小板、好中球、リンパ球および単球を識別することができ、さらに CD4 (T リンパ球)、CD20 (B リンパ球)、CD14 (単球) などのモノクローナル抗体を用いることにより、詳細な 5 種類の血球の識別が可能となる。一方、TRALI に密接に関連すると言われる抗白血球抗体の検出には好中球、単球のみならず T&B リンパ球や血小板に対する反応性の確認も必要となる。また、FCM による蛍光抗体法には好中球、単球のバックグラウンドの高さが問題となる。今回、間接蛍光抗体法に二次抗体として FITC-ヤギ抗 IgG を用いる新しい検出系を構築した。特異性がすでに同定されている抗白血球抗体を含む種々の血清を用いて、新検出系の有用性を検討した。その結果、本法は何れの細胞においても低バックグラウンドを実現し、FCM による抗体測定を容易とした。しかも本法では、5 系統の細胞を同時に解析することができることより、TRALI に関連する抗白血球抗体の特異性の同定に極めて有用と考えられる。今後、実際の TRALI 症例の抗白血球抗体検索における有用性が大いに期待される。

3) TRALI 診断基準としての PaO₂/FiO₂ 比および抗白血球抗体の特異性の検討

外科手術 24 例 (一般 6、心臓 18 例) を対象に術前、術後の血液ガスを測定し、P/F 比を検討した結果、術前では 2 例 (心臓のみ)、術後では 12 例 (一般 1、心臓 11 例) に TRALI の診断基準に相当する P/F 比 300mmHg 以下が認められたものの、対象例中に TRALI 症例はなく、P/F 比単独では診

断基準とはなり得ず、基本的には呼吸不全の程度を把握するための指標と考えられた。当院で手術とは関連なく TRALI が疑われた 2 症例について抗白血球抗体を検索した結果共に陰性であり、また血漿蛋白の欠損、抗血漿蛋白抗体も認められなかった。また、手術症例 24 例に関し、術前 24 検体、輸血を受けた術後 11 検体につき抗 HLA 抗体を検索した結果、術前では 2 例、術後では 1 例に検出されたが、いずれの対象症例にも呼吸機能障害は認められず、今回の調査では患者血中の、抗白血球抗体、抗 HLA 抗体と TRALI 発症との相関は認められなかった。

今回の検索により、P/F 比は術後には低下し、症例によっては 300mmHg 以下になる場合も多数あることが明らかとなった。このことより、P/F 比は呼吸不全のレベルを示す指標と考えられるが、TRALI の診断には輸血後の経過など総合的に判断することが重要と考えられる。また、抗白血球抗体は、TRALI でなくとも陽性率がある程度認められることから、診断上の意義をさらに検討する必要があると考えられた。

D. 結論

今回、輸血副作用をほぼ 100%把握していると回答した全国 216 施設および輸血副作用報告に積極的な 4 施設に対し、輸血副作用についてアンケート調査を行い、その結果を解析した。共に保存前白血球除去処理導入前後の 2 つの期間を対象とし、導入前後の差を比較した。その結果、バッグ当たりの副作用発生頻度は両調査共に 1~2%の範囲であり、その大部分が免疫学的副作用と考えられた。製剤別では、血小板製剤で 3%以上と赤血球製剤、新鮮凍結血漿の 1%前後に比べ有意に高率であった。両調査を比較すると、赤血球製剤、血小板製剤の頻度はほぼ同様であったが、新鮮凍結血漿に関しては全国調査が 4 施設に比べ半分ほどの頻度と低率であった。副作用の種類と

しては両調査共に、血小板製剤による蕁麻疹の頻度が約 3%と最も高率であり、発熱、掻痒感、発赤、悪寒などが 1%未満の頻度で認められた。血小板製剤に対する保存前白血球除去処理導入前後の副作用頻度の比較では、4 施設では有意な減少が認められたのに対し、全国では変化は認められなかった。原因として、全国調査では各施設の診療形態の特徴が、あるいは施設間の観察力の差が反映されたものか、今後、さらなる詳細な解析を要すると考えられる。また今後、全国集計を行ってゆくには施設間の観察力の差を解消するとともに、副作用種類について発熱、蕁麻疹など項目によっては、軽、中、重症など程度によって分類することも必要と考えられる。

一方、TRALI に関しては、原因究明はなかなか困難ではあるが、少しずつ成果が得られている。国際的に推奨される診断基準に従って、登録症例を TRALI 確診例と疑診例に再分類した。発症時間について診断基準では輸血後 6 時間以内に起こるとされているが、確診例、疑診例とも輸血後 2 時間以内が多かった。TRALI 確診例の年齢の中央値は 66 才、男女比は 3 : 2、呼吸困難以外の症状が多かったのは発熱、低血圧、咳および喀痰であった。抗白血球抗体の内訳は抗 HLA 抗体単独 60%、抗顆粒球抗体単独 20%および両者合併 20%であった。抗白血球抗体はドナー側では TRALI 確診例の 50%に、疑診例では約 30%に留まりやや低めであった。また、患者側では確診例の 38%、疑診例の 21%に認められた。

TRALI に密接に関連する抗白血球抗体の検出には好中球、単球のみならず T&B リンパ球や血小板に対する反応性の確認も必要であり、FCM による蛍光抗体法では好中球、単球のバックグラウンドの高さが問題となる。今回、二次抗体として FITC-ヤギ抗 IgG を用いる新しい検出系を構築した結果、何れの細胞においても低バックグラウンドを

実現し、FCMによる抗体測定を容易とした。しかも本法では、5系統の細胞を同時に解析できることから、TRALIに関連する抗白血球抗体の同定に極めて有用と考えられ、今後、TRALI症例の抗体検索における有用性が大いに期待される。

さらに、ICUにおける手術症例の検討か

ら、 PaO_2/FiO_2 比は術後には低下し、症例によっては300mmHg以下になる場合も多数あることが明らかとなった。このことより、P/F比は呼吸不全のレベルを示す指標と考えられるが、TRALIの診断には輸血後の経過など総合的に判断することが重要と考えられる。

分担研究報告書

免疫学的輸血副作用実態調査報告

分担研究者：倉田義之（大阪大学医学部附属病院輸血部）

研究要旨

輸血により各種の副作用が発生する。蕁麻疹や発熱といった免疫学的輸血副作用は日常の輸血においてしばしば経験されるが軽症のことが多いため病院輸血部門や血液センターへ報告されることなく処理されている場合が多い。そのため免疫学的輸血副作用の正確な頻度は分かっていない。

今回、当研究班では正確な免疫学的副作用頻度を把握するため昨年度の輸血副作用報告体制の全国調査で輸血副作用をほぼ 100%把握していると回答された 216 病院に免疫学的副作用の発症数の報告を依頼した。調査期間は平成 16 年 10 月と平成 17 年 10 月の各半年間とした。前半は血液センターにおける血小板製剤の保管前白血球除去の導入前、後半は導入後である。平成 17 年 11 月に上記 216 病院へアンケート調査用紙を送付し、12 月末日締め切りで 160 病院（回答率 74%）より回答を得た。

平成 16 年、17 年における総使用バッグ数は各 328,390、349,324、総副作用件数は 4,506、5,010 件であり、バッグ当たりの総頻度は各 1.37%、1.43%と算定された。各製剤別の頻度は、赤血球製剤で同様に 0.77%、0.78%、血小板製剤で 4.26%、4.17%、新鮮凍結血漿で 0.53%、0.72%であり、両期間に著名な差は認められなかった。

副作用種類別に見ると、赤血球 1 バッグ当たりの副作用頻度（平成 16 年、17 年）は発熱 0.41%、0.40%、蕁麻疹・かゆみ 0.16%、0.17%、寒気・振るえ 0.08%、0.07% などであった。血小板製剤では蕁麻疹・かゆみ 3.37%、3.33%、発熱 0.35%、0.34%、寒気・振るえ 0.13%、0.13%などであった。新鮮凍結血漿では蕁麻疹・かゆみ 0.35%、0.48%、発熱 0.09%、0.12%などであった。

副作用では血小板製剤での蕁麻疹・かゆみが最も頻度多く 3.3%であった。発熱性副作用は赤血球、血小板製剤とも 0.35% 0.41%程度であった。血小板製剤がすべて白血球除去製剤となった後も蕁麻疹や発熱などの副作用頻度に変化はなかった。

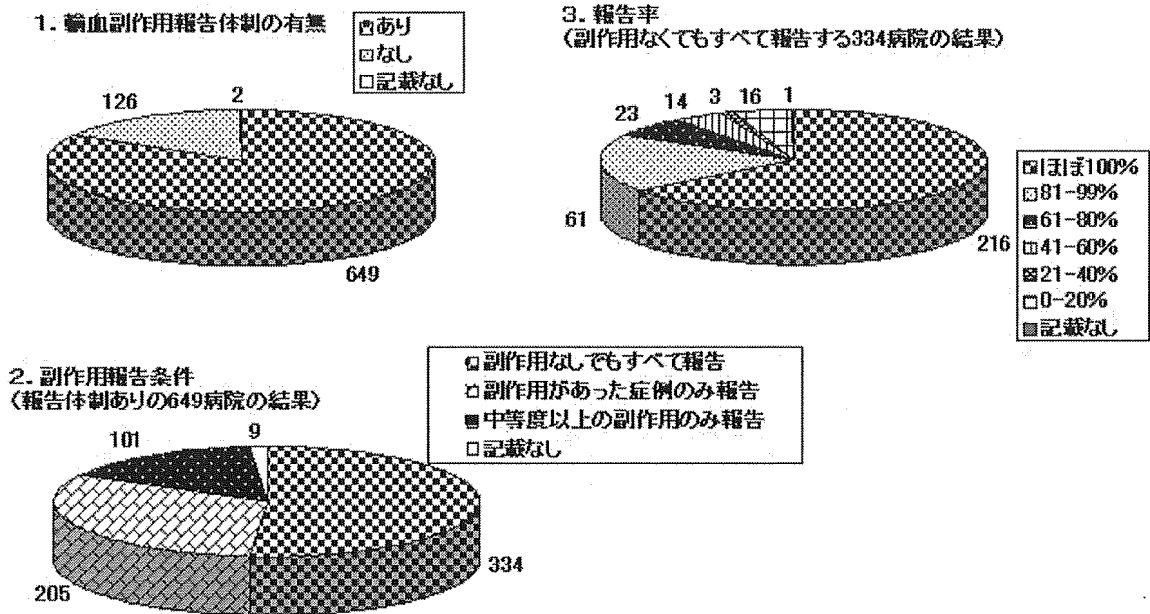
輸血副作用は溶血性副作用と非溶血性副作用に分けられる。非溶血性副作用はさらに免疫学的副作用と非免疫学的副作用に分けることができる。輸血副作用でしばしば経験される蕁麻疹や発熱といった副作用の大半は免疫学的機序が関与していると考えられている。

蕁麻疹や発熱といった副作用は日常の輸血においてしばしば経験される副作用であるが軽症のことが多いため病院輸血部門や血液センターへ報告されることなく処理されている場合が多い。そのため非溶血性輸血副作用の正確な頻度は分かっていない。

今回、当研究班では正確な免疫学的副作用頻度を把握するため昨年度の輸血副作用報告体制の全国調査¹⁾で輸血副作用をほぼ100%把握していると回答された216病院に免疫学的副作用の発症数の報告を依頼した。調査期間は平成16年1～6月(前期)と平成17年1～6月(後期)の各半年間とした。前半は血液センターにおける血小板製剤の保管前白血球除去の導入前、後半は導入後である。

1. 昨年度の調査結果

昨年度は全国の300床以上の病院1308病院に対し輸血副作用報告体制についてアンケート調査を行なった¹⁾。777病院から回答があった(回収率59.4%)。



平成16年度輸血副作用報告体制調査結果

報告体制の有無についての質問に対し報告体制ありと回答された施設が649施設であった。次いで報告体制ありと回答された649施設に対し、報告条件を質問した。副作用がなくともすべて報告があると回答された施設が334施設であった。さらにすべて報告があると回答された334施設に対し報告率を質問した。ほぼ100%報告されると回答された施設が216病院であった。

2. 今回の調査結果

今回の調査は昨年度の調査で報告率がほぼ100%であると回答された216施設に対してアンケート調査を行なった。平成17年11月にアンケート用紙を送付し、12月末日締め切りで回答を得た。回答は160病院よりあり回収率は74%であった。

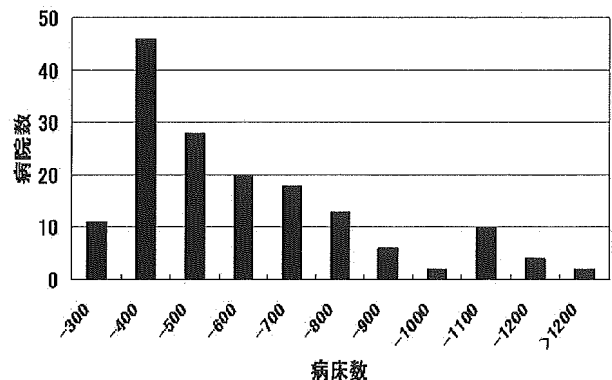


図1. 病床数の分布

1) 回答された病院のプロフィール

① 病床数

回答された病院の病床数の分布を図1に示す。今回のアンケートは300床以上の病院に対して実施したので300床未満と回答された施設は12病院にとどまった。300床～800床の中規模病院が殆どであった。

② 血液製剤使用量

各病院における調査期間の血液製剤使用量を図2に示す。使用量はバッグ数で示している。赤血球製剤は多くの病院が2000バッグ数までであった。一方、血小板製剤は500バッグまでの施設が多かった。新鮮凍結血漿は1000バッグまでの施設が大半であった。年度による差はなかった。

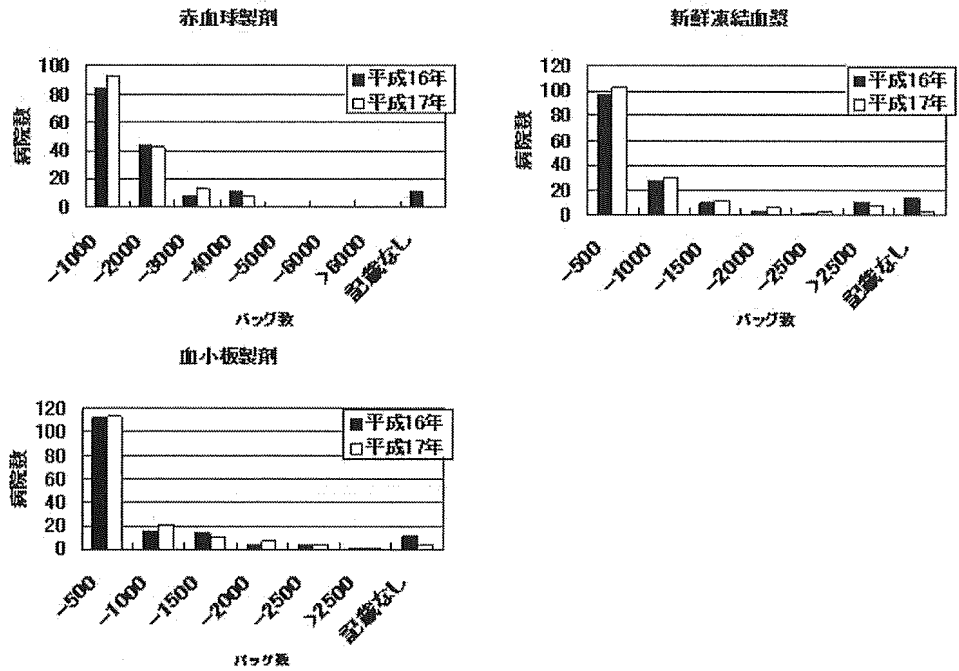


図2. 血液製剤使用量

③ 1病床あたりの手術件数

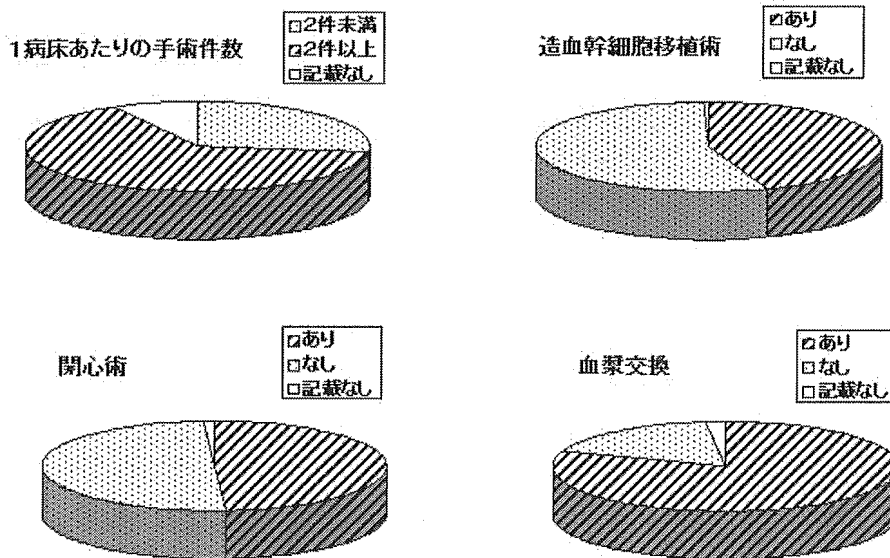


図3. 実施している高度医療

1病床あたりの手術件数を図3に示す。多くの病院が年間の手術件数が1病床あたり 2 件以上との回答であった。

- ④ 開心術実施の有無:約半数の施設が開心術を施行しているとの回答であった(図3参照)。
- ⑤ 造血幹細胞移植実施の有無:造血幹細胞移植も約半数施設で実施されていた(図3参照)。
- ⑥ 血漿交換実施の有無:血漿交換は大半の 129 施設で実施されていた(図3参照)。

2)免疫学的副作用頻度

①平成 16 年 1～6 月の期間

調査前期の平成 16 年 1～6 月の輸血バッグ数は赤血球製剤が 176,017、血小板製剤が 61,758、新鮮凍結血漿が 90,615 であり、計 328,390 バッグであった。総副作用件数は 4,506 件であり、バッグ当たりの頻度は 1.37%と算定された。各製剤別の頻度は、赤血球製剤で 0.77%、血小板製剤で 4.26%、新鮮凍結血漿で 0.53%であった。

各製剤による副作用種類別の頻度を図4に示す。頻度は1バッグ当たりで示している。免疫学的副作用では血小板輸血による蕁麻疹・掻痒感がもっとも頻度が高く、2,083 件(3.37%)であった。蕁麻疹・掻痒感に次いで多い副作用は発熱で赤血球製剤で 719 件(0.41%)、血小板製剤で 218 件(0.35%)であった。そのほか蕁麻疹・掻痒感が新鮮凍結血漿で 315 件(0.35%)、赤血球製剤で 273 件(0.16%)であった。

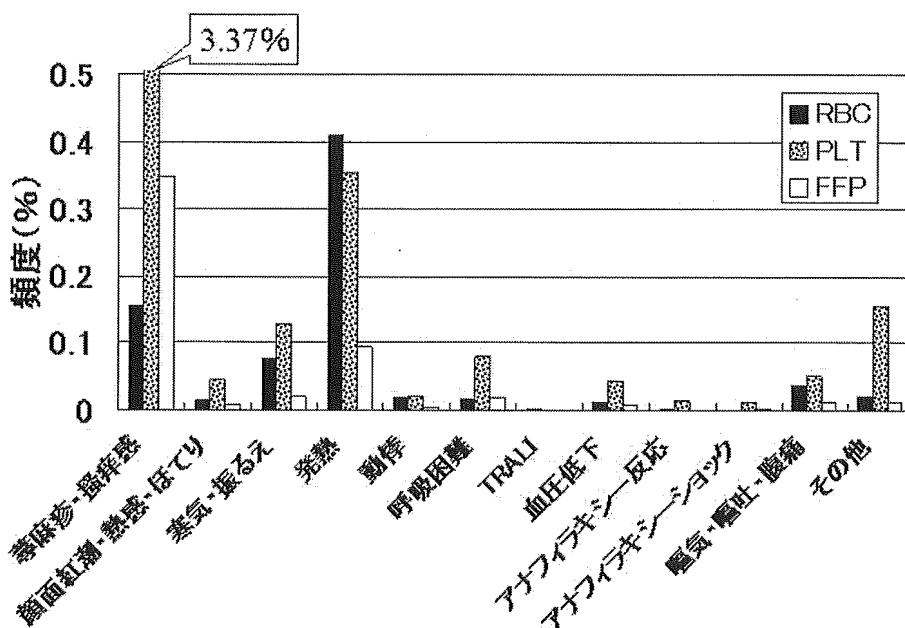


図4. 平成16年1-6月副作用集計

② 平成 17 年 1～6 月の期間

調査後期の平成 17 年 1～6 月の輸血バッグ数は赤血球製剤が 189,496、血小板製剤が 67,983、新鮮凍結血漿が 91,845 であり、計 349,324 バッグであった。総副作用件数は 5,010 件であり、バッグ当たりの頻度は 1.43%と算定された。各製剤別の頻度は、赤血球製剤で 0.78%、血小板製剤で 4.17%、新鮮凍結血漿で 0.72%であった。調査後期の免疫学的副作用頻度を図5に示す。各種副作用頻度はほぼ平成 16 年と同じであった。

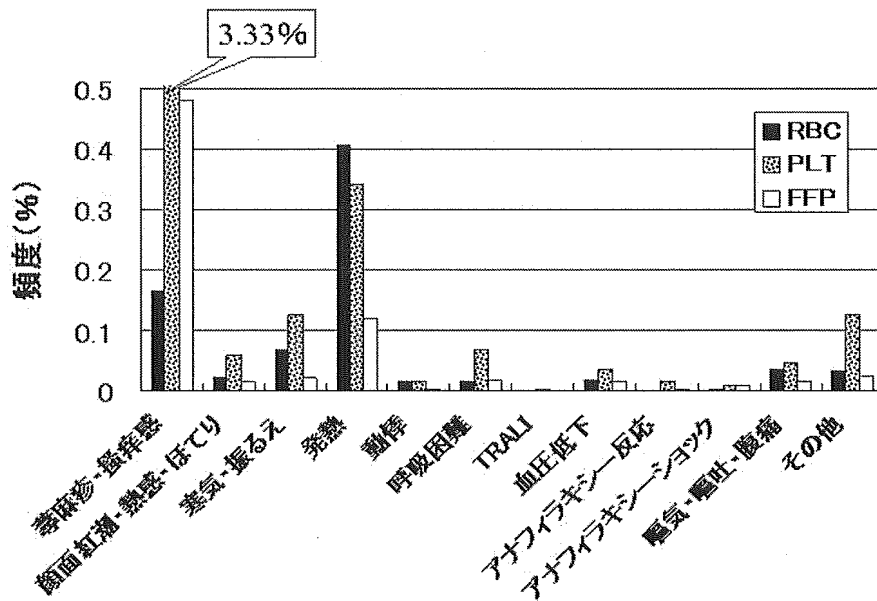


図5. 平成17年1-6月副作用集計

3) 白血球除去血小板製剤供給前後での免疫学的副作用頻度の比較

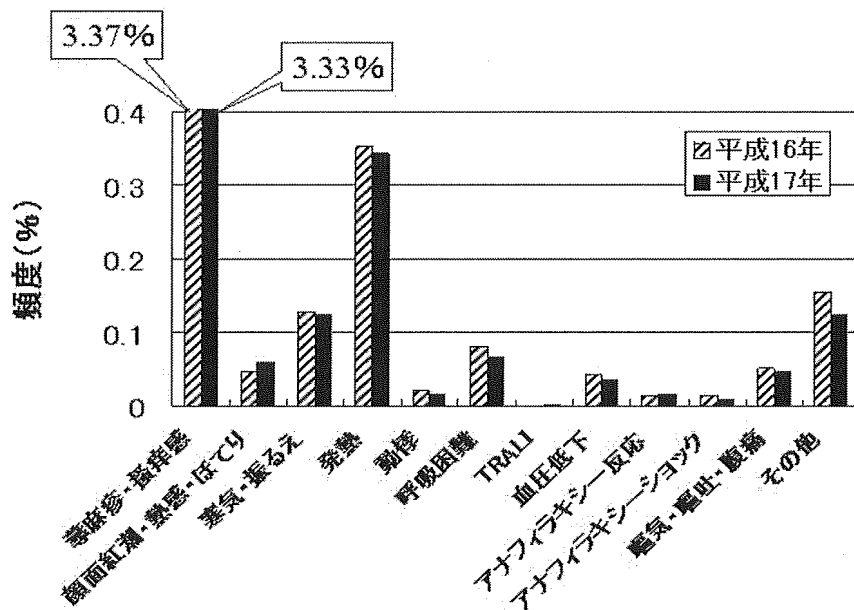


図6. 血小板製剤白血球除去前後の副作用頻度

平成16年10月より血液センターから納入される血小板製剤はすべて保管前白血球除去が実施されるようになった。輸血による発熱性副作用は血小板製剤に混入している白血球が原因であると考えられている。保管前に白血球除去をすることにより発熱性副作用頻度の低下が期待される。今回の調査で白血球除去が実施される前と実施後で副作用頻度に変化がみられるか検討した。

図6に平成16年と17年での血小板製剤による輸血副作用頻度を比較した成績を示す。

白血球除去実施前後で発熱性副作用を含めすべての副作用で発生頻度に差を認めなかった。

3. 考察

今回、調査対象とした施設は平成 17 年度の調査¹⁾ですべての輸血副作用を把握していると回答された 216 施設である。病院の規模は中規模の施設が殆どで、開心術や造血幹細胞移植、血漿交換などを実施している地域の中核病院であると考えられる。

平成 17 年度の調査で多くの施設が輸血副作用報告体制をもっていることが分かった。しかしながら副作用がなくても報告すると回答された施設は 51%にとどまっていた。副作用報告は副作用がある症例のみ、あるいは中等度以上の副作用症例のみとする施設が 47%あった。副作用がなくても報告すると回答した施設は副作用の把握が確実にに行われている施設であろうと推測された。それで今回の検討では副作用がなくてもすべて報告するとした施設で、さらに報告率 100%とした施設に限定して調査を依頼した。回答率は 74%であった。

輸血副作用頻度を正確に把握し、報告している成績は少ない²⁾。日本赤十字血液センターから報告されている輸血副作用頻度にはバイアスがかかっており、多くの場合、中等度以上の副作用に限られている。そのため発熱反応や蕁麻疹といった軽度の副作用は過少に報告されていると思われる。今回のように多数の施設(160 施設)からの報告、それも副作用をほぼ 100%掌握されている施設からの成績を集計した報告は初めてであり、非溶血性輸血副作用頻度を検討するうえで非常に貴重な成績であると思われる。

免疫学的輸血副作用のうちで非溶血性発熱反応は製剤中に残存している白血球が原因と考えられている³⁾。製剤保存中に白血球がサイトカイン(IL-1 β 、IL-6、TNF α など)を産生し、血漿へ放出するため製剤上清中にサイトカインが蓄積され、その製剤を輸血すると発熱するとされている。そのため採血後すぐに白血球除去(保存前白血球除去)をしておくことで発熱性副作用は防げるのではないかと考えられる。わが国において平成 16 年 10 月より血小板製剤がすべて保存前白血球除去製剤となったため今回の検討ではその前後で非溶血性の輸血副作用の頻度を比較した。しかしながら図6に示すように白血球除去製剤導入前後で発熱性副作用を含めてすべての非溶血性副作用で発生頻度に差を認めなかった。差を認めなかった一因は発熱などを引き起こすサイトカインの蓄積は採血後5日以後である³⁾とされている点である。わが国のように血小板製剤の有効期限が採血後 72 時間の場合にはサイトカインの蓄積は問題にならないと考えられる。もう一つの理由は白血球除去血小板製剤が導入される前から各医療機関ですでにベッドサイドで白血球除去が実施されていたためではないかと考えられる。今回の調査では白血球除去製剤導入前にベッドサイドで白血球除去をしていたか否かの調査をしていないので正確には不明であるが多くの施設ではベッドサイドで白血球除去をしていたと推測される。Kluter ら⁴⁾も血小板製剤をベッドサイドで白血球除去していた時期と保存前白血球除去した時期での非溶血性輸血副作用頻度を比較しているが差はなかったと報告している(44/2,705 vs 46/2,947)。副作用別の比較でもアレルギー反応では 25 件 vs 15 件(p=0.06)、発熱反応は 11 件 vs 12 件であったとし、差はなかったと報告している。赤血球製剤の輸血においても保存前白血球除去が導入されても非溶血性輸血副作用(発熱反応およびアレルギー反応)に差はなかったとの報告がある⁵⁾。一方、白血球除去されていない血小板製剤と保存前白血球除去製剤で非溶血性輸血副作用を比較した成績⁶⁾では保存前白血球除去により発熱性副作用は有意に低下、蕁麻疹は差がなかったとしている。

文献

1. 倉田義之:輸血副作用報告体制アンケート調査結果。免疫学的輸血副作用の実態把握とその対応に関する研究。平成 16 年度報告書。P6-24, 2005.
2. 清川知子、林 悟、青地 寛、永峰啓丞、押田眞知子、富山佳昭、倉田義之:患者へのインタビューによる輸血副作用の実態調査および副作用発生に關与する因子解析。日輸血会誌、42; 16-22, 1996.
3. Muylle L, Joos M, Wouters E, De Bock R, Peetermans ME: Increased tumor necrosis factor α (TNF α), interleukin 1, and interleukin 6 (IL-6) levels in the plasma of stored platelet concentrates: relationship between TNF α and IL-6 levels and febrile transfusion reactions. *Transfusion*, 33; 195-199, 1993.
4. Kluter H, Bubel S, Kirchner H, Wilhelm D: Febrile and allergic transfusion reactions after the transfusion of white cell-poor platelet preparations. *Transfusion*, 39; 1179-1184, 1999.
5. Elizabeth EJ, Isgriggs E, Wallhermfecht M, Goodnough LT: Prestorage universal WBC reduction of RBC units does not affect the incidence of transfusion reactions. *Transfusion*, 41; 997-1000, 2001.
6. Patterson BJ, Freedman J, Blanchette V, et al: Effect of premedication guidelines and leukoreduction on the rate of febrile nonhemolytic platelet transfusion reactions. *Transf Med*, 10; 199-206, 2000.