

## 調査研究協力への同意書

私は調査研究の内容をお聞きし、十分理解納得しました。  
調査研究の意義も利益もまた不利益も十分理解しました。  
この調査研究に参加することに同意致します。

患者様署名： \_\_\_\_\_

平成      年      月      日

代諾者の場合、

患者様の氏名 \_\_\_\_\_ 続柄 \_\_\_\_\_

住所 \_\_\_\_\_

電話 \_\_\_\_\_

説明者の氏名 \_\_\_\_\_ 印

説明者の職名 \_\_\_\_\_

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
<u>浜口功</u>	細胞療法・再生医療の安全性	山口一成	医学のあゆみ	医歯薬出版	東京	2006	657-662

### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<u>下平滋隆、藤井康彦、他</u>	全国国立大学附属病院における輸血副作用調査体制 - 輸血副作用の原因製剤回収・保管についての調査報告	日本輸血細胞治療学会誌	52	711-716	2006
<u>藤井康彦、下平滋隆、他</u>	全国国立大学附属病院輸血部会議副作用ワーキング報告-呼吸不全を認めた輸血副作用症例の解析-輸血関連急性肺障害 (TRALI) について	日本輸血細胞治療学会誌、	53	28-32	2007
<u>Hamaguchi I, Morisada T, Azuma M, Murakami K, Kuramitsu M, Mizukami T, Ohbo K, Yamaguchi K, Oike Y, Dumont DJ, Suda T</u>	Loss of Tie2 receptor compromises embryonic stem cell-derived endothelial but not hematopoietic cell survival	Blood	107	1207-1213	2006
<u>Maekawa, T.</u>	How to comply with cGMP during early phase of translational cell therapy at academia	Clin Eval	33(3)	569-578	2006
<u>Katagiri T, Shiobara S, Nakao S, et al.</u>	Mismatch of minor histocompatibility antigen contributes to a graft-versus-leukemia effect rather than to acute GVHD, resulting in long-term survival after HLA-identical stem cell transplantation in Japan	Bone Marrow Transplant	38	681-686	2006

## 呼吸不全を認めた輸血副作用症例の解析

藤井 康彦<sup>1)</sup> 下平 滋隆<sup>2)</sup> 面川 進<sup>3)</sup> 池田 和真<sup>4)</sup> 田嶋 克史<sup>5)</sup>  
浅井 隆善<sup>6)\*</sup> 梶原 道子<sup>7)</sup> 佐久川 廣<sup>8)</sup> 米村 雄士<sup>9)</sup> 高松 純樹<sup>10)</sup>

全国国立大学附属病院輸血部会議では、毎年各施設で発生した輸血副作用の集計を行ってきたが、輸血関連急性肺障害(Transfusion-related acute lung injury, TRALI)の統一した診断基準が、2004年に開催されたTRALI Consensus Conferenceにおいて提唱されたため、呼吸不全を認めた過去の輸血副作用症例の再解析を行った。

平成10年度から平成15年度に44施設より報告された呼吸不全を認めた輸血副作用症例は34例であった。提唱された診断基準で、8例がTRALI(確診例)、3例がpossible TRALI(可能性例)と診断された。抗白血球抗体を診断基準に適合する11症中7例(63%)に認められたが、抗HLA-classII抗体検査が実施された症例は3例のみであった。なお、1例は輸血前に急性肺障害(Acute lung injury, ALI)を認めたこと、22例は肺野透過性の低下を認めなかったことにより、診断基準に適合しなかった。両肺野透過性低下を認めなかった22症例は、TRALIに近い病態が疑われる症例から、蕁麻疹などの症状を認めアレルギー反応と思われる症例などが含まれた。TRALIによる4例の死亡例を認め、TRALIは、調査期間内において、輸血副作用による死亡の原因の第一位であった。

キーワード：輸血関連急性肺障害、輸血副作用、呼吸不全、抗白血球抗体、非心原性の肺水腫

### はじめに

日常的に遭遇する非溶血性輸血副作用は、原因が特定されない場合が多いが、輸血部業務としてすべてに対応する必要がある。このため、毎年各施設で発生した輸血副作用の集計と副作用発生症例のフォローアップを行い、輸血副作用発生時に臨床的対応を行う場合の参考としてきた<sup>1)</sup>。しかし、呼吸困難を認めた症例では、その対応を検討することが困難であった。これは、輸血後数時間以内に非心原性の肺水腫による呼吸困難を呈し、輸血による主要な死亡原因として報告されている輸血関連急性肺障害(Transfusion-related acute lung injury, TRALI)の診断基準がなかったことがその大きな要因であった<sup>2)-7)</sup>。2004年にTRALI Consensus Conference<sup>8)</sup>が開催され、統一した診断基準が提唱されたため、呼吸不全を認めた過去の輸血副作用症例について再解析を行った。

対象、方法

### 対象、方法

平成10年度から平成15年度に全国国立大学医学部附属病院および防衛医科大学附属病院の44施設より原因製剤を確保し報告された重症非溶血性副作用例は59例であった。これらの副作用例中、以下に示す症例選択基準に合致する34例を対象とした。症例選択基準は、①呼吸不全(頻脈、息切れ、努力性呼吸、チアノーゼ)が主症状であること、②酸素飽和度の低下がパルスオキシメーター、動脈ガス測定で定量されたこと、③呼

- 1) 山口大学医学部附属病院輸血部
- 2) 信州大学医学部附属病院輸血部
- 3) 秋田大学医学部附属病院輸血部
- 4) 岡山大学医学部附属病院輸血部
- 5) 山形大学医学部附属病院輸血部
- 6) 千葉大学医学部附属病院輸血部
- 7) 東京医科歯科大医学部附属病院輸血部
- 8) 琉球大学医学部附属病院輸血部
- 9) 熊本大学医学部附属病院輸血部
- 10) 名古屋大学医学部附属病院輸血部

\*現 静岡赤十字血液センター

〔受付日：2006年5月16日、受理日：2006年7月24日〕

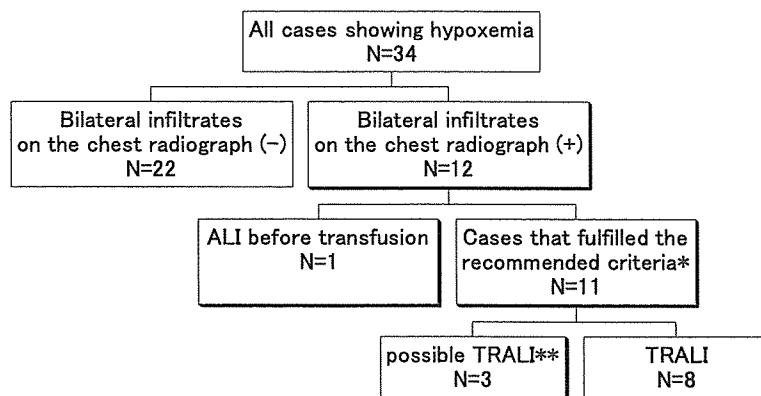


Fig. 1 All cases showing hypoxemia

\* TRALI consensus conference recommended criteria

\*\* Risk factor for ALI was present: Cardiopulmonary bypass (1), Pneumonia (2)

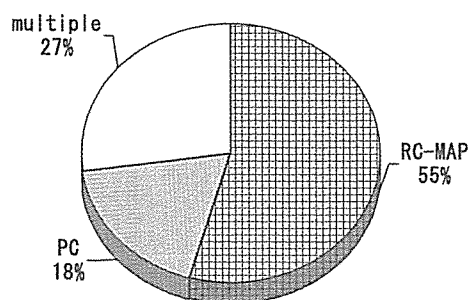


Fig. 2 Blood components associated with TRALI and possible TRALI

吸困難の程度は医学的処置を必要とすること, ④輸血開始後 24 時間以内の発症であること, ⑤肺障害がその他の臨床的な原因 (循環負荷, アレルギー症状, 敗血症) のみで説明できないことのすべてを満たすこととした。対象症例の原疾患は, 血液疾患 19 例, 固形腫瘍 11 例, その他 4 例であり, 各症例の臨床経過の追跡は各大学医学部附属病院輸血部が担当し, 症例の収集とデータ解析を全国国立大学医学部附属病院輸血部会議副作用ワーキングが担当した。患者血中および原因製剤中の抗血漿蛋白抗体, 抗 HLA 抗体, 抗顆粒球抗体, 抗血小板抗体等の検査は各大学附属病院輸血部より, 赤十字血液センターに副作用調査として依頼を行い, 結果を副作用ワーキングで解析した。

新たに提唱された診断基準<sup>9)</sup>に基づき, TRALI(確定診断例)の診断は「a. 急性肺障害 i. 急激な発症, ii. 低酸素血症 ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  (動脈血酸素分圧と吸入酸素濃度の比)  $\leq 300\text{mmHg}$ , or  $\text{SpO}_2$  (経皮的動脈血酸素飽和度)  $< 90\%$  on room air), iii. 胸部 X 線で両側肺浸潤影, iv. 循環負荷などは認めない, b. 輸血前に急性肺障害を認めない, c. 輸血中または輸血後 6 時間以内の発症, d. 急性肺障害に関連する危険因子を認めない」とし, possible TRALI (可能性例) の診断は同様に, 「a. 急

性肺障害, b. 輸血前に急性肺障害を認めない, c. 輸血中または輸血後 6 時間以内の発症, d. 急性肺障害に関連する危険因子を認める」とした。同期間に報告された輸血副作用による死亡例は 8 例であり, 副作用ワーキングで同様に解析をおこなった。

## 結 果

新たに提唱された TRALI の診断基準<sup>9)</sup>では, 他の急性肺障害 (Acute lung injury, ALI) の危険因子を認める症例を「possible TRALI」とし, 危険因子を認めない「TRALI」と区別しているが, この診断基準では, 34 例中 8 例が「TRALI」, 3 例が「possible TRALI」と診断された。なお, 1 例は輸血前に ALI を認めたこと, 22 例は肺野透過性の低下を認めなかったことにより, 診断基準に適合しなかった (図 1)。

「TRALI」と「possible TRALI」診断基準に適合する症例では, 発熱 ( $2^\circ\text{C}$  以上の体温上昇) を認めた症例はなく, 1 例で血圧低下, 2 例で血圧上昇を認めた。これら, 11 症例での原因製剤は 55% が赤血球 MAP 製剤 (RC-MAP), 18% が濃厚血小板製剤 (PC) であり, 27% では 2 種類以上の製剤が輸血された (図 2)。原疾患は, 血液疾患 4 例, 固形腫瘍 4 例, その他 3 例であった。

表 1 に示した種類の抗白血球抗体が, これら 11 症例中, 4 例で原因製剤中から, 3 例では, 患者血中から検出された。なお, 抗 HLA class II 抗体が検索されたのは 4 例のみであった。白血球除去フィルターは, 患者血中から抗白血球抗体が検出された 3 症例では使用されていなかった。

症例 1 および症例 2 では, TRALI から回復後に実施された輸血により再度 TRALI を発症した。2 症例ともに, 最初に TRALI を発症した原因製剤からは, 抗白血球抗体が検出されたが, 2 回目に TRALI を発症した製

Table 1 Anti-leukocyte antibodies in patient sera and components associated with transfusion reactions

Case	Blood components	Leukocyte-reduction filter	Antibodies in components	Antibodies in patient sera
1	RC-MAP2	(+)	Anti-granulocyte antibody	(-)
2	PC10	(+)	Anti-granulocyte antibody + Anti-HLA antibody	(-)
3	RC-MAP2	(+)	Anti-HLA class II antibody	(-)
4*	RC-MAP2	(-)	Anti-HLA class II antibody	(-)
5	RC-MAP2	(-)	(-)	Anti-HLA antibody
6	RC-MAP2	(-)	(-)	Anti-granulocyte antibody + Anti-HLA antibody
7*	RC-MAP2	(-)	(-)	Anti-HLA antibody

Seven samples in which the anti-leukocyte antibody was detected out of 11 cases that fulfilled the diagnosis standard are shown.

\* Possible TRALI

Table 2 Recurrent TRALI

Case	Order	Blood components	Antibodies in components	Result
1	First	RC-MAP	Anti-granulocyte antibody	Recovery
	Second	PC	(-)	Death
2	First	PC	Anti-granulocyte antibody + Anti-HLA antibody	Recovery
	Second	PC	(-)	Recovery

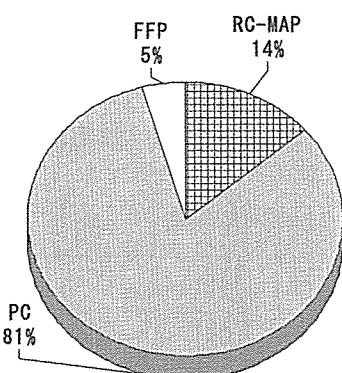


Fig. 3 Blood components associated with hypoxemia with no bilateral infiltrates on the chest radiograph

剤からは、抗白血球抗体は検出されなかった(表2)。

呼吸困難、酸素飽和度の低下を認めるが、両肺野の浸潤影が確認できなかった症例が22例あった。5例(23%)では胸部X線撮影が行われたが、両肺野の浸潤影を認めず、その他の症例では胸部X線撮影が行われなかった。これらの症例の中、皮疹を認めた症例が8例(36%)あり、発熱(2℃以上の体温上昇)を3例(17%)で、血圧低下を10例(45%)で、血圧上昇を6例(27%)で認めた。

これらの両肺野の浸潤影を認めない22例での原因製剤は濃厚血小板製剤(PC)が81%、赤血球製剤(RC-MAP)が14%、新鮮凍結血漿(FFP)が5%であった(図3)。原疾患は、血液疾患16例、固形腫瘍5例、その他1例であった。

両肺野の浸潤影を認めない22例中、表3に示した種類の抗白血球抗体が、5例では製剤中から、6例では患者血中から検出された。なお、抗HLA classII抗体が検索されたのは3例のみであった。また、これらの症例では蛋白血漿に対する抗体を4例、抗Latex抗体を1例で、トリプターゼの上昇を1例で認めた。製剤中にPropionibacterium acnes (P. acnes)を1例で認めた。

今回の調査期間中に8例に輸血副作用による死亡が報告された(図4)。これらの症例中4例は、呼吸困難症例の解析の対象となった症例であり、TRALIの診断基準に適合していた。

### 考 察

TRALIは、輸血から1~6時間後に発症し、激しい呼吸困難を呈する<sup>1)~6)</sup>。英国でSHOTシステムを通じて報告された輸血による死亡の原因の第一位はTRALIであり、第二位がABO不適合輸血であった<sup>7)</sup>。これは、我々の調査結果と一致しており、国内においても英国と同様な状況があり、TRALIの対策がABO不適合輸血の対策と同様に、緊急の課題であることを示している。しかし、これまで広く受け入れられたTRALIの診断基準がなく、頻度や病因も不明確である。また、TRALI以外の種々の輸血副作用によっても、呼吸困難を認める。TRALIによる死亡が多いことから、副作用発生時に他の輸血副作用と鑑別診断を行うことは、その後の患者管理や治療上重要である。しかし、これまで、その診断基準が明確でなかったため、臨床的診断を発症

Table 3 Antibodies in the sera of patients who showed signs of hypoxemia without bilateral infiltrates on the chest radiograph and antibodies in the components associated with transfusion reactions

Case	Blood components	Antibodies in components	Antibodies in sera of patients
1	RC-MAP2	Anti-granulocyte antibody	
2	FFP	Anti-granulocyte antibody	
3	PC10	Anti-HLA antibody	
4	PC10	Anti-HLA antibody	Anti-C9 antibody
5	PC10	Anti-HLA antibody	$\alpha$ 2 macroglobulin antibody
6	HLA-PC10		Anti-HLA antibody, anti-C9 antibody
7	PC10		Ceruloplasmin antibody
8	PC10		Latex antibody
9	PC10		An increase in the tryptase value
10	PC10		Anti-HLA antibody
11	PC10		Anti-HLA antibody
12	PC10		Anti-HLA antibody
13	PC10		Anti-granulocyte antibody
14	PC10	Propionibacterium acnes	Anti-HLA antibody

14/22 examples in which the anti-leukocyte antibody or other retrieval results were positive are shown.

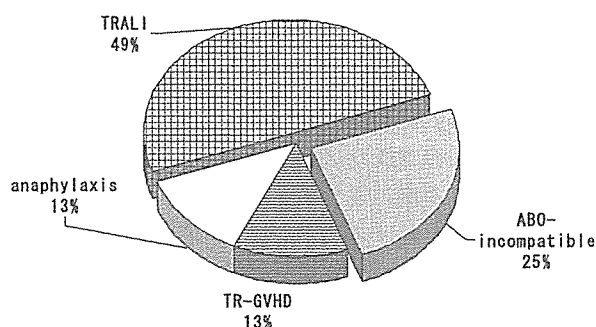


Fig. 4 Transfusion-related mortality (according to the type of hazard) reported from 1999 to 2003

時に行うことは、極めて困難であった。

このような状況において、カナダのトロントで2004年に開催された TRALI Consensus Conference で提唱された TRALI 診断基準<sup>8)</sup>は、1992年の American-European Consensus Conference (AECC) において Acute respiratory distress syndrome (ARDS) の軽症例を含めて全体を ALI として包括的に定義した ALI の診断基準に準拠している<sup>9)~12)</sup>。TRALI を輸血中もしくは、輸血後6時間以内に新たに発生した ALI と定義することが提唱されており、この定義では、TRALI は、単一の原因による疾患というより、むしろ臨床的な症候群と考えられる。また診断基準は臨床所見から診断を行うものであり、抗顆粒球抗体や抗 HLA 抗体などの特定の検体検査やこれまで提案された病因を考慮したものではない。

今回、TRALI の診断基準が提案されたことから過去5年間に国立大学病院輸血部会議副作用ワーキングにおいて、収集を行った副作用例の再解析を行ったが、い

くつかの問題点が明らかになった。

この診断基準では、病因の解析やドナーのマネージメント上の観点から肺炎や重症敗血症などの ALI の危険因子を認める症例を possible TRALI として、TRALI と区別して分類しているが、逆に、ALI の危険因子を持つ患者では、TRALI の発生に注意が必要とも考えられる。また、診断基準上、先行する ALI を持つ患者が輸血後にさらに呼吸状態が悪化した場合は、除外されるが、逆に、ALI の患者では輸血による呼吸状態の悪化に注意が必要とも解釈できる。

低酸素血症の診断基準としては、 $PaO_2/FiO_2 \leq 300$  mmHg、または  $SpO_2 < 90\%$  on room air とされているため、TRALI の診断基準に満たない中等症例が除外される問題がある。輸血前から輸血後への  $SpO_2$  の変化が確認できれば、このような症例での病態の解明に有用と思われるが、輸血前に  $SpO_2$  が測定されている症例は少ない。 $SpO_2$  測定機器の低価格化に伴い、一般病院にも普及してきており、輸血実施手順に輸血前の  $SpO_2$  測定の項目を追加することが望ましいと考えられる。

また、低酸素血症を認める症例でも胸部 X 線撮影が実施されていない症例があり、診断基準にある「両肺野の透過性の低下」が不明の症例がある。このような症例では臨床症状が比較的速やかに改善したために胸部 X 線撮影が実施されなかったと推測される。

また、診断基準上は循環負荷のある症例は除外されるが、TRALI の病態が循環負荷のある症例に合併する可能性があることは、2004年の TRALI Consensus Conference の報告<sup>8)</sup>でも指摘されており、このような症例では、循環負荷の適切な治療を行い、再度診断を行うべきとしている。以上のような理由から、循環負荷が

ないことの証明も含めて、TRALIの臨床診断を行うためには速やかに胸部X線撮影を行うべきと考えられる。

発症時間については輸血中もしくは、輸血後6時間以内の発症とされている。根拠としては英国のSerious Hazard of Transfusion (SHOT)へのTRALI疑い症例の報告では輸血後24時間以内の基準で集計した症例中、輸血後6時間以降に症状が始まったのは、9%程度であったことが示されている<sup>7)</sup>。しかし、夜間などで、初発症状が軽度な場合は、医療スタッフが気づくのが、遅れる可能性があり、輸血部門の対応としては、発症が輸血後24時間以内の症例まで、TRALIの病態を念頭において、対応すべきと思われる。

TRALIの頻度に関しては国立大学附属病院全体の輸血患者数は約4万人/年と推定され、約2万人の輸血患者あたり1人発生していると概算された。我々の自発的な副作用調査結果を収集する方法では真の発生頻度より少ない頻度を算出しているものと思われる。また、死亡率についてはこれまでの報告<sup>2)~7)</sup>では5~10%と報告されているが、今回の調査では18% (2/11)であった。今後提唱された診断基準による頻度、死亡率等が確定されると期待される。

病因については、抗HLA抗体、抗顆粒球抗体と白血球との抗原抗体反応が原因と推測されているが、詳細は不明であり、好中球が活性化される患者側の要因や、両者の協同作用を重視する説など様々な説明がなされている<sup>2)13)~18)</sup>。多くの場合は輸血用血液に抗白血球抗体が検出されるが、患者血中に検出される場合もある。抗HLA抗体についてはclass I抗体だけでなく、class II抗体<sup>16)</sup>の重要性が指摘されているが、今回の検討ではclass II抗体が測定された症例が少ないために、十分な検討ができなかった。

呼吸困難、酸素飽和度の低下を認めるが、両肺野の浸潤影が確認できなかった症例が22例あった。これらの症例中には、TRALIの診断基準を満たさないが、同様の病態を示すと思われる中等症例や、アレルギー反応<sup>19)20)</sup>、細菌感染症<sup>21)22)</sup>が疑われる症例が含まれており、鑑別診断上注意が必要と考えられる。

今回の調査で特に注目されるのは、抗顆粒球抗体を含む製剤によりTRALIを発症した後に抗体を含まない製剤により再度TRALIを発症した2症例である。文献的に同様な症例がRecurrent TRALI<sup>23)</sup>として既に報告されており、この2症例に酷似している。TRALIを発症した後に、輸血を実施する場合は、呼吸状態が再び悪化する可能性があり、注意が必要と考えられる。現状では、これまで報告された病因論から考えて、白血球除去を行った洗浄製剤を選択するのが適当と考えられる。

今後、TRALIの対策としては、医療施設側で、TRALI

症例を確実に診断し、原因製剤を確保し、赤十字血液センターに調査依頼を行うことが重要である。また、今回提唱された診断基準でTRALIと診断された症例の原因製剤と、同一ドナーから採血された製剤の輸血を受けた患者の臨床データを各施設から提供を受け解析ができるような制度上の整備が急務である。

本報告の内容は第53回日本輸血学会総会(2005年5月東京)にて発表を行った。

本研究の一部は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、輸血用血液及び細胞療法安全性に関する研究」により行われた。

謝辞：副作用症例の原因検索にご協力いただきました赤十字血液センターの方々および輸血副作用症例の臨床データを提供いただきました各国立大学医学附属病院輸血部の方々に深謝いたします。

症例データ提供施設

平成10年度症例データ提供

池田和真(岡山大学), 中田智恵子・高松純樹(名古屋大学), 樋口清博(富山医薬大)

平成11年度症例データ提供

松井良樹(筑波大学), 曾根伸治・柴田洋一(東京大学), 山口一成(熊本大学), 池田和真(岡山大学), 柏井三郎・伊藤和彦(京都大学)

平成12年度症例データ提供

面川進(秋田大学), 藤井輝久・高田昇(広島大学), 藤井康彦(山口大学)

平成13年度症例データ提供

浅井隆善(千葉大学), 田嶋克史(山形大学)

平成14年度症例データ提供

浦崎芳正(福井大学), 布施一郎(新潟大学), 下平滋隆(信州大学), 田嶋克史(山形大学), 佐久川廣(琉球大学), 大塚節子(岐阜大学)

平成15年度症例データ提供

藤井康彦(山口大), 下平滋隆(信州大), 梶原道子(東京医科歯科大), 佐久川廣(琉球大), 羽藤高明(愛媛大), 能登谷武, 面川進(秋田大), 原田美保, 米村雄士(熊本大)

## 文 献

- 1) 藤井康彦, 浅井隆善, 松井良樹, 他: 非溶血性輸血副作用の臨床経過. 日本輸血学会雑誌, 49: 553—558, 2003.
- 2) Popovsky MA, Moore SB: Diagnosis and pathogenic considerations in transfusion-related lung injury. Transfusion, 25: 573—577, 1985.
- 3) Popovsky MA, Chaplin HC Jr, Moore SB: Transfusion-related acute lung injury, a neglected, serious complication of hemotherapy. Transfusion, 32: 589—592, 1992.
- 4) Kopko PM, Holland PV: Transfusion-related acute lung injury. Br J Haematol, 105: 322—329, 1999.

- 5) Holness L, Knippen MA, Simmons L, et al: Fatalities caused by TRALI. *Transfus Med Rev*, 18: 184—188, 2004.
- 6) Bux J: Transfusion-related acute lung injury (TRALI): a serious adverse event of blood transfusion. *Vox Sang*, 89: 1—10, 2005.
- 7) Serious Hazards of Transfusion (SHOT): Additional Cumulative Data 1996-2003. <http://www.shotuk.org> (2006年5月現在)
- 8) Kleinman S, Caulfield T, Chan P, et al: Toward an understanding of transfusion-related acute lung injury: statement of a consensus panel. *Transfusion*, 44: 1774—1789, 2004.
- 9) Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, et al: The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med*, 149: 818—824, 1994.
- 10) Garber BG, Heber PC, Yelle JD, et al: Adult respiratory distress syndrome: a systematic overview of incidence and risk factors. *Crit Care Med*, 24: 687—695, 1996.
- 11) Ferguson ND, Meade MO, Hallett DC, et al: High values of the pulmonary artery wedge pressure in patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med*, 28: 1073—1077, 2002.
- 12) Meade MO, Cook RJ, Guyatt GH, et al: Interobserver variation in interpreting chest radiographs for the diagnosis of acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 161: 85—90, 2000.
- 13) Davoren A, Curtis BR, Shulman IA, et al: TRALI due to granulocyte-agglutinating human neutrophil antigen-3a (5b) alloantibodies in donor plasma: a report of 2 fatalities. *Transfusion*, 43: 641—645, 2003.
- 14) Palfi M, Berg S, Ernerudh J, et al: A randomized controlled trial of transfusion-related acute lung injury: is plasma from multiparous blood donors dangerous? *Transfusion*, 41: 317—322, 2001.
- 15) Kopko PM, Marshall CS, MacKenzie MR, et al: Transfusion-related acute lung injury: report of a clinical look-back investigation. *JAMA*, 287 (15): 1968—1971, 2002.
- 16) Kao GS, Wood IG, Dorfman DM, et al: Investigations into the role of anti-HLA class II antibodies in TRALI. *Transfusion*, 43: 185—191, 2003.
- 17) Kopko PM, Paglieroni TG, Popovsky MA, et al: TRALI: correlation of antigen-antibody and monocyte activation in donor-recipient pairs. *Transfusion*, 43: 177—184, 2003.
- 18) Silliman CC, Paterson AJ, Dickey WO, et al: The association of biologically active lipids with the development of transfusion-related acute lung injury: a retrospective study. *Transfusion*, 37: 719—726, 1997.
- 19) Greeberger PA: Plasma anaphylaxis and immediate type reactions, In: Rossi E.C., Simon T.L., Moss G.S., eds, *Principles of Transfusion Medicine*, William & Wilkins, Baltimore, 1991, 635—639.
- 20) Shimada E, Tadokoro K, Watanabe Y, et al: Anaphylactic transfusion reactions in haptoglobin-deficient patients with IgE and IgG haptoglobin antibodies. *Transfusion*, 42: 766—772, 2002.
- 21) Roth VR, Kuehnert MJ, Haley NR, et al: Evaluation of a reporting system for bacterial contamination of blood components in the United States. *Transfusion*, 41: 1486—1492, 2001.
- 22) Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, et al: Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1988 through 2000. *Transfusion*, 41: 1493—1499, 2001.
- 23) Win N, Montgomery J, Sage D, et al: Recurrent transfusion-related acute lung injury. *Transfusion*, 41: 1421—1425, 2001.



## ANALYSIS OF CASES SHOWING RESPIRATORY FAILURE AS A TRANSFUSION SIDE EFFECT

Yasuhiko Fujii<sup>1)</sup>, Shigetaka Shimodaira<sup>2)</sup>, Susumu Omokawa<sup>3)</sup>, Kazuma Ikeda<sup>4)</sup>, Katsushi Tajima<sup>5)</sup>, Takayoshi Asai<sup>6)</sup>, Michiko Kajiwara<sup>7)</sup>, Hiroshi Sakugawa<sup>8)</sup>, Yuji Yonemura<sup>9)</sup> and Junki Takamatsu<sup>10)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Blood Transfusion, Yamaguchi University School of Medicine

<sup>2)</sup>Division of Transfusion Medicine, Shinshu University Hospital

<sup>3)</sup>Division of Transfusion Medicine, Akita University School of Medicine

<sup>4)</sup>Department of Transfusion, Okayama University Hospital

<sup>5)</sup>Department of Transfusion Medicine, Yamagata University School of Medicine

<sup>6)</sup>Department of Transfusion Service, Chiba University School of Medicine

<sup>7)</sup>Department of Blood Transfusion Service, Medical Hospital, Tokyo Medical and Dental University

<sup>8)</sup>Department of Transfusion Medicine, University Hospital, University of the Ryukyus

<sup>9)</sup>Blood Transfusion Service, Kumamoto University Hospital

<sup>10)</sup>Department of Transfusion Medicine, Nagoya University Hospital

### **Abstract:**

In national university hospitals, nationwide records have been maintained of the transfusion side effects occurring each year. After the recommended criteria for transfusion-related acute lung injury (TRALI) were established during the TRALI Consensus Conference held in 2004, cases of respiratory failure were re-examined.

Thirty-four cases of respiratory failure were reported by 44 facilities during the fiscal year 1998 to 2003. Eight cases were diagnosed as TRALI and three cases as possible TRALI according to the recommended criteria. The anti-leukocyte antibody was positive in 63% (7/11) of cases that met the recommended criteria, although the anti-HLA-class II antibody was tested in only three cases. One case showed signs of acute lung injury (ALI) before transfusion, and 22 cases that did not show bilateral infiltrate on the chest radiograph were excluded. Twenty-two cases with no bilateral infiltrate on the chest radiograph seemed to be the result of an allergic reaction or condition similar to TRALI.

Seven deaths occurred in cases involving TRALI, which was the most important serious complication related to transfusion during the investigational period.

### **Keywords:**

TRALI, transfusion reaction, respiratory failure, anti-leukocyte antibody, noncardiogenic pulmonary edema

---

©2007 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy

Journal Web Site: <http://yuketsu.gr.jp>

報 告

## 全国国立大学附属病院における輸血副作用調査体制

### —輸血副作用の原因製剤回収・保管についての調査報告—

下平 滋隆<sup>1)</sup> 藤井 康彦<sup>2)</sup> 榊屋 正浩<sup>3)</sup> 大塚 節子<sup>4)</sup>  
尾崎 修治<sup>5)</sup> 松井 良樹<sup>6)</sup> 岩谷ユリ子<sup>7)</sup> 能登谷 武<sup>8)</sup>  
渡邊 博文<sup>5)</sup> 高松 純樹<sup>9)</sup>

全国国立大学（法人）附属病院輸血部会議 副作用ワーキンググループ

<sup>1)</sup>信州大学医学部附属病院輸血部

<sup>2)</sup>山口大学医学部附属病院輸血部

<sup>3)</sup>三重大学医学部附属病院輸血部

<sup>4)</sup>岐阜大学医学部附属病院輸血部

<sup>5)</sup>徳島大学病院輸血部

<sup>6)</sup>筑波大学臨床医学系（輸血部）

<sup>7)</sup>北海道大学病院輸血部

<sup>8)</sup>秋田大学医学部附属病院輸血部

<sup>9)</sup>名古屋大学医学部附属病院輸血部

（平成 17 年 11 月 15 日受付）

（平成 18 年 6 月 28 日受理）

国立大学（法人）附属病院における副作用調査体制を明らかにするために、平成 16 年度の状況についてアンケート調査を行ったので報告する。アンケート回収率は 98% (43/44) であった。輸血を行った全製剤について副作用の有無を確認する大学が 47% (20/43) あった。輸血前患者検体の保管は全ての施設で実施されていたが、未開封検体を保管している大学は 2 施設のみであった。疑いも含め副作用が発生時における原因製剤の回収は、88% の大学で可能であった。細菌感染症が疑われる場合の血液製剤および患者血液培養の実施は半数であった。日赤血液センターへの調査依頼の基準は、診療科からの依頼、副作用の重症度、輸血感染症が挙げられた。

これらの調査結果より、副作用の正確な発生状況の確認のためには、輸血療法委員会による原因製剤の回収を含めた輸血副作用調査体制の整備とともに、原因究明のための検査、副作用の治療、副作用発生後の血液製剤の選択に関する輸血部専任医師によるコンサルテーションの実施が重要であると考えられた。

キーワード：輸血副作用、保管検体、血液培養、指針

#### はじめに

赤十字血液センターからの輸血副作用情報では、83% が非溶血性副作用と報告され、重症例は全体の 46% を占めている<sup>1)</sup>。重症非溶血性輸血副作用の頻度は、2,000 人の輸血患者あたり 1 人発生していると概算されているが、大部分の症例では

副作用の原因が特定されていない<sup>2)</sup>。その要因として、診療科医師の不十分な認識、および副作用発生時の適切な検体保管・製剤回収、臨床検査が実施されていないことが指摘されている<sup>2)</sup>。このため、国立大学附属病院における副作用調査体制の現状を明らかにするために、アンケート調査を

行ったので報告する。また、「輸血療法の実施に関する指針」の改定に際して、この調査結果に基づき、パブリックコメントを行ったので、その概要についても報告する。

#### 対象と方法

44 全国国立大学（法人）附属病院を対象に平成 16 年度の現状を以下の項目についてアンケート調査を行った。

1. 輸血部への副作用報告方法：(1) 輸血副作用調査対象, (2) 定期的副作用サーベイ

2. 輸血前患者検体保管

3. 原因製剤の回収：(1) 回収方法, (2) 回収後, 原因製剤の保管

尚, 回収可能な大学における回収を行う対象については、該当項目を全て選択可とした。

4. 細菌感染症が疑われる場合の培養検査：(1) 製剤の細菌培養, (2) 患者血液培養

5. 日赤血液センターへの副作用調査依頼基準

#### 結 果

今回のアンケート調査全体での回収率は 98% (43/44 大学) であった。

##### 1. 輸血部への副作用報告方法

(1) 輸血副作用調査対象：輸血を行った全製剤について副作用の有無を確認する大学が 47% (20/43) であり、診療科より副作用報告のあった製剤のみを調査対象とする大学は 51% (22/43) であった。全製剤を調査対象としている 20 大学の内 85% (17/20) では副作用頻度、原因集計も可能であった。

(2) 定期的副作用サーベイ：輸血部から定期的に院内副作用サーベイを実施している大学は 19% (8/43) に止まった。それらの大学では、輸血療法委員会等において副作用報告、重篤な事例の対策検討、重大な副作用や血液センターからの情報により対応する運用がなされていた。

##### 2. 輸血前患者検体保管

この項目についての回答は 42/43 大学からあり、回答のあった大学では患者検体の保管は 100% (42/42) 実施されていたが、輸血検査の残りの検体保管が殆どで、PCR 用に未開封の検体を保管している大学は 2 施設のみであった。保管期

間は 1 週間から 5 年以上とかなりの幅がみられた (Fig. 1A)。一方、血液製剤の未開封のセグメントまたは輸血検査の残りの検体は、それぞれ重複含め 18 大学において保管されていた。保管期間は 1 日から 1 年となっていた (Fig. 1B)。

##### 3. 原因製剤の回収

(1) 回収方法：この項目についての回答は 41/44 大学からあり、副作用が発生時、88% (36/41) の大学で回収可能であった (Fig. 2A)。回収可能な 36 大学のうち回収対象は、疑いの事例を含め発生した場合 (Fig. 2B-a)、あるいは重篤な場合 (Fig. 2B-b) のいずれかの場合を合わせると 78% を占めた。血液センターへの副作用調査依頼をする場合が 8% であった (Fig. 2B-c)。また、輸血後全ての輸血バッグを回収する、または輸血バッグと白血球除去フィルターすべてを回収する方法も 5 大学 (14%) で運用されていた (Fig. 2B-d)。回収時間については、通常勤務時間帯であれば、当日対応は 97% (35/36) の大学において可能であった。

(2) 回収後の原因製剤の保管：回答のあった 28 大学すべて冷蔵保管がされていたが、保管期間は、1 日～6 カ月と期間を決めている大学がある一方、血液センター依頼まで、検査結果判明までといった運用基準を定めている大学もみられた。

##### 4. 細菌感染症が疑われる場合の培養検査

この項目については 40 大学から回答があり、製剤の細菌培養の実施率は 52% (21/40) であった (Fig. 3A)。実施場所は、院内検査が 26 大学、血液センターが 14 大学、その内 6 大学では両者で実施され、院内検査と検査センターが 1 大学あった。また、患者血液培養については、回答 36 大学のうち実施 21 大学 (58%) で実施されていた (Fig. 3B)。

##### 5. 日赤血液センターへの副作用調査依頼基準

回答 43 大学のうち 41 大学で調査依頼を実施していたが、調査依頼基準としては、診療科からの依頼 (報告数 20) が最も多く、中等症から重症の副作用 (16)、輸血感染症 (4) が挙げられた。

#### 考 察

輸血副作用には、溶血性輸血副作用、非溶血性輸血副作用、輸血関連急性肺障害 (TRALI)、輸血

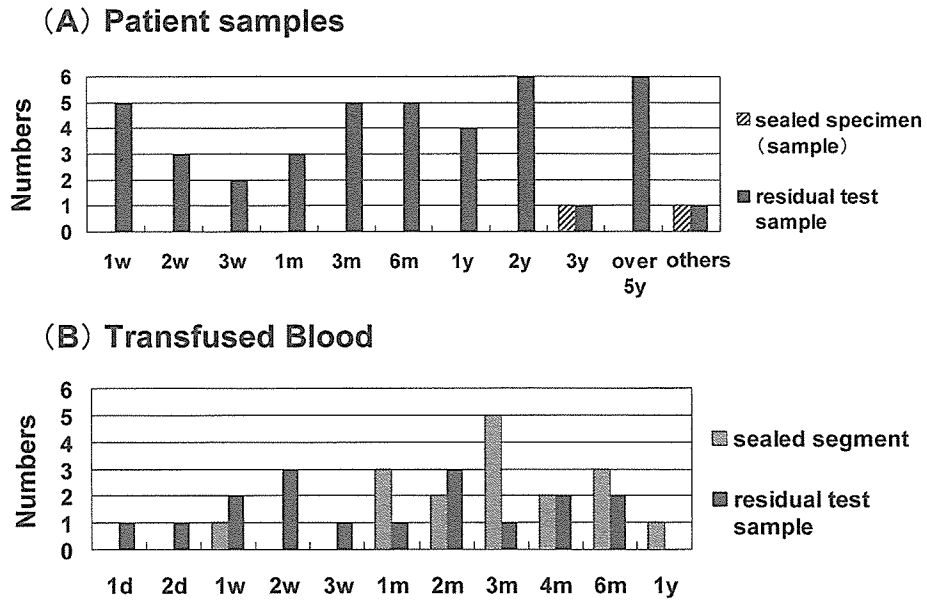


Fig. 1 Pretransfusion sample storage.

(A) Patient samples. The storage period of patient samples ranged from one week to over 5 years. Others indicates institutes in which the period of storage was not determined. w, week ; m, month ; y, year.

(B) Transfused Blood. Transfused blood segments or samples were kept from one day to one year. d, day ; w, week ; m, month ; y, year.

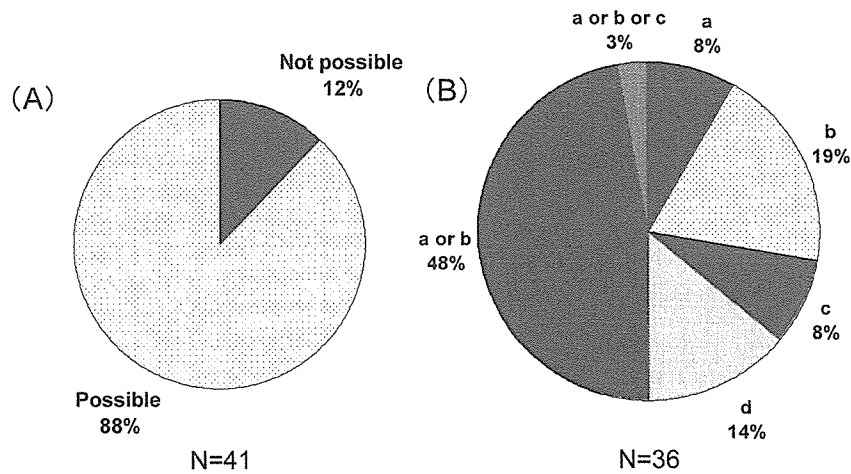


Fig. 2 How was the transfused blood returned in the case of transfusion reactions? (A) Percentage of execution. Return is possible in 88% of 41 universities.

(B) Cases in which the remainder of transfused blood is collected. a, all reported reactions including suspicious cases ; b, only severe cases ; c, patients who request that the blood center investigate the cause of effects ; d, all transfused cases. Percentage of requirements in 36 universities is as follows : a, 8% ; b, 19% ; c, 8% ; d, 14% ; a or b, 48% ; a or b or c, 3%.

## (A) Transfused blood culture (B) Patient's blood culture

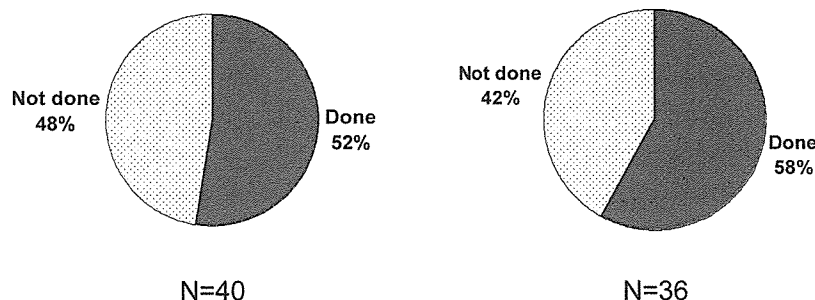


Fig. 3 Blood culture test in suspicious case of bacterial contamination.  
(A) Transfused blood culture. (B) Patient's blood culture.

感染症および輸血後 GVHD などがあるが、各施設で発生する輸血副作用を正確に把握することは、輸血部門の重要な役割である<sup>34)</sup>。しかし、全製剤について副作用の有無を確認することにより、副作用の発生状況を把握している施設は半数程度であり、さらに、診療科から輸血部への副作用報告が漏れなく行われているかどうかの自己点検として、定期点検院内副作用サーベイを実施している施設は少数にとどまった。大学附属病院等は特定機能病院として、輸血使用量も特に多いことから、副作用発生状況把握のため一層の努力が期待される<sup>5)</sup>。

院内での輸血副作用調査体制上、輸血前検体保管と原因製剤の回収は特に重要と考えられる<sup>2)</sup>。遡及調査のガイドライン<sup>3)</sup>においても輸血前の検体保管の重要性は指摘されているが、様々な輸血感染症の原因究明を可能とするためには、一部の大学で実施されている輸血前患者の未開封検体 (PCR 用 5mL) 保管が重要と考えられる。また、原因製剤の回収は、特に、TRALI、細菌感染症の診断上、不可欠である。今回の調査では 88% の施設で、原因製剤の回収が実施されていたが、すべての施設で実施されることを目標としている。これらの調査体制の整備は、輸血部門だけでなく、診療科医師、看護師の協力が不可欠であり、輸血療法委員会の活動によりこれらを実現する必要がある。

ある。

副作用の原因究明を行うための検査のうち、溶血性輸血副作用の検査は各大学輸血部レベルでかなりの部分が対応可能である。しかし、非溶血性輸血作用、TRALI などについては、抗血清蛋白抗体、抗 HLA 抗体、抗顆粒球抗体などの検査を実施するために赤十字血液センターへ副作用調査依頼を行う必要がある。この赤十字血液センターへの副作用調査依頼は、担当医からの依頼があった場合に行う施設が半数を占めたが、副作用の重症度によって決定すべきと考えられる。著者らは、厚生労働省の研究班とともに、日赤血液センターへの副作用報告基準を作成した<sup>6)</sup>。一方、細菌感染に関しては、その重要性が BaCon Study<sup>7)</sup>ですでに指摘され、培養検査自体は院内で実施可能であるにもかかわらず、原因製剤ならびに患者血液培養の実施率が約半数に留まっており、輸血部門内での再点検・評価、診療科に十分な認識を得る対策の検討<sup>2)</sup>が必要である。これら原因究明のための検査は副作用の治療、副作用発生後の血液製剤の選択と平行して行われるものであり、輸血 (部) 専任医師によるコンサルテーションの役割が重要と考えられる。

以上のことから、我々は平成 17 年度の「輸血療法の実施に関する指針」改定に際して、以下示す内容を含むパブリックコメントを行ったが、これ

らの内容の相当部分が改定される指針に採用されている<sup>1)</sup>。

#### パブリックコメント (抜粋)

##### 1) 輸血療法委員会による院内体制の整備

輸血療法委員会において、原因製剤の回収・原因検索のための患者検体採取に関して、診療科の協力体制を構築するとともに、これらの業務が可能な検査技師の配置を含む輸血部業務(当直業務)体制の整備を行うことが望ましい。

##### 2) 輸血専門医(輸血部専任医師)によるコンサルテーション

単なる蕁麻疹以外では輸血専門医に副作用発生時の臨床検査、治療、輸血副作用の原因推定と副作用発生後の血液製剤の選択について、助言を求めることが望ましい。

本報告は、第53回日本輸血学会総会(2005年5月千葉)において発表した。

謝辞：アンケート調査に御協力頂いた国立大学(法人)附属病院輸血部会議に参加の各大学病院輸血部の方々に深謝いたします。

本報告の一部は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、輸血用血液及び細胞療法の安全性に関する研究」(H17—医薬—064)により行われた。

#### 文 献

- 1) 赤十字血液センターに報告された非溶血性輸血副作用—2004年—. 輸血情報, 0509—91.
- 2) 藤井康彦, 浅井隆善, 松井良樹, 他: 非溶血性輸血副作用の臨床経過. 日本輸血学会雑誌, 49: 553—558, 2003.
- 3) 血液製剤等に係る遡及調査ガイドライン. 厚生労働省医薬食品局血液対策課, 平成17年3月.
- 4) 「輸血療法の実施に関する指針」(改定版). 厚生労働省医薬食品局血液対策課, 平成17年9月.
- 5) 高野正義: 我が国における血液製剤の平均的使用量に関する研究(主任研究者: 高野正義) 厚生労働科学研究. 平成15年度研究報告, 2003.
- 6) 星 順隆, 藤井康彦, 浅井隆善, 他: 輸血用血液及び細胞療法の安全性に関する研究(主任研究者: 星 順隆). 厚生労働科学研究. 平成16年度研究報告, 2004, 1—18.
- 7) Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, et al.: Transfusion-transmitted bacterial infection the United States, 1998 through 2000. Transfusion, 41: 1493—1499, 2001.

SURVEILLANCE OF TRANSFUSION REACTIONS AT NATIONAL  
UNIVERSITIES AND UNIVERSITY HOSPITALS

Shigetaka Shimodaira<sup>1)</sup>, Yasuhiko Fujii<sup>2)</sup>, Masahiro Masuya<sup>3)</sup>, Setsuko Otsuka<sup>4)</sup>,  
Shuji Ozaki<sup>5)</sup>, Yoshiki Matsui<sup>6)</sup>, Yuriko Iwaya<sup>7)</sup>, Takeshi Notoya<sup>8)</sup>,  
Hirofumi Watanabe<sup>5)</sup> and Jyunki Takamatsu<sup>9)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Transfusion Medicine, Shinshu University Hospital

<sup>2)</sup>Department of Blood Transfusion, Yamaguchi University Hospital

<sup>3)</sup>Blood Transfusion Service, Mie University Hospital

<sup>4)</sup>Department of Transfusion Medicine, Gifu University Hospital

<sup>5)</sup>Division of Transfusion Medicine, Tokushima University Hospital

<sup>6)</sup>Department of Blood Transfusion, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba

<sup>7)</sup>Department of Transfusion Medicine, Hokkaido University Hospital

<sup>8)</sup>Division of Blood Transfusion, Akita University Hospital

<sup>9)</sup>Division of Transfusion Medicine, Nagoya University Hospital

We conducted a survey regarding the status of transfusion-related effects in National University (corporation) hospitals in fiscal year 2004. Response rate was 98% (43/44). Forty-seven percent (20/43) of universities recorded the incidence of side effects in all transfused cases. Although patient blood material was kept in all facilities before transfusion, only two facilities kept unopened samples. When side effects including suspicious cases occurred, collection of the remainder of transfused blood was performed in 88% of universities. Bacterial cultures of both blood products and the patients' blood were possible in half of the facilities in cases of bacteremia. The standard of investigation submitted to the Japan Red Cross Blood Center was enumerated as follows: requests from the diagnosis and treatment department, the severity of adverse effects, and the transfusion of infectious diseases. These findings emphasize the need for surveys by the transfusion treatment committee to maintain the system for the investigation of side effects, including collection of remaining transfused blood. Consultation by the transfusion division doctor is also important in investigating the cause, the treatment of the side effect, and the selection of further blood products.

**Key words** : transfusion reactions, blood sample, blood culture, guideline

---

# 細胞療法・再生医療の安全性

Safety of cell therapy



浜口 功

Isao HAMAGUCHI

国立感染症研究所血液・安全性研究部

◎細胞療法・再生医療に用いられる原材料はヒトまたは動物の細胞、組織などに由来し、薬事法上これらの製品は生物由来製品として位置づけられている。これらの生物由来製品では感染リスクなどに特段の注意が必要であり、生物由来の特性に応じた共通の上乗せの安全規制を行う必要がある。本稿では原料採取および製造段階においてとくに留意しておかなければならないプロセッシングおよびウイルスの安全性について考察する。再生医療においては、安全性や治療効果もまだ完全に解明されていない探索的医療であるからこそ厳格な規制は必要であり、GMP 準拠の規格を有するクリーンルームで、GMP の管理手順に従って扱う必要があると考える。さらに、ドナーから採取された細胞あるいは組織由来の製品について、十分なウイルスにかかわる安全性試験(ウイルス否定試験)の実施が必要である。

**Key word** : 細胞療法, 再生医療, 安全性, ウイルス

再生医療とは生体の一部が死滅してしまったり外傷で失われてしまったり、また癌で正常な臓器や組織の働きが損なわれたりした際に、細胞を利用してその失われた機能を取り戻す(再生)ことをはかる医療のことである。

再生医療は臓器を丸ごとすべて取り替える臓器移植とは異なるが、現時点ではその区別がなされておらず、分けて考えるほうが妥当であり、その意味では再生医療は“細胞”に焦点をあてた医療という考え方が妥当である。アメリカ FDA や EU の EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) では cell therapy (細胞治療) という言葉が使われている。

バイオテクノロジーの急速な発展とともに、再生医療の技術開発がさらに進み、臓器の機能障害や機能不全に苦しむ多くの患者にとって大きな福音となると考えられている。21 世紀のポストゲノムの時代において中心的な役割を担うものと大きな期待が寄せられている。このような再生医療において患者の安全性や臨床試験の信頼性を担保するために、ヒト細胞由来の治療用細胞の品質をい

かに確保するかを議論したい。

## 再生医療の原材料の安全性

わが国の現状をみると、多くの再生医療に関する基礎研究の成果はアメリカをはじめとする欧米諸外国に決して劣るものではないが、その成果を実用化することを想定した安全性に関する検討は十分であるとはいえない。再生医療に用いられる原材料はヒトまたは動物の細胞、組織などに由来し、薬事法上これらの製品は生物由来製品として位置づけられている。医療行為としての再生医療に用いられる医薬品・医療用具は“細胞組織・加工医薬品/医療用具”と認識されている。

すなわち、ヒト・動物の生きた組織などを利用することから、原材料の汚染に由来する感染リスクなどに特段の注意が必要であり、生物由来の特性に応じた共通の上乗せの安全規制を行う必要がある。おもな上乗せ規制として、

- ① 原料採取および製造段階：ドナー選択基準、原材料に関する記録などの保管管理および汚染防止措置



表 1 GMP準拠細胞プロセッシングを行う施設が構造設備面において具備すべき基準

- (1) 細胞培養室はクラス 10,000 の清浄度を保つ陽圧のクリーンルームであること
- (2) 細胞培養室での細胞培養などの操作は、クラス 100 の安全キャビネット内で行うこと
- (3) 細胞培養室へ入る前に準備室を設けること
- (4) 準備室の前に前室を設け、準備室が外部に直接接しないこと
- (5) 細胞培養室への入口と出口は別にして一方通行であること
- (6) 作業員および物品の動線が適切なものになるように設計されたものであること
- (7) 遺伝子導入を行う細胞培養室(遺伝子導入室)は、クラス 10,000 の清浄度を保つ陽圧のクリーンルームで、かつ前室あるいは準備室へ空気が流れ込まないような設計であること
- (8) 遺伝子導入室と前室あるいは準備室との間にはエアロック室を設けること
- (9) エアシャワー室はコンタミネーションの原因にもなり、クリーン度とは無関係であることが明らかになっており、設置する必要はない。各部屋の独立性は各部屋の差圧によって行うこと
- (10) 各遺伝子導入室の空調設備は完全に独立したものであること
- (11) セキュリティーには十分な配慮を行うこと
- (12) 各部屋にある機器(たとえば冷蔵庫の温度、インキュベーターの湿度、温度、炭酸ガス濃度など)を外部でモニターできるシステムを構築することが望ましい
- (13) 各培養室は作業に支障のない広さを持ち、たとえば表示作業室では、ラベルの貼り間違いを防ぐために異品目の作業台の間に仕切りをしたり、十分な間隔をとるなどにより、混合・手違いを防ぐことができるような広さと構造をもつものであること

② 表示・添付文書：“生物”の表示，特定生物由来製品にあつては採血国，献血，非献血の別など

③ 説明義務：医師の患者に対する安全性に関する説明責任

④ 記録の保存：遡及調査のため

などがあげられており，これらに則した形での品質管理が求められる。本稿では，これらの項目のうち①の原料採取および製造段階において，とくに留意しておかなければならないプロセッシングおよびウイルスの安全性について考察する。

### 再生医療の細胞プロセッシングの安全性

製造段階の根本的な問題点として，再生医療に関する研究成果を臨床応用するためのインフラストラクチャーの強化をはかる必要がある。細胞培養など高度な細胞プロセッシング(more than minimally manipulated：後述)を行っている施設のなかには，単なる実験室のなかにクリーンベンチにおいて同じインキュベーターで何人もの患者の細胞を同時に培養し，投与しているところが依然としてわが国には存在する。細胞治療・再生医療開発に不可欠な臨床用細胞のプロセッシングを行う施設とそのノウハウ，これらの施設で実際にGMP準拠細胞プロセッシングを行う技術者の育成を強化していかなければならない。またすべて

のプロセスを点検し，GMP準拠細胞プロセッシングを行うべきである。これに関連してプロセッシング施設に対しても一定の基準を設ける必要がある。

安全性や有効性が十分確認されていない先端医療，とくに細胞治療や再生医療でヒト細胞を培養したり遺伝子導入したりといった操作に対し，現時点ではこれを規制する法律はわが国にはない。再生医療においては安全性や治療効果もまだ完全に解明されていない探索的医療であるからこそ，厳格な規制は必要であり，最初からルーズなやり方では取り返しがつかないことになる。GMP準拠の規格を有するクリーンルームで，GMPの管理手順に従って行う必要があると考える。京都大学・前川らが提唱している，GMP準拠細胞プロセッシングを行う施設が構造設備面において具備すべき基準(minimum requirements)<sup>1)</sup>は表1のとおりである。

### 再生医療の規制

わが国におけるヒト細胞・組織医薬品GMPソフトは、『細胞・組織医薬品等の取り扱いおよび使用に関する基本的考え方(薬務公報第1867号別添1，平成13年2月21日)』および『ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性確保に関する指針(同別添2)』として示されている。ま

た、平成 14 年(2002)7 月 31 日に改正薬事法(法律第 96 号)が公布され、そのなかには生物由来製品の安全確保対策の充実をはかるための施策も盛り込まれ、平成 15 年(2003)7 月 30 日より生物由来製品にかかわる部分の薬事法が施行されている。さらには最近、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針が公表されている。このように、生物由来製品を医薬品として開発する場合の通知やガイドラインなどはこれまでに数多く公表されているが、再生医療を目的として使用される場合の単一のガイドラインはいまだ定められていない<sup>2)</sup>。したがって現時点では、開発段階、製造開始段階、製造段階、市販後段階の各段階において規制当局と相談しながら進めているのが現状である。今後、再生医療としての単一のガイドライン作成あるいは整備が望まれている。

アメリカ FDA の考え方では、細胞操作が最低限度(minimally manipulated)である場合はとくに規制の対象にならないが、それを上回る有意な操作が行われる場合(more than minimally manipulated)は規制の対象になり、FDA の承認を必要とするとされる。“Minimally manipulated”の定義は“操作がその組織の本来の性質(=再生や修復の機能をつかさどる能力に関する性質)を損なわない場合”とされる。具体的な例では、院内で行う(=業として行わない)洗浄血小板や洗浄赤血球の作製、骨髄細胞や末梢血幹細胞の分離、凍結操作は“最低限度の操作”と考えられる。そういう意味では、バンクで行われる操作は more than minimally manipulated よりも minimally manipulated として考えられる。しかし近年、バンクの細胞プロセッシングに対してアメリカでは国際細胞治療学会傘下の民間認証団体 FACT での認証が自主基準のひとつとして普及している。国内の臍帯血バンクネットワークでは厚生労働省医薬安全局の助言に基づく管理基準を策定し、自主評価システムを構築している。

規制についてまとめると、わが国では細胞治療・再生医療の開発に必須な細胞プロセッシングに関するガイドラインは法制化されていない。しかし、規制の対象とはならなくとも品質管理のたゆまぬ向上は図られるべきであり、SOP(標準作業

手順書)の作成など GMP に対応できるシステムを構築すべきである。また、細胞治療・再生医療に際して細胞を培養したりサイトカインを用いて、ある細胞分画を増幅させる場合、FDA の基準では“more than minimally manipulated”の範疇に含まれ、十分な品質管理システムが要求されることになる。GMP とはそもそも医薬品の製造を厳密な管理のもとで行うための規範であり、すくなくともつぎの 3 つの要件を満たさなければならない。

第 1 に“人為的な誤りを最小限にすること”，第 2 に“医薬品に対する汚染および品質変化を防止すること”，第 3 に“高度な品質を保証するシステムを構築すること”である。

### ウイルス安全性(I)——血液製剤の作製工程

製剤作製の工程において、生物由来製品のウイルスなどの感染因子の混入防止に関しては特段の配慮が必要となる。ウイルス検査に関しては血液製剤の品質管理技術の向上に伴い強化されつつある。再生医療の細胞プロセッシングは“minimally manipulated”の操作を行っている臍帯血バンクでのプロセッシングよりもさらに高いレベルでのウイルス検査が望まれる。ここではこれまでに着実な品質管理向上がなされてきた血液製剤の作製工程におけるウイルス安全性検査について概説し、細胞治療・再生医療の現場で望まれるウイルス検査などについて解説する。

血液製剤の作製工程において、まず採血前に、医師の問診・検診を行う。ここでは提供者の感染症などに関する既往症や海外滞在歴、さらに現在の健康状態を確認し、血液を介して感染する病原体に感染している可能性のある者や、血液製剤の安全性・有効性に支障をきたす医薬品を服用していると思われる提供者を除外する。つぎに、採血基準に適合するかどうか、血圧や血液比重などを検査し、採血が提供者らの健康に影響を及ぼさないかを確認する。採血基準に適合すると採血を行う。採血された血液には、数種の病原体についての抗原・抗体検査、肝機能検査、不規則抗体検査を行い、適とされたものにさらに核酸増幅検査(NAT)を行う。いずれも適とされた血液だけが血液製剤として取り扱われる。

表 2 安全性に関する検査項目一覧(平成17年度血液事業報告より抜粋)

検査項目	検査法	根拠法令
不規則抗体	ABO 等検査	薬事法・生物由来原料基準 (輸血用のみ)
梅毒	抗体検査	薬事法・生物由来原料基準
B型肝炎ウイルス(HBV)	抗原検査, 抗体 検査, NAT	薬事法・生物由来原料基準
C型肝炎ウイルス(HCV)	抗体検査, NAT	薬事法・生物由来原料基準
ヒト免疫不全ウイルス(HIV)	抗体検査, NAT	薬事法・生物由来原料基準
ヒト T リンパ球向性ウイルス 1 型 (HTLV-1)	抗体検査	薬事法・生物由来原料基準 (分画は国内血由来のみ)
肝機能(ALT)	酵素値の測定	各社の自主基準
ヒトパルボウイルス B19	抗原検査, NAT (分画の一部)	各社の自主基準

(厚生労働省資料)

表 3 日本および諸外国における輸血用血液製剤に関するNAT検査項目と輸血後感染の残存リスク(推定)(平成17年度血液事業報告より抜粋)

運営主体	NAT 検査項目					NAT プール 検体数	輸血後感染の残存リスク(推定)		
	HBV	HCV	HIV	WNV	PV・B19		HBV	HCV	HIV
日本赤十字社	○	○	○	—	—	20	1:70,000~90,000 <sup>*1</sup>	*2	*3
アメリカ赤十字社	—	○	○	○	—	16	1:205,000 <sup>*4</sup>	1:1,935,000 <sup>*4</sup>	1:2,135,000 <sup>*4</sup>
イギリス血液サービス	—	○	○	—	—	(不明)	*5		
オーストラリア赤十字 血液サービス	—	○	○	—	—	24	1:971,000 <sup>*6</sup>	1:3,112,000 <sup>*6</sup>	1:4,808,000 <sup>*6</sup>
カナダ血液サービス	—	○	○	○	—	24	(不明)		
ドイツ赤十字社	○	○	○	—	○	96	1:1,000,000 <sup>*7</sup>	1:20,000,000 <sup>*7</sup>	1:20,000,000 <sup>*7</sup>
EFS(フランス)	—	○	○	—	—	8(30%) 24(70%)	1:475,000 <sup>*8</sup>	1:700,000 <sup>*8</sup>	1:1,720,000 <sup>*8</sup>

出典: Registry of Clotting Factor Concentrates (Fourth Edition, 2003) (WFH, Facts and Figures, 2003, No. 6) ほか.

\*1: 50 プール NAT 導入以降の週及調査と医療機関からの感染症報告数から推計.

\*2: 2005 年 3 月現在, NAT 導入以降に輸血後 HCV 感染が確認された事例は報告されていない.

\*3: 2003 年 12 月, NAT 導入後のはじめての輸血後 HIV 感染例が 1 例報告された.

\*4: Risk Estimates of Infection from Transfusion (アメリカ赤十字社ホームページ BloodSafety.org).

\*5: 2001 年 10 月 1 日~2002 年 12 月 31 日の間, 輸血の因果関係が確認された事例は報告されなかった (SHOT Annual Report 2001-2002 (SHOT 事業局), p.133).

\*6: Transfusion Medicine Manual 2003 (オーストラリア赤十字血液サービス), p.102 より.

\*7: hōamotherapie (Ausgabe 1/2003) (ドイツ赤十字社), p.33 より.

\*8: 調査機構だより. No. 64, 2001 (血液製剤調査機構), p.6 より (供給全血液製剤).

表 2 は現在実施されている感染症に関して実施されている検査項目である<sup>3)</sup>. このうち, 薬事法に基づく“生物由来原料基準”で定められている項目については, 国内で採血された血液だけでなく, 海外で採血され国内に輸入される血漿についても適用されている. 抗原・抗体検査, NAT とともに病原体によるリスクを減らすために効果的な検査法であるが, いずれの検査にも検出限界があるため,

病原体に感染しても初期には検査を行っても検出できないことがある. こうした期間を“ウインドウ期”という. 現行の検査法でこの“ウインドウ期”をかなり短縮できたが, いまだに存在し, 輸血後肝炎の発症率はゼロとはなっていない.

表 3 に, 日本および諸外国において実施されている感染症などの検査項目を示した<sup>3)</sup>. これらによると, 先進国では抗原・抗体検査や NAT をほぼ同

時期に導入しているものの、検査項目や NAT のプール検体数には若干の差異がある。各国において公表されている輸血後感染症のリスク推計値を示した。それによると、輸血後に HBV, HCV, HIV に感染する危険性(残存リスク)はいずれの国においても数十万分の一以下である。感染症マーカー検査が導入されていない時期は、たとえばアメリカ赤十字社の調査でも、1971~1983 年の輸血による HCV(当時は“非 A 非 B 肝炎”の一呼称)の感染率は 10.3%とされている。それに比べると、高精度検査の導入後、輸血後感染症のリスクは著しく減少した。

## ウイルス安全性(Ⅱ)——再生医療の細胞プロセッシング

再生医療の細胞プロセッシングにおいてもウイルスの混入をどう防ぐかは重要な課題である。そのあり方について議論する。

まず再生医療の際のドナーの選択は重要である。指針でもウイルスに関して、HBV, HCV, HIV, HTLV-I, ParvoB19 はまず検査により否定することが明記されている。このほか、CMV, EBV を必要に応じて否定することとなっている。さらに、ドナーから採取された細胞あるいは組織由来の製品についても、十分なウイルスにかかわる安全性試験(ウイルス否定試験)を実施する必要がある。

また、ヒト由来のウイルス以外に細胞培養などをプロセッシングの過程で用いる場合には、動物由来のウイルスの混入も排除できない。マウスなど齧歯類由来の株化細胞ではレトロウイルスの遺伝子が存在し、蛋白質の一部あるいはウイルス粒子を産生していることはよく知られている。培養に使用するウシ血清中のウシ由来ウイルスの混入も避けることが難しい。トリプシンにはブタ由来ウイルスが混入している可能性が高いことが知られている。このような場合には製品の“ウイルス安全性確保”のために、製造工程でウイルス不活性化工程を設けてウイルスクリアランスを行うことが要求される。さらには原材料の特性から混入可能性のあるウイルス(プリオンも含む)あるいは新興・再興感染症の原因ウイルスなどの混入にも備えるべきである<sup>4-6)</sup>。

表 4 東京医科歯科大学細胞治療センターで実用化したウイルス検査

A set : HSV, VZV, CMV, ParvoB19, BKV, JCV
B set : EBV, HHV-7, HHV-8, HBV
R1 set : HIV-1, HCV
R2 set : HIV-2, HTLV-1, HTLV-2

このようにウイルス安全性においてウイルス検出のための試験法が重要な役割を果たしていることに触れたが、ウイルス試験には限界があり、ウイルスが存在しないことを決定的に結論づけたり製品の安全性を十分に担保しうるものではないことを認識しておく必要がある。たとえば、NAT に関しても、HBV, HCV, HIV に関してはウインドウ期的大幅な短縮が可能となり、有効なウイルス安全性評価手段としておおいに期待されているが、用いるプライマーの選択によっては検出目的のウイルスすべてのサブタイプを検出できないこともある。ウイルス試験の方法は技術の進歩とともに向上することを念頭におき、試験の実施にあたりその時点での科学的に最高水準の技術を取り入れ、適切に行うことでウイルス検出の確度を高めるべきである。

東京医科歯科大学・清水則夫らはマルチプレックス PCR 法を応用した検査システムを確立している。現在、東京医科歯科大学細胞治療センターではキャピラリー PCR 機、自動核酸抽出装置を使用し、肝炎ウイルス、レトロウイルス、ヘルペスウイルスを含めた 16 種(表 4)のウイルスの 2 時間以内の同時測定を実用化している。

また一方、生物製剤の製造過程ではウイルス混入の可能性を完全には否定できないので、これを念頭においたうえで安全対策を講じる必要がある。すなわち、生物由来製品において万が一感染症発症が疑われた場合、遡求調査を行い、安全確保を行うことになっている。

## おわりに

今後再生医療が理解され、広く認知されるためには、治療に用いる細胞や組織をいかに安全に調整し、その品質を保証するかということがきわめて重要な課題となる。品質を保証するプロセッシングを受けた細胞を用いることによりトランス