

2) 五十嵐靖浩、上村知恵、松橋博子、持田
範之、五十嵐靖浩、奥山馨、鳥海綾子、太田
香保里、杉山裕美子、小林芳美、金錦麗、蛭
田芽公美、千葉有希乃、渡邊直英、半田誠：原
因が究明できなかった輸血後溶血性貧血の
一例. 第57回日本輸血・細胞治療学会総会、
平成21年5月、大宮

G. 知的所有権の出願・登録
なし

表1-1 慶應義塾大学の輸血副作用発生状況(バッグ数)
平成21年 1月 1日～平成21年 12月 31日(12ヶ月間)

1: 血液製剤の使用量

	バッグ数
RC-MAP	7,444本
FFP	2,219本
PC	3,487本

2: 副作用の発生件数

副作用項目	副作用件数		
	RC-MAP	FFP	PC
A) 非溶血性副作用(発生件数)	25人	14人	179人
1) 発熱	3人	0人	8人
2) 悪寒・戦慄	2人	0人	2人
3) 熱感・ほてり	3人	0人	2人
4) 掻痒感・かゆみ	1人	2人	38人
5) 発赤・顔面紅潮	5人	4人	11人
6) 発疹・蕁麻疹	24人	12人	151人
7) 呼吸困難	0人	0人	9人
8) 嘔気・嘔吐	0人	1人	1人
9) 胸痛・腹痛・腰背部痛	0人	0人	0人
10) 頭痛・頭重感	0人	0人	0人
11) 血圧低下	0人	1人	1人
12) 血圧上昇	5人	1人	3人
13) 動悸・頻脈	0人	2人	0人
14) 血管痛	0人	0人	0人
15) 意識障害	0人	0人	0人
16) 赤褐色尿(血色素尿)	0人	0人	0人
17) その他	1人	0人	2人
重症アレルギー反応	0人	3人	7人
TRALI	0人	0人	0人
輸血関連循環過負荷(TACO)	0人	0人	0人
輸血後GVHD	0人	0人	0人
輸血関連紫斑病(PTP)	0人	0人	0人
B) 溶血性副作用(発生件数)	0人	0人	0人
急性溶血	0人	0人	0人
遅延性溶血	0人	0人	0人
C) 輸血後感染症(発生件数)	0人	0人	0人
HBV	0人	0人	0人
HCV	0人	0人	0人
HIV	0人	0人	0人
細菌	0人	0人	0人
その他	0人	0人	0人
D) 副作用総発生件数	25人	17人	186人

注: 件数は全てバッグ当たりとします。

1. A)の症状項目のみは重複可とします。

2. A)の症状項目について、診断が確定した症例の症状分は除いて下さい。

(例: 発熱、呼吸困難でTRALIと診断された場合、発熱、呼吸困難を症状項目から除いて下さい)

3. 従って、症状項目以外については1バッグ当たり1件に限定されることになります。

表1-2 慶應義塾大学の輸血副作用発生状況(実患者・延べ患者)

調査期間：平成21年 1月 1日～平成21年 12月 31日(12ヶ月間)

1: 血液製剤の患者数

	実患者数	延べ患者数
RC-MAP	1,296人	4,995人
FFP	417人	1,015人
PC	422人	3,276人

2: 副作用の発生患者数

副作用項目	副作用件数						
	実患者数当り			延べ患者数当り			
	RC-MAP	FFP	PC	RC-MAP	FFP	PC	
A) 非溶血性副作用(発生患者数)	22人	9人	60人	25人	14人	179人	
症状項目	1)発熱	3人	0人	6人	3人	0人	8人
	2)悪寒・戦慄	2人	0人	2人	2人	0人	2人
	3)熱感・ほてり	3人	0人	1人	3人	0人	2人
	4)掻痒感・かゆみ	1人	1人	30人	1人	2人	38人
	5)発赤・顔面紅潮	5人	4人	8人	5人	4人	11人
	6)発疹・蕁麻疹	21人	8人	53人	24人	12人	151人
	7)呼吸困難	0人	0人	3人	0人	0人	9人
	8)嘔気・嘔吐	0人	1人	1人	0人	1人	1人
	9)胸痛・腹痛・腰背部痛	0人	0人	0人	0人	0人	0人
	10)頭痛・頭重感	0人	0人	0人	0人	0人	0人
	11)血圧低下	0人	1人	1人	0人	1人	1人
	12)血圧上昇	2人	1人	2人	5人	1人	3人
	13)動悸・頻脈	0人	2人	0人	0人	2人	0人
	14)血管痛	0人	0人	0人	0人	0人	0人
	15)意識障害	0人	0人	0人	0人	0人	0人
	16)赤褐色尿(血色素尿)	0人	0人	0人	0人	0人	0人
	17)その他	1人	0人	0人	1人	0人	2人
重症アレルギー反応	0人	3人	7人	0人	3人	7人	
TRALI	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
輸血関連循環過負荷(TACO)	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
輸血後GVHD	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
輸血関連紫斑病(PTP)	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
B) 溶血性副作用(発生患者数)	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
急性溶血	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
遅延性溶血	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
C) 輸血後感染症(発生患者数)	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
HBV	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
HCV	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
HIV	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
細菌	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
その他	0人	0人	0人	0人	0人	0人	
D) 副作用総発生患者数	22人	12人	67人	25人	17人	186人	

注：人数は実患者当り、延べ患者当りとしてします。

1. A)の症状項目のみは重複可とします。

2. A)の症状項目について、診断が確定した症例の症状分は除いて下さい。

(例：発熱、呼吸困難でTRALIと診断された場合、発熱、呼吸困難を症状項目から除いて下さい)

3. ただし、実患者当りの場合、診断が確定した輸血時での症状は除きますが、診断が確定しない輸血時での症状はA)の症状項目に人数を記入して下さい。

(例：蕁麻疹が1回目は診断が確定せず、2回目の輸血時で蕁麻疹が重症アレルギーと診断された場合、蕁麻疹で1人、重症アレルギーで1人となります。)

表2 血小板製剤によるアレルギー反応の内訳
平成21年1月1日—12月31日

血小板製剤	総計(%)	反応あり(%)	重症反応
総バック本数	3487(100)	172(100)	7
うち血内・小児科患者	2,637(75.6)	158(91.8)	5
総人数	422(100)	63(100)	7
うち血内・小児科患者	159(37.7)	58(92.0)	5
	対応	58人の内訳	5人の内訳
	前処置なし、未処理製剤	3	1
	前処置あり、未処理製剤	42	3
	前処置あり、血漿減量製剤	12	1
	前処置あり、洗浄製剤	1	0

表3-1 血小板輸血に伴うアレルギー反応*の発生状況:副作用あり、血小板処理なしグループ

*:発疹、蕁麻疹and/or搔痒感、かゆみ、輸血に関連が少ない症例は除外(主治医の判定)

期間:2009年1月1日~12月31日 **:重症副作用(#2、#28、#31、#44)

対象:血液内科/小児科,患者数:159名(F75名,M84名),輸血件数:2,637件(バッグ)(F1,182件,M1,455件)

No.	患者情報		前処置なし**		前処置あり①		前処置あり②		前処置あり③		疾患名
	性別	年齢	副作用回数	輸血回数	副作用回数	輸血回数	副作用回数	輸血回数	副作用回数	輸血回数	
1	F	12	1	72	0	52	0	11			RMS
2	F	2	1	11	0	1	0	10	0	1	AML
3	M	2			1	6					ALL
4	F	15							1	3	ALL
5	M	9					0	5	0	1	CML
6	F	12	2	20							ALL
7	F	0	1	3	2	9	1	11	0	2	AML
8	F	10					1	6			AA
9	F	15			0	4	0	1	4	19	AA
10	F	11	1	17			1	8			CML
11	M	51	1	2	0	2					AML
12	M	66	1	10							MDS
13	F	69			0	3	0	1	1	43	AML
14	M	67	2	36	0	2					CLL
15	F	52	4	68	0	1					AML
16	F	36			1	4	0		0	22	AA
17	M	29	1	14					0	2	MDS
18	M	20					2	22			AML
19	F	66	1	26	0	1					MM
20	M	60			2	5			0	11	AML
21	F	52					0	11	1	2	ML
22	F	50	1	3	0	2			0	30	MDS
23	M	44	1	8					0	1	ML
24	M	62							2	2	NHL
25	F	50			0	4	1	84	1	13	AML
26	M	72			7	14	0	1	2	5	MDS
27	F	71			0	1			2	11	AA
28	M	64	1	4							MDS
29	M	60	1	14					0	7	MDS
30	F	57	2	3					0	3	ML
31	F	44	1	2					0	2	MM
32	M	66	1	5					0	5	AML
33	M	65	2	3	1	1			3	7	MM
34	M	31	1	1					2	3	ML
35	M	42	1	7	0	14					MM
36	M	52	1	3			0	1	0	8	ALL
37	M	26			6	11					AML
38	F	82	1	36							AML
39	M	70	1	1							ML
40	M	66	1	3	0	25	0	3	0	8	ML
41	M	41	1	2					0	2	ML
42	F	42	2	18	1	7			2	10	CML
43	M	34			0	4	0	3	5	49	AML
44	F	46	2	19					0	4	ALL
45	M	51			10	76	0	5			AMI
合計			37	411	31	249	6	183	26	276	
発生率			9.00%		12.45%		3.28%		9.42%		

前処置あり①:ステロイド剤,

前処置あり②:抗ヒスタミン剤,

前処置あり③:ステロイド剤+抗ヒスタミン剤

表3-2

血小板輸血に伴うアレルギー反応*の発生状況:血小板処理ありグループ

期間:2009年1月1日~12月31日

*:発疹、蕁麻疹and/or掻痒感・かゆみ、輸血に関連が少ない症例は除外(主治

**:重症副作用(#12)

対象:血液内科/小児科, 患者数:159名(F 75名, M 84名), 輸血件数:2,637件(バッグ)(F 1,182件、M 1,455件)

No.	患者情報		血小板未処理		血小板未処理、前処置*		血漿減量血小板		洗浄血小板		疾患名
	性別	年齢	副作用回数	輸血回数	副作用回数	輸血回数	副作用回数	輸血回数	副作用回数	輸血回数	
1	F	20					1	13			ET
2	M	18			20	66	5	16			AML
3	M	22							0	9	AML
4	F	60			1	1			0	2	MM
5	M	41			4	81	7	54			AML
6	F	36			6	12	0	3			AML
7	F	38					0	13			AML
8	M	66					0	11			MDS
9	M	71					0	5			PNH
10	F	68					0	1			MDS
11	M	28					1	15			AML
12	M	23	1	3	1	4	2	8			AML
13	F	43			4	13	3	42			CML
14	F	68					2	27			MDS
合計			1	3	36	177	21	208	0	11	
発生率			33.33%		20.34%		10.10%		0.00%		

分担研究報告書

洗浄血小板中での細菌増殖の検討

研究協力者： 東 寛（北海道赤十字血液センター研究部 部長）
平山順一（北海道赤十字血液センター研究部 係長）

研究要旨

血小板の機能を長期間保つことの可能な血小板置換液(M-sol)が開発されたことを契機として、洗浄血小板には副作用防止効果のあることが改めて認識されてきている。このことを背景として、洗浄血小板の使用の機運が高まっている。しかしながら、血漿量の低減は、たまたま製剤中に混入している細菌の増殖をより促す可能性がある。調べ得たいくつかの菌では、洗浄血小板製剤中で、より良く増殖しうる場合のあることが示された。従って、洗浄血小板を調整後は速やかに投与することが望まれる。

A. 研究目的

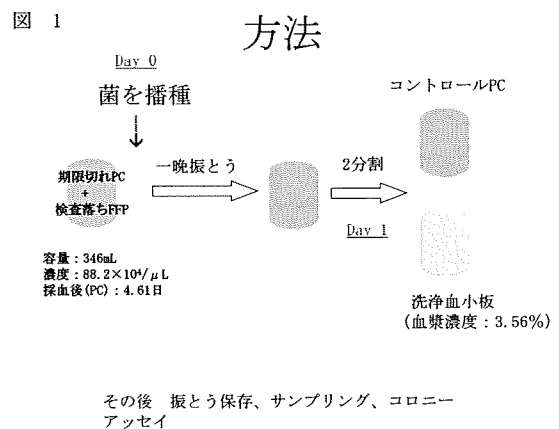
濃厚血小板製剤の輸血に伴う副作用の軽減には血漿量を極力減少した洗浄・置換血小板が有効である。しかしながら、血漿には本来細菌に対して、殺菌的あるいは静菌的に作用する補体に代表される種々の物質が存在している。従って、血漿量を低減することは、製剤中に細菌が混入していた場合には、それらの増殖を促進する要素にもなりうると考えられる。そこで、血小板製剤中に菌を接種したあと、血漿の低減化によりそれらの増殖がどのように修飾されるかを検討した。

B. 研究方法

1. 洗浄血小板(W/R-PC)とコントロールPC(Plasma-PC)の作製と菌の播種について

期限切れ(採血後 4.6 日)血小板製剤(PC)(PO バッグ使用)を期限切れ新鮮凍結血漿(FFP)と無菌的に混和し total volume としてお

よそ 350ml とした(図 1)。



次に、あらかじめ菌数を調整しておいた菌液を PO バッグ内にスパイクし、よく攪拌後した後に 1ml をバッグから抜き取って寒天プレートに撒き、後に菌数をカウントした。プレート当たりの菌のコロニー数が 1 以上かつ 10 以下の場合に、以後の検討対象とした。またこの菌数を day 0 における菌数（菌濃度）とした。菌を播種後に一晩 22C にて振とうしたのち、2 分割し、分割した一方を遠心し（2560g, 10min）上清（血漿成

分) を除去したのち、もとの volume と同じになるように置換液 M-sol を加えた(血漿濃度は 5%以下)。これを洗浄血小板(W/R-PC)とした。2 分割した片割れ (血漿が 100%のもの) をコントロール PC(plasma-PC)とした。その時点の菌数を day 1 における菌数(菌濃度)とした。菌数 (菌濃度) は、寒天プレートに適当に希釈したサンプルを撒き、コロニー数を目視でカウントした。その値から菌の濃度を逆算して算出した。

アクネの培養は以下の方法で行った。菌をバクトアラート嫌気性菌用培地 (Bact/ALERT BPN) に播種し、嫌気的環境下*、30度で3日以上培養したのち、菌液を PC と FFP を混和したバッグに播種しよく攪拌した後にサンプリングしたものをプレートにまいた。プレートはブルセラHK寒天培地 (嫌気性菌培養用培地、極東製薬) を用いた。嫌気的環境下*、30°Cでコロニーがカウントできるようになるまで (5日以上) 培養した。

嫌気的環境下* :

嫌気培養用酸素吸収二酸化炭素発生剤 (アネロパックケンキ、三菱化学) を共存させ、密閉袋または容器内に培地またはプレートを入れた。

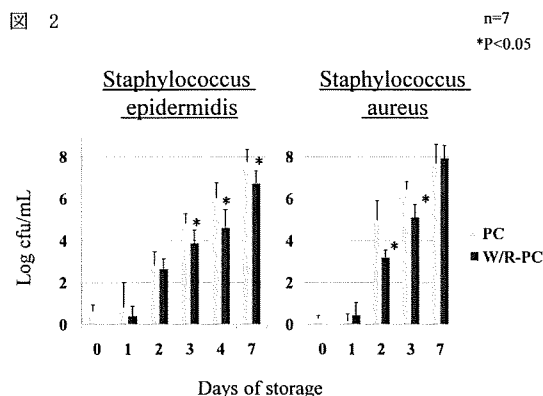
2. 実験に使用した菌

Staphylococcus epidermidis(NRBC#13276),
Staphylococcus aureus(ATCC#49423),
Streptococcus dysgalactiae(臨床株), *Esherichia coli*(ATCC#11775),
Bacillus cereus(ATCC#10876),
Propionibacterium acune(ATCC#6961),
Serratia marcescens (ATCC#14756),
Klebsiella pneumonia(JCM#1662)

C. 研究結果

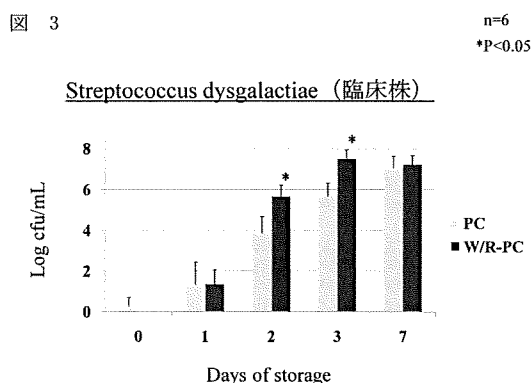
1. *Staphylococcus epidermidis* & *Staphylococcus aureus*

Plasma-PC および W/R-PC とも菌が増殖した。分割直後(day 1)では菌数に差が無かった。Day 2 以降では後者における菌の増殖は有意に遅かった(図 2)。



2. *Streptococcus dysgalactiae*

分離直後(day 1)には菌数に差がなかったが、分離後1日後(day2)には、W/R-PC 中の菌数が有意に多くなった(図 3)。



3. *Esherichia coli*

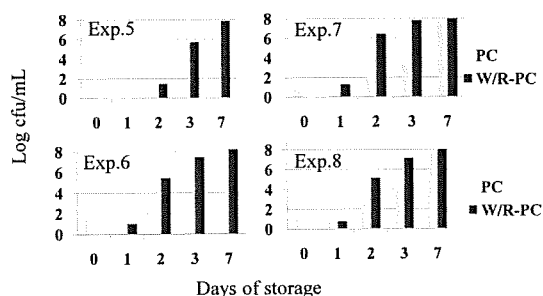
実験は 8 回行った。Exp. 1-4、day 0 の時点ですでに菌は検出できなかった。Exp.5,6 では 4 回の実験では、W/R-PC のみ菌の増殖が確認された。Exp.7,8 では plasma-PC, W/R-PC とも菌の増殖が確認され、両者の菌数に有

意差は認められなかった(図 4)。

図 4 *Escherichia coli* 実験は8回行った (Exp.1~8)

Escherichia coli

Exp.1~4はPC,W/R-PCいずれの場合も増殖しなかった。



4. *Bacillus cereus*

Plasma-PC と W/R-PC 中の菌の増殖には明確な差は無かった。(データは示さず)

5. *Propionibacterium acune*, *Serratia*

marcescens, *Klebsiella pneumonia*

これらの細菌は、day 0 から増殖は認めなかった(データは示さず)。

図 5 にこれらの結果をまとめた。

図 5 まとめ

- ・洗浄により増殖が抑制された菌
Staphylococcus aureus (NRBC#13276)
Staphylococcus epidermidis (ATCC#49134)
 - ・洗浄により増殖が促進された(場合があった)菌
Escherichia coli (ATCC#11775)
Streptococcus dysgalactiae (臨床株)
 - ・洗浄しても増殖速度がPC中と同程度の菌 (データ示さず)
Bacillus cereus (ATCC#10876)
 - ・いずれにおいても増殖しなかった菌 (データ示さず)
 * *Propionibacterium acnes* (ATCC#6919)
 ** *Serratia marcescens* (ATCC#14756)
 ** *Klebsiella pneumonia* (JCM#1662)
- ・ 7日間の保存中、log(cfu/mL)が0以上1以下であった。
 ** Day0以外ではlog(cfu/mL)が0であった。

D. 考察

Day 1 の菌濃度から類推すると、遠心操作により血小板と血漿を分離するが、用いた遠心条件下では、血小板とともに沈殿してくる菌が相当量あると思われる。

Staphylococcus や *Bacillus* では血漿除去後 1 日経過後の W/R-PC 中の菌濃度は、

plasma-PC 中の菌濃度と同等あるいは低値を示した。しかしながら、*E.coli* や *Streptococcus* では、W/R-PC では plasma-PC と比較してよりよく増殖する場合のあることが示された。*E.coli* を用いた実験結果から血漿の殺菌作用には個人差のあることも示唆された。

以上のことから、血漿濃度の非常に低い W/R-PC の状態にした場合には、できるだけ速やかに(24 時間以内に)使用することが望ましい。

E. 結論

調べ得たいくつかの菌では、洗浄血小板製剤中で、より良く増殖しうる場合のあることが示された。従って、洗浄血小板を調整後は速やかに投与することが望まれる。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

論文発表

1. Azuma H, Ikeda H:
 Washed/replaced(W/R-PC). *Vox Sanguinis*, ISBT Science Series 4: 342-346, 2009.
2. Hirayama J, Kojima S, Azuma H, et al: The effect of radiation on platelet in M-sol additive solution with 30% residual plasma. *Transfusion* 49:813-815, 2009.
3. 平山順一、東 寛 他: 輸血用血小板保存液の進歩. *検査と技術* 37:339-344.
4. 秋野光明、田村暁、東 寛 他: 二種類の洗浄・置換液に関する検討. 日本輸血細胞治療学会 (受理).
5. 秋野光明、平山順一、東 寛 他: 洗浄・置換血小板に用いる洗浄・置換液(M-sol)の製造と保存. 日本輸血細胞治療学会 (受理).

学会発表

1. 東 寛：置換血小板による副作用防止.
第 57 回日本輸血・細胞治療学会総会
2009 年 5 月、埼玉
2. Azuma H, Ikeda H: Washed/replaced
platelet concentrates. XXth Regional
Congress of the ISBT Nagoya, Japan,
November, 2009
3. Hirayma J, Azuma H et al: Storage of
platelets washed with M-sol and
commercially available additive solutions.
XXth Regional Congress of the ISBT
Nagoya, Japan, November, 2009.

分担研究報告書

輸血関連急性肺障害(TRALI)に関する基礎的、臨床的研究

分担研究者： 岡崎 仁（東京都赤十字血液センター
兼 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所）

研究協力者： 橋本志歩（日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所）
中島文明（日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所）

研究要旨

【背景・目的】 輸血関連急性肺障害（TRALI）は重篤な非溶血性輸血副作用のひとつであり、時として致命的となることがある。強い抗体を持っている献血者から血小板製剤を作らないようにすることは血小板製剤による TRALI の予防に有益な可能性がある。実際特定の献血者に対する白血球抗体スクリーニングは欧米の血液センターの中には実施しているところもある。献血者の中にどれくらい白血球抗体保有者がいるかのデータもそろいつつある。しかし、現時点で日本人における抗体保有率のデータはほとんどない。この研究では現時点における性別・年代別の HLA 抗体保有率を ELISA 法により算出し、今後の血小板製剤による TRALI 対策についての基礎データを報告する。

【方法】 東京都赤十字血液センターにおける献血者について、ELISA 法を用い、抗 HLA 抗体(class I および II)をスクリーニングした。

【結果と考察】 自動化された ELISA 法を用い、献血者 727 人（男性 548 人、女性 179 人）について HLA 抗体の陽性率を検討した。女性の献血者では 20 代 30 代では約 5%、40 代では約 20%と上昇するが、50 代では約 10%と逆に減少していた。これに対し、男性献血者では 20 代で約 3%、30 代では約 1%の陽性者がいた。この男性での陽性反応は、非特異的なものと考えられるので、女性献血者の本当の HLA 抗体の陽性率もやや多く見積もっている可能性がある。これまでの日本での TRALI(特に献血者の HLA 抗体の特異性が患者の HLA 抗原に一致したいわゆる immune TRALI の例では 30 代より上の女性の血液が原因となっている症例が多いこととも合致する結果である。今後検体数を増やして、地域差なども考慮に入れ、日本の HLA 抗体保有者の率を調べ、どのくらいのカットオフ値を定めれば、有効に TRALI の予防に役立ち、血液(特に血小板製剤)の安定供給に及ぼす影響を最小限に

抑えることができるのかの検証を行う必要があると考えられる。

A. 研究目的

輸血関連急性肺障害 (TRALI: Transfusion-related acute lung injury)は重篤な非溶血性副作用のひとつであり、本邦の

報告、海外の報告からすると、死亡率は約 10-15%と推定されている。輸血中もしくは輸血後数時間で発症する急性の呼吸不全を特徴とし、臨床的には acute lung injury

(ALI) /acute respiratory distress syndrome (ARDS) の概念の中に含まれる病態である。原因についてはすべてが解明されたわけではないが、これまでわかっていることは、血液製剤中の抗白血球抗体、活性脂質、CD40Lなどの生理活性物質が、患者血液中の白血球を活性化し、肺毛細血管内皮細胞の透過性を亢進させ、急性肺障害を引き起こすというものである。抗白血球抗体は一般的には同種血輸血を受けて感作されたり、妊娠出産を契機に母体が胎児の抗原により感作されたり、することで生じる抗体であり、活性脂質、CD40L は保存された血液製剤中に蓄積されてくる物質である。TRALI を起こした患者に輸血されたドナーの血液中に抗白血球抗体が検出される頻度は、統計的に有意に高いことがわかっており、海外の報告でも抗白血球抗体が TRALI 発症に関与していることはまぎれもないと考えられている。実験的にも TRALI を惹起した抗白血球抗体陽性のドナーの血液を用いた実験系で、特異性の一致した単球を用い、活性化が見られることを報告しており、TRALI の initiation に抗白血球抗体が関与している傍証を示した。しかし、経産婦の 2-3 割程度に抗白血球抗体が認められるという報告もあり、患者抗原とドナーの抗体が一致する確率は、TRALI の発生率と比べるとかなり高く、すべての抗白血球抗体が TRALI を惹起するとは考えられない。これまでの研究により TRALI を起こしたと考えられるドナー血液中の抗白血球抗体の特異性と患者の白血球抗原の一致した例についての詳細な検討の結果、抗 HLA 抗体の強さは TRALI 発症と相関がある可能性が示唆された。

抗白血球抗体は経産婦に多く認められることから、イギリスをはじめとするヨーロッパ諸国やアメリカでは血漿成分を多く含む製剤（新鮮凍結血漿など）において女性献血者からの血液をできるだけ使用しないよう

にして、TRALI の予防策としており、一定の効果を上げている。我が国においては使用量の多い 400ml 献血由来の新鮮凍結血漿は男性の献血者の比率が約 4 分の 3 を占めており、この比率を上げる方策を検討中である。これに対して、血小板製剤に関しては世界的にみても対策が遅れているのが現状である。我が国の血小板製剤はすべて成分採血由来であり、女性献血者がそのうち約 3 割を占めていることから、女性からの採血をなくすことは、安定供給に支障を来すことになる。昨年までの研究において強度が高い抗体が TRALI を引き起こしやすい傾向が認められたため、強い抗体を持っている献血者から血小板製剤を作らないようにすることは血小板製剤による TRALI の予防に有益な可能性がある。実際特定の献血者に対する白血球抗体スクリーニングはすでに米国では実施されている施設もあり、TRALI の予防を積極的に進めている。現在使用している HLA 抗体検出のための鋭敏なビーズを用いた方法は比較的高価であり、よりスクリーニングに適した簡便な ELISA 法の導入を視野に入れ、日本の献血者の HLA 抗体保有率について調べることにした。

B. 研究方法

東京都赤十字血液センターにおける献血者につき、残余検体を用い自動化された ELISA 法で AbSCREEN-HLA (Biotest) を用いて、抗 HLA 抗体をスクリーニングした。

C. 研究結果

図 1 のグラフに示すとおり、AbSCREEN を用いて東京都赤十字血液センターから提供された献血者血液 727 人分の血液について、自動化 ELISA の機械を使用し解析した。今回はメーカーの推奨する検査のカットオフ値 OD 比 = 2.0 をカットオフとして用い、男性 548 人、女性 179 人の献血者を解析し、年

代別に陽性率を算出した。女性の献血者では20代30代では約5%、40代では約20%と上昇するが、50代では約10%と逆に減少していた。これに対し、男性献血者では20代で約3%、30代では約1%の陽性者がいた。

D. 考察

女性での陽性率は海外で報告されている値とそれほど差異はないが、妊娠出産の回数の違い、HLA抗原のdiversityの広がりなどにより国によって差が出る可能性がある。また、男性での陽性反応は、非特異的なものと考えられるので、女性献血者の本当のHLA抗体の陽性率もやや多く見積もっている可能性がある。これまでの日本でのTRALI(特に献血者のHLA抗体の特異性が患者のHLA抗原に一致したいわゆるimmune TRALI)の例では30代以上の女性の血液が原因となっている例が多いこととも合致する結果である。今後検体数を増やして、地域差なども考慮に入れ、日本のHLA抗体保有者の率を調べ、どのくらいのカットオフ値を定めれば、有効にTRALIの予防に役立ち、血液(特に血小板製剤)の安定供給に及ぼす影響を最小限に抑えることができるのかの検証を行う必要があると考えられる。

HLA抗体だけでなく顆粒球抗体もTRALIの原因となることが知られているが、現在、顆粒球抗体のスクリーニングとして使用できるような簡便な方法がないため、今回の検討ではHLA抗体のみの結果を示した。

E. 研究発表

1) 論文発表

1. Nakazawa H, Ohnishi H, Okazaki H, Hashimoto S, Hotta H, Watanabe T, Ohkawa R, Yatomi Y, Nakajima K, Iwao Y, Takamoto S, Shimizu M, Iijima T: Impact of fresh-frozen plasma from male-only donors versus mixed-sex donors on postoperative respiratory function in

surgical patients: a prospective case-controlled study. *Transfusion* 49: 2434-41, 2009:

2. Okazaki H: Fight against TRALI (Recent advances). *Vox Sang* ISBT Science Series 4: 375-382, 2009

3. 岡崎 仁: 顆粒球抗原・抗体とTRALI(輸血関連急性肺障害): 月刊 *Medical Technology* 別冊: 血小板/顆粒球 抗原・抗体検査標準マニュアル: 233-239, 2009

2) 学会、研究会発表

1. Iijima T, Nakazawa H, Okazaki H, Hashimoto S, Hotta H, Ohkawa R, Yatomi Y, Takamoto S, Shimizu M, Ohnishi H. AABB annual meeting and TXPO 2009, (New Orleans, USA) (Oct/24/2009)

2. Okazaki H: Fight against TRALI. XXth Regional Congress of ISBT, Asia (Nagoya, Japan) (Nov/14-18/2009)

3. Hirata Y, Ishimaru F, Nakajima F, Hashimoto S, Tanabe N, Chikayuki M, Naoki K, Okazaki H, Toki H: anti-major histocompatibility complex class I-related chain A antibodies in blood components implicated in TRALI and volunteer blood donors in Japan. XXth Regional Congress of ISBT, Asia (Nagoya, Japan) (Nov/14-18/2009)

4. Momose S, Taira R, Muraoka M, Goto N, Uchida S, Okazaki H, Hino S, Tadokoro K: Haemovigilance data for five years by Japanese Red Cross blood service: transfusion-related adverse reactions and infections from 2004 to 2008. XXth Regional Congress of ISBT, Asia (Nagoya, Japan) (Nov/14-18/2009)

5. 岡崎 仁: 教育講演 TRALI・TACOの病態と診断. 第57回日本輸血・細胞治療学会(大宮)(平成21年5月30日)

6. 岡崎 仁: TRALI診断と対策～白血球高

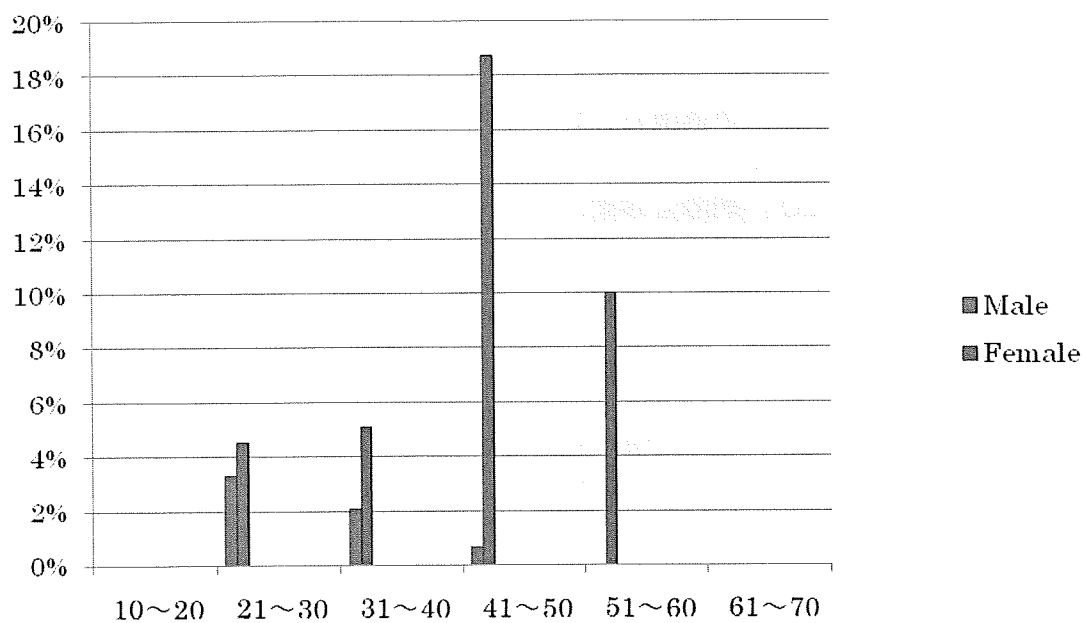
抗体～. 大学病院臨床技術者研修 (東京)
(平成 21 年 6 月 11 日)

7. 岡崎 仁: TRALI の鑑別診断のための NT-pro BNP 測定の有用性. 第 49 回日本呼吸器学会学術講演会 (東京) (平成 21 年 6 月 12-14 日)
8. 岡崎 仁: TRALI 診断と対策～白血球高抗体～. 富山県輸血懇話会学術講演会 (富山) (平成 21 年 11 月 12 日)
9. 岡崎 仁: TRALI・TACO の病態と診断.

神奈川県臨床衛生検査技師会 第 4 回輸血検査研修会 (横浜) (平成 21 年 12 月 4 日)

10. 岡崎 仁: TRALI・TACO の病態と診断. 愛媛県輸血療法委員会合同会議 (松山) (平成 22 年 1 月 31 日)

図1. ELISA法 (Biotest 自動化) による抗HLA抗体(classI,II)陽性率
(カットオフはOD比=2.0) 男性548人、女性179人の結果。



分担研究報告書

非溶血性輸血副作用における Siglec-14 抗体の重要性

分担研究者： 平山 文也（大阪府赤十字血液センター）

研究協力者： 保井 一太（大阪府赤十字血液センター）

松山 宣樹（大阪府赤十字血液センター）

研究要旨

【目的】 非溶血性輸血副作用の一部では、輸血用血液製剤に混在する白血球抗体が原因となる場合がある。最近、白血球などの免疫担当細胞の表面上に Siglec-14 と呼ばれるシアール酸受容体が発現しており、Siglec-14 を欠損する健常者が存在するところが明らかとなった。Siglec-14 を欠損する健常者が妊娠、出産などで感作され抗体を持つに至り、そのようなヒトが献血者になれば輸血に伴って Siglec-14 抗体が患者に輸注され、ひいては非溶血性輸血副作用を惹起する可能性が想定される。そこで本研究では、献血者における Siglec-14 欠損率、献血者における Siglec-14 抗体保有率、非溶血性輸血副作用原因製剤中の Siglec-14 抗体陽性率、Siglec-14 抗体による好中球活性化能を検討した。

【方法】 1. 献血者における Siglec-14 欠損率：Siglec-14 モノクローナル抗体が献血者末梢血白血球に結合するか否かをフローサイトメーターを用いて検討した。2. 献血者における Siglec-14 抗体保有率：献血者血漿を試料として、Siglec-14 発現細胞株と反応させることにより抗体の有無を検討した。3. 非溶血性輸血副作用原因製剤中の Siglec-14 抗体陽性率：日本赤十字社中央血液研究所より非溶血性輸血副作用原因製剤の上清を入手し、Siglec-14 発現細胞株と反応させることにより抗体の有無を検討した。また、非溶血性輸血副作用の種類別の検討も行った。4. Siglec-14 抗体による好中球活性化能：好中球活性化試験により、Mac-1 の発現上昇および heparin binding protein (HBP) の放出を指標に検討した。

【結果と考察】 1. 献血者における Siglec-14 欠損率：10.8% (54/502) 2. 献血者における Siglec-14 抗体保有率：0.8% (4/500) 3. 非溶血性輸血副作用原因製剤中の Siglec-14 抗体陽性率：5.3% (11/207)、TRALI 事例での陽性率：17.2% (5/29)、TRALI 以外の事例での陽性率：3.4% (6/178) 4. Siglec-14 抗体による好中球活性化能：Siglec-14 抗体陽性の TRALI 事例のうち、3 例で検討可能であった。うち 1 例で好中球の活性化が認められた。以上より、Siglec-14 抗体は非溶血性輸血副作用、特に TRALI の原因になる可能性が示唆された。

A.研究目的

非溶血性輸血副作用の一部では、輸血用血液製剤に混在する白血球抗体が原因となる場合がある。最近、白血球などの免疫担当細胞の表面上に Siglec-14 と呼ばれるシアル酸受容体が発現しており、Siglec-14 を欠損する健常者が存在するところが明らかとなった。Siglec-14 を欠損する健常者が妊娠、出産などで感作され抗体を持つに至り、そのようなヒトが献血者になれば輸血により Siglec-14 抗体が輸注され、ひいては非溶血性輸血副作用を惹起する可能性が想定される。そこで本研究では、献血者における Siglec-14 欠損率、献血者における Siglec-14 抗体保有率、非溶血性輸血副作用原因製剤中の Siglec-14 抗体陽性率、Siglec-14 抗体による好中球活性化能を検討した。

B.研究方法

1. 献血者における Siglec-14 欠損率：Siglec-14 モノクローナル抗体が献血者末梢血白血球に結合するか否かをフローサイトメーターを用いて検討した。2. 献血者における Siglec-14 抗体保有率：献血者血漿を試料として、Siglec-14 発現細胞株と反応させることにより抗体の有無を検討した。3. 非溶血性輸血副作用原因製剤中の Siglec-14 抗体陽性率：日本赤十字社中央血液研究所より非溶血性輸血副作用原因製剤の上清を入手し、Siglec-14 発現細胞株と反応させることにより抗体の有無を検討した。また、非溶血性輸血副作用の種類別の検討も行った。4. Siglec-14 抗体による好中球活性化能：好中球活性化試験（厚生労働科学研究費補助金：免疫学的輸血副作用の把握とその対応に関する研究 H17-医薬一般-053 にて報告）により、Mac-1 の発現上昇および heparin binding protein (HBP) の放出を指標に検討した。

C.研究結果

1. 献血者における Siglec-14 欠損率：10.8% (54/502) 2. 献血者における Siglec-14 抗体保有率：0.8% (4/500) (図1) 3. 非溶血性輸血副作用原因製剤中の Siglec-14 抗体陽性率：5.3% (11/207)、TRALI 事例での陽性率：17.2% (5/29)、TRALI 以外の事例での陽性率：3.4% (6/178) (図1) 4. Siglec-14 抗体による好中球活性化能：Siglec-14 抗体陽性の TRALI 事例のうち、3 例で検討可能であった。うち1例は、健常人血しょうに比べ siglec-14 陽性の好中球を有意に活性化させ、その顆粒タンパクである HBP を放出させた。一方、siglec-14 陰性の好中球ではこの活性化は見られなかった。(図2)

D.考察

以上より、Siglec-14 抗体は非溶血性輸血副作用、特に TRALI の原因になる可能性が示唆された。

E.発表論文

1. Matsuyama N, Hirayama F, Wakamoto S, Yasui K, Furuta RA, Kimura T, Taniue A, Fukumori Y, Fujihara M, Azuma H, Ikeda H, Tani Y, Shibata H. Application of the basophil activation test in the analysis of allergic transfusion reactions. *Transfus Med.* 2009 19: 274-7.
2. Hirayama F. Recent advances in laboratory assays for nonhemolytic transfusion reactions. *Transfusion.* 2010 50: 252-63.

図1 Siglec-14 抗体の陽性率

① 血液製剤全体 vs 副作用製剤

献血者	0.8% (4/500)	}	p<0.01
副作用製剤	5.3% (11/207)		

→ Siglec-14 抗体は副作用発症の原因となりうる

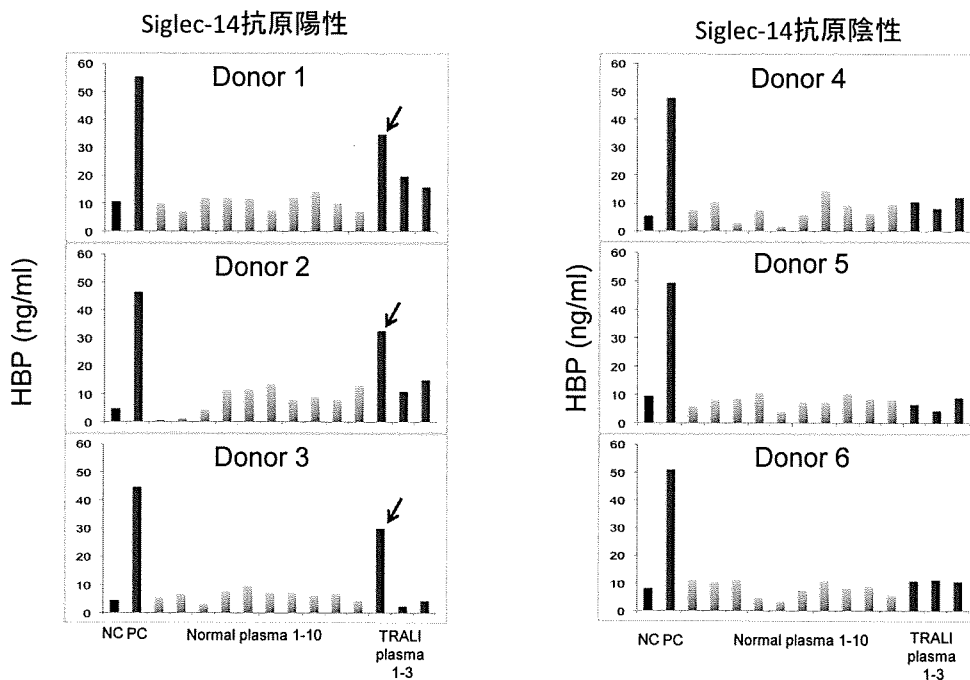
② TRALI vs TRALI 以外

TRALI	17.2% (5/ 29)	}	p<0.01
TRALI 以外	3.4% (6/178)		

蕁麻疹	5.9% (2/34)
発熱	2.3% (1/43)
アナフィラキシー	5.8% (3/52)
その他	0% (0/49)

→ Siglec-14 抗体はTRALI 発症の原因となりうる

図2 Siglec-14抗体による好中球顆粒放出



分担研究報告書

血小板濃厚液の輸血後呼吸機能に及ぼす影響—中間報告—

分担研究者： 飯島 毅彦（杏林大学医学部麻酔科学）
研究協力者： 金井理一郎（杏林大学医学部麻酔科学）
大西 宏明（杏林大学医学部臨床検査医学）
岡崎 仁（日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所）
橋本志歩（日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所）
矢富 裕（東京大学医学部医学系研究科臨床病態検査医学）
大川龍之介（東京大学医学部医学系研究科臨床病態検査医学）
渡邊 卓（杏林大学医学部臨床検査医学）
清水 勝（西城病院）

研究要旨

【目的】 抗白血球抗体やその他の免疫学的活性物質は TRALI 発症の原因因子としての関与が考えられている。本邦では他の血液製剤と比較して血小板濃厚液による TRALI の発症が多く、血小板濃厚液について輸血後呼吸障害に対する安全性を検討する必要がある。本研究では血小板濃厚液投与後に呼吸機能を観察し、血小板濃厚液に含まれている免疫学的活性物質との関連についての研究を計画した。平成 21 年 10 月より開始しているが、いまだ研究の途上であるのでこれまでに得られた結果について報告する。

【方法】 平成 21 年 10 月 1 日から平成 22 年 3 月 31 日までの外科手術中あるいは ICU に入室時に血小板濃厚液を投与した患者を対象とする。血小板濃厚液に付属しているセグメントおよびバッグ内に残った製剤を遠心血漿分離し、冷凍保存する。投与された患者の 6 時間以内の血液ガスを記録保存する。術前に急性肺障害の risk がなく、投与後に P/F (P_{O2}/F_iO₂) が 300 以下に低下したものはレントゲン所見を確認し、正常、心原性肺水腫（TACO (Transfusion-related circulatory overload) 疑い）、浸潤性肺水腫（TRALI (Transfusion-related acute lung injury) 疑い）、それ以外、と 4 つのカテゴリに分け、急性呼吸障害の診断を行う。血小板製剤中に含まれる抗白血球抗体、および Lysophosphatidylcholine (LPC) を測定し、観察された投与後の呼吸状態との関連を検討し、血小板製剤の呼吸機能に影響を及ぼす因子を検討する。

抗白血球抗体は日本赤十字社中央血液研究所、LPC は東京大学臨床検査医学にて測定を行う。対象患者の手術、麻酔記録のデータ、患者背景をもとに血小板輸血後、呼吸機能の低下した症例の因子分析を行う。

【結果と考察】 現在、臨床データの収集期間であるので、2 月 4 日までの症例についての中間集計を行った。

その結果、対象症例は46例であり、心臓外科39例(on pump 30例、off pump 9例)、その他7例(産科2例、整形外科、消化器外科、呼吸器外科、婦人科、救命センターそれぞれ1例ずつ)であった。男性34名、女性12名であった。患者の平均年齢は69.2±13歳、身長162.7±8.0cm 体重60.6±13.2kgであった。術前よりP/F<300の症例は8例、輸血後に呼吸状態が悪くならなかった症例は12例、輸血後にP/F<300となった症例は26例であった。そのうち、胸部レントゲン像から呼吸不全を分類し、レントゲン像の変化が見られなかったもの10例、心原性肺水腫10例、浸潤性肺水腫4例、判別困難なもの2例であった。現在まで輸血関連因子と呼吸不全の関係は明らかではない。今後症例を蓄積し、統計的に輸血関連因子と呼吸不全の関係を明らかにする。

A. 研究目的

輸血関連急性肺障害は、血液製剤に含まれる抗白血球抗体やその他の免疫学的活性物質により発症すると考えられている。本邦では他の血液製剤と比較して血小板濃厚液によるTRALIの発症が多く、血小板濃厚液について輸血後呼吸障害に対する安全性を検討する必要がある¹⁾。本邦では血小板濃厚液はapheresis由来である。したがって、一人のドナーからの血漿のみであるために、複数のドナーの貯蔵血から製剤化するよりも抗白血球抗体などの免疫活性物質が高濃度になる可能性がある。本研究では血小板濃厚液投与後に呼吸機能を観察し、血小板濃厚液に含まれている免疫学的活性物質との関連についての研究を計画した。平成21年10月より開始しているが、いまだ研究の途中であるのでこれまでに得られた結果について報告する。

B. 研究方法

平成21年10月1日から平成22年3月31日までの外科手術中あるいはICUに入室時に血小板濃厚液を投与した患者を対象とする。血小板濃厚液に付属しているセグメントおよびバッグ内に残った製剤を遠心血漿分離し、冷凍保存する。投与された患者の6時間以内の血液ガスを記録保存する。術前に急性肺障害のriskがなく、投与後にP/F(P_{O2}/F_{iO2})が300以下に低下したものはレントゲン所見

を確認し、正常、心原性肺水腫(TACO(Transfusion-related circulatory overload)疑い)、浸潤性肺水腫(TRALI(Transfusion-related acute lung injury)疑い)それ以外、と4つのカテゴリに分け、急性呼吸障害の診断を行う。血小板製剤中に含まれる抗白血球抗体、およびLysophosphatidylcholine (LPC)を測定し、観察された投与後の呼吸状態との関連を検討し、血小板製剤の呼吸機能に影響を及ぼす因子を検討する。

抗白血球抗体は日本赤十字社中央血液研究所、LPCは東京大学臨床検査医学にて測定を行う。対象患者の手術、麻酔記録のデータ、患者背景をもとに血小板輸血後、呼吸機能の低下した症例の因子分析を行う。

C. 研究結果

現在、臨床データの収集期間であるので、2月4日までの症例についての中間集計を行った。

その結果、対象症例は46例であり、心臓外科39例(on pump 30例、off pump 9例)、その他7例(産科2例、整形外科、消化器外科、呼吸器外科、婦人科、救命センターそれぞれ1例ずつ)であった。男性34名、女性12名であった。患者の平均年齢は69.2±13歳、身長162.7±8.0cm 体重60.6±13.2kgであった。術前よりP/F<300の症例は8例、輸血後に呼吸状態が悪くならなかった症例は