

B. 研究方法

慶應義塾大学病院では、輸血用血液製剤に伴う急性の副作用報告書の提出（原則、輸血後 24 時間以内）を副作用の有無にかかわらずすべての輸血で義務づけている。そして、提出された報告書は輸血部門で一元的に集計し、問題となる副作用報告は直接担当医に連絡してその評価を行い、原因の精査や対応策を提案実施している。そこで、平成 21 年次（1 月 1 日から 12 月 31 日）と平成 22 年次の 1 年間における輸血用血液製剤の副作用報告書を比較分析して、研究班の基準に基づいて症状別（頻度の高い項目を抜粋）、診断名別に集計した（表 1-1、1-2、1-3）。さらに、血小板輸血に伴う副作用について、その頻度や投与患者の副作用予防前投薬の有無や内容、血小板製剤の処理（未処理、血漿減量書処理、血漿置換処理）の有無などを、平成 21 年次（表 2-1）と平成 22 年次（表 2-2）で比較して、血漿置換処理（使用患者の経過：表 3）の有効性を検証した。なお、院内副作用対応マニュアルに従って記載された報告書に基づいて報告医師が輸血副作用の可能性が確実もしくは高いもののみを抽出した（可能性の低いと記載されたものは除外した）。血小板製剤の血漿置換処理は、前回報告の通り施行した。すなわち、製剤へ ACD-A 液を 10% (V/W) 添加し、遠心処理後上清の血漿を可及的除去後、血小板ペレットを Seto 液/G-ソリューション（ヴィーン D: 500ml、蒸留水: 500ml、ACD-A: 500ml、メイロン: 500ml）にて再浮遊した。上記処理により、血小板の平均±標準偏差回収率と血漿の平均±標準偏差除去率は、血漿減量 (N=48) と置換処理 (N=194) でそれぞれ、 $94.5 \pm 7.2\%$ と $45.2 \pm 3.1\%$ 、 $95.3 \pm 4.2\%$ と $94.1 \pm 4.1\%$ であった。なお、血漿置換 PC の適応は、1) 2 回以上のアレルギー反応、2) 重症の反応、3) 主治医が希望した場合、4) ABO 不適合（マイナーミスマッチ）HLA 適合 PC、とした。

C. 研究結果と考察

平成 21 年次、22 年次の年間に輸血された各製剤（RC-MAP、FFP、PC）のバッグ数（表 1-1）と、延べ患者数と実患者数（表 1-2、1-3）を比較すると、RC-MAP はそれぞれの指標に大きな増減はなかったが、FFP はバッグ数と延べ患者数が大幅に増加した。また、PC はバッグ数や延べ患者数で増減はなかったが、実患者数が大幅に増加した。これらの背景のもと、実際の輸血副作用症状項目では、とくに発疹・蕁麻疹の項目では、FFP でバッグ数、延べ患者数、実患者数ともかなり増加したのに比較して、RC-MAP や PC では著しく減少した。また、重症アレルギーも顕著に減少した。そこで、平成 21 年次（血漿減量 PC を使用）と平成 22 年次（2 月 13 日より血漿置換 PC を使用）の副作用報告内容を比較することで血漿減量 PC と血漿置換 PC の効果を検証した（表 2-1 と表 2-2）。既に記したように、血小板輸血の件数は変化なかったにもかかわらず、輸血副作用は、平成 21 年次では、血漿減量（濃縮）PC で 6.1% と未処理 PC で 6.4% と変化なかったが、平成 22 年次では、血漿置換 PC で 0.6% と未処理 PC で 3.6%（副作用の発生率が前年に比較して半減したのは、PC 輸血の件数と延べ患者数が変化しないのに、実患者数が、422 人から 644 人に増加したためと推定できる。）と統計学的に有意な差異 ($P < 0.01$) があることがわかった。そこで、実際の血漿置換 PC 使用症例（6 例）を調査したところ、血漿置換 PC の使用で、アレルギー症状は 100% (0/97) 予防されたことがわかった（表 3）。洗浄操作を加えないで作成できる血漿置換 PC は、血小板に伴う急性副反応の予防手段として、医療機関における院内製剤の第一選択であると考えられる。

D. 結論

H21 年までの検討で、アレルギー反応に対する血漿減量 PC の予防効果を示すデータが得られたが、その有効性は洗浄 PC に比較して不十分であることが示唆された。今回

の before and after 検討により、洗浄 PC と同様に、血漿置換 PC がアレルギー反応の予防に大変有効（ほぼ 100%の予防効果）であることが示された。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

なし

G. 知的所有権の出願・登録

なし

表1-1 非溶血性輸血副作用報告数/バッグ数
 - H21年次とH22年次の比較 -

1:血液製剤の使用量(バッグ数)

	H21	H22
RC-MAP	7,444	7,894
FFP	2,219	2,911
PC	3,487	3,556

2:副作用の発生件数

副作用項目		副作用件数					
		RC-MAP		FFP		PC	
		H21	H22	H21	H22	H21	H22
発生件数		25	27	14	26	179	101
症状項目	1)発熱	3	5	0	0	8	2
	2)発赤・顔面紅潮	5	6	4	10	11	2
	3)発疹・蕁麻疹	24	14	12	20	151	92
	4)呼吸困難	0	1	0	1	9	0
	5)血圧低下	0	2	1	2	1	2
重症アレルギー反応		0	0	3	0	7	1
TRALI		0	0	0	0	0	0
輸血関連循環過負荷(TACO)		0	0	0	0	0	0

表1-2 非溶血性輸血副作用報告数/のべ患者数
- H21年次とH22次の比較 -

1:血液製剤の使用量(のべ患者数)

	H21	H22
RC-MAP	4,995	5,079
FFP	1,015	1,468
PC	3,276	3,263

2:副作用の発生件数

副作用項目		副作用件数					
		RC-MAP		FFP		PC	
		H21	H22	H21	H22	H21	H22
発生件数		25	27	14	26	179	101
症状項目	1)発熱	3	5	0	0	8	2
	2)発赤・顔面紅潮	5	6	4	10	11	2
	3)発疹・蕁麻疹	24	14	12	20	151	92
	4)呼吸困難	0	1	0	1	9	0
	5)血圧低下	0	2	1	2	1	2
重症アレルギー反応		0	0	3	0	7	1
TRALI		0	0	0	0	0	0
輸血関連循環過負荷(TACO)		0	0	0	0	0	0

表1-3 非溶血性輸血副作用報告数/実患者数
- H21年次とH22次の比較 -

1:血液製剤の使用量(実患者数)

	H21	H22
RC-MAP	1,296	1,347
FFP	417	470
PC	422	660

2:副作用の発生件数

副作用項目		副作用件数					
		RC-MAP		FFP		PC	
		H21	H22	H21	H22	H21	H22
発生件数		22	27	9	18	60	52
症状項目	1)発熱	3	5	0	0	6	2
	2)発赤・顔面紅潮	5	6	4	7	8	1
	3)発疹・蕁麻疹	21	14	8	13	53	50
	4)呼吸困難	0	1	0	1	3	0
	5)血圧低下	0	2	1	2	1	2
重症アレルギー反応		0	0	3	0	7	1
TRALI		0	0	0	0	0	0
輸血関連循環過負荷(TACO)		0	0	0	0	0	0

表2-1 2009年(年次)血小板製剤における副作用発生状況

血小板輸血全件数	3276	
副作用報告書回収件数	未回収	回収
	47 1.4%	3229 98.6%

副作用	無し	有
	3025 93.7%	204 6.3%

前処置	無し	有			
	1823	抗ヒスタミン剤	ステロイド2種類以上	強ミノ	その他
		220	317	617	42

血小板処理 輸血回数	
実患者数	

未処理	濃縮	洗浄
2845	169	11
401	10	2

未処理	濃縮	洗浄
193	11	0
74	6	0

濃縮PC使用件数	180
副作用無し	169
副作用有	11
	6.1%

未処理PC使用件数	3038
副作用無し	2845
副作用有	193
	6.4%

処理件数での副作用発生率

表2-2 2010年(年次)血小板輸血における副作用発生状況 (2010.2.13.より濃縮/洗浄から置換に全面変更)

血小板輸血全件数	3263		
副作用報告書回収件数	未回収	回収	
	57	3206	
	1.7%	98.3%	
副作用	無し	有	
	3095	111	
	96.5%	3.5%	
前置置	無し	有	
	1968	1300	
	480	230	414
	抗ヒスタミン剤	ステロイド	2種類以上
	10	17	35
	強ミノ	0	0
	その他	1	1

血漿置換は2010.2.21以降実施

血小板処理	
輸血回数	
実患者数	

未処理	濃縮	置換	PC	HLA-PC
3016	14	174	96	78
	4	14	6	8
				14

↑
ABO不適合HLA-PCの血漿置換

血漿置換PC使用件数	175
副作用無し	174
副作用有	1
	0.6%

未処理PC使用件数	3031
副作用無し	2931
副作用有	110
	3.6%

← 処理件数での副作用発生率

未処理	濃縮	置換	HLA-PC
110	1	1	1
	1	1	1

↑
軽度・首に発疹がいくつか見られた

表3 2010年(年次)血漿置換血小板製剤使用患者リスト

患者#	疾患/診療科	ID/性別	使用期間	処理	副作用発生件数	割合	副作用
1	AML/血内	AF/F	2006.8.25~2006.12.29	未処理	3/21	14.3%	蕁麻疹
			2007.1.12~2010.2.19	濃縮	7/91	7.7%	蕁麻疹
			2010.3.5~2010.6.4	置換	0/7	0.0%	
			2010.9.26以降	未処理	0/12		
2	ALL/小児	OM/M	2010.6.26~2010.8.21	無し	2/8	25.0%	蕁麻疹他 2回とも輸血中止
			2010.8.23~2010.12.31	置換	0/7	0.0%	
3	AML/血内	SN/M	2008.8.25~2008.12.10	未処理	3/11	27.3%	掻痒感×2、蕁麻疹と発熱
			2008.12.15~2010.1.7	濃縮	1/18	5.6%	蕁麻疹
			2010.2.17~2010.11.2	置換	0/13	0.0%	
			2009.11.11~2009.11.20	未処理	2/7	28.6%	蕁麻疹掻痒感、蕁麻疹発熱etc輸血中止
4	AML/血内	NY/M	2009.11.21~2010.2.7	濃縮	2/12	16.7%	蕁麻疹×2
			2010.3.26~2010.6.14	置換	0/21	0.0%	
5	AML/血内	NS/M	2010.1.23~2010.2.16	未処理	8/16	50.0%	蕁麻疹×7、掻痒感×1
			2010.2.23~2010.4.9	置換	0/33	0.0%	
6	MDS/血内	MS/M	2009.7.12~2010.9.2	未処理	4/31	12.9%	蕁麻疹×4
			2010.9.4~2010.9.30	置換	0/16	0.0%	

分担研究報告書

小児を対象とした M-sol 置換血小板輸血の安全性および有効性の検証

研究分担者：下平 滋隆、柳沢 龍（信州大学医学部附属病院 輸血部）

背景：血小板濃厚液（P-PC）は急性輸血副作用（ATR）の頻度が高く、輸血医療では重要な課題となっている。血漿成分による要因が多いと考えられ、洗浄/置換血小板が ATR 防止に有効であり、置換液として M-sol が推奨されている。洗浄置換を行わずとも置換血小板（R-PC）で十分な血漿除去が可能であり、二次製剤としての血小板の品質が保たれると報告されている。しかし、小児を対象とした M-sol R-PC の臨床的な有効性および安全性の報告はない。

対象と方法：北海道赤十字血液センターの技術協力を得て、2010 年 1 月から小児を対象として副作用の有無に関わらず M-sol R-PC を院内導入した。輸血副作用の発生率、輸血効果に関して 1 年間データ集積を行い、コントロールとして、導入以前の 2009 年 1 年間の P-PC との比較分析を行った。輸血を受ける患者 1 例あたりの観察期間は 6 ヶ月とした。尚、本学医倫理委員会承認後、臨床研究登録を行い実施した。

結果：P-PC は 26 例、272 本使用し、ATR 6 例（23%）、10 本（3.7%）の頻度で、アレルギー反応（Grade 1, 9 例；grade 2, 1 例）であった。M-sol R-PC は 26 例に実施、ATR 1 例（3.8%）、361 本に対して 1 本（0.3%）に Grade 1 のアレルギー反応を認め、有意な減少（ $p=0.001$ ）を認めた。M-sol R-PC 使用群では、副作用防止のために予防的に行われていたステロイド剤、抗ヒスタミン剤の投与を要さなかった。

輸血 24 時間後の補正血小板増加数（CCI）は、P-PC、M-sol R-PC は、それぞれ $1.56 \pm 0.75 \times 10^4 / \mu\text{L}$ 、 $1.65 \pm 1.17 \times 10^4 / \mu\text{L}$ と有意差を認めず、輸血効果は同等であった。また、M-sol R-PC 使用群での製剤と因果関係のある有害な事象はみられなかった。

結語：小児を対象とした M-sol R-PC による ATR 防止と輸血の有効性が示され、日本赤十字社血液センターから R-PC の供給は困難な現状において、標準として院内調製による M-sol R-PC が普及すると期待される。

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

研究分担者： 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： 橋本志歩・嶋田英子（日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所）
内川 誠（東京都赤十字血液センター）
高橋孝喜・津野寛和・堀川あゆみ（東京大学医学部輸血医学）
石川 治（東京大学医学部脳外科学）
飯島毅彦（杏林大学医学部麻酔科学）
河崎 伸・齋藤 朗（東京大学医学部呼吸器内科学）
清河信敬・藤本純一郎（独立行政法人国立成育医療研究センター）

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。これまで導入されてきた TRALI の予防策として、男性由来の血漿製剤の優先製造、経産婦献血者の排除や、女性献血者の白血球抗体(主として HLA 抗体)スクリーニングなどいくつかの方法があるが、完全に TRALI を予防するには至っていない。TRALI はその発症頻度も低いため、その治療法が比較的予後の悪い ALI/ARDS と同じでよいのか等の情報も不足している。そのため TRALI の治療法に関しては、いまだ確立されていない。頻度の低さからヒトにおける臨床研究が難しいため動物モデルの研究がこれまで行われてきたが、げっ歯類のモデルが大半であり、ヒトに応用できるような治療につながるモデルは開発が遅れている。in vivo の TRALI 動物モデルとして確立された報告は、Matthay らのグループのマウスモデル、Silliman らのラットのモデル、大型動物としては Australian Red Cross の羊のモデルがあるが、ヒトに近くしかも SLA (Swine Leukocyte Antigen) の解析が進んでいるミニブタモデルは TRALI の機序を解明し、治療法の開発をする上でも汎用性、有用性が高い。

【方法】 SLA 解析が進んでおり、純系のミニブタも飼育されているクラウン系ミニブタを用い、抗ブタ SLA 抗原モノクローナル抗体を輸注することにより TRALI の動物モデルを確立する。

【結果と考察】 まず LPS によるミニブタの急性肺障害を作成した。次いで、抗 SLA class I モノクローナル抗体 4G8 を経静脈的に投与することによりミニブタの肺障害モデルの作成を試みた。末梢血白血球および血小板の著明な低下、肺動脈圧の上昇、呼吸状態の悪化(PF ratio<300)が認められるも、レントゲン上は明らかな肺浸潤影は認められなかった。肺病理所見は、肺毛細血管内に白血球の集簇が認められていた。肺浸潤影を伴う肺障害の形成には LPS による priming を必要とする可能性があるため、LPS による前処置を行い、その後 4G8 を投与する方法を検討したが、肺障害を来す前にショック状態となったため、投与条

件の調整が必要と考えられた。肺の病理像は肺毛細血管内の白血球集簇を認め、ヒトの TRALI に酷似した病理所見が得られた。

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特に HLA 抗体は主要な原因の一つとされている。しかし、HLA 抗体を含むすべての血液製剤が TRALI を引き起こすわけではなく、抗原と抗体の特異性が一致した場合に何らかの免疫反応の結果として肺障害が起これると考えられている。抗体の強さと肺障害の発生の相関については詳細な結果を Transfusion 誌に報告したが、抗原抗体の一致のみで起きているのか、それともまた別の要因が必要なのかについて、患者側の危険因子などをふくめ、臨床的な研究が行われ、敗血症や肝障害が認められたとする報告もある。TRALI が比較的まれな病態であることを考えると、臨床的研究に加え、動物モデルでの解析も発生の機序、およびいったん起こってしまった TRALI の治療を考えるうえで、有用なものとなる。齧歯類での報告はこれまで数例報告例があるが、大型動物での報告例は少なく、羊のモデルが 2010 年に報告されたのが唯一の報告例である。ARDS のモデルとして以前よりブタは多用されており、とくに LPS による肺障害モデルは解析がかなり進んでいる。TRALI は ARDS と病態的に似ているところがあるため、ブタを使用する TRALI

の解析は、以前の研究との比較などができ、さらに、移植の研究用の SLA 純系のブタの使用もできるため、抗原抗体反応が原因の一つと考えられている TRALI のモデルとしても有用であると考えられる。

B. 研究方法

月齢約 9-10 ヶ月程度の体重約 25kg の健康なクラウン系ミニブタ (ジャパンファームクラウン研究所) を用い、isoflurane 全身麻酔下にて、左頸部より A line, V line を確保し、耳介静脈より末梢ラインを確保する。心電図、直腸温モニター、経皮的酸素飽和度モニターを装着し、観血的血圧モニター、スワンガンツカテーテルによる肺動脈圧モニター、肺動脈楔入圧測定、冷水希釈法による心拍出量モニター、レントゲン透視による肺障害の経時的確認、胸部レントゲン写真の撮影、気管支鏡による気管内観察および肺胞洗浄 (BAL)、血算、動脈血液ガス分析の経時的測定などにより、ミニブタの全身状態の把握をおこなう。

抗 SLA class I モノクローナル抗体 4G8 は独立行政法人成育医療研究センター清河信敬先生より御供与いただいたハイブリドーマから精製し (2.8mg/ml)、エンドトキシンの混入のないことを確認した後、1mg/kg の量を 30 分間で経静脈投与した。

1) 陽性コントロールとして LPS によるミニブタの肺障害を作成する。

大腸菌由来 Lipopolysaccharide (E.coli 055:B5, Sigma) を経静脈的に投与し、肺障害モデルを作成する。

2) 抗 SLA モノクローナル抗体投与によるミニブタの反応性を検討する。

3) LPS 前処置後に抗 SLA モノクローナル抗体を投与し、two hit モデルの作成を試みる。

C. 研究結果

1) LPS 60 μ g/kg/hr にて 30min 投与するも肺動脈圧の上昇、全身の血圧上昇は認められるが、呼吸状態の悪化は認められず、ミニブタの LPS に対する耐用量は、かなり多量である可能性があり、Schmidhammer らの方法に準じて徐々に LPS のドースアップを行う方法にて、若干ではあるがレントゲン上肺浸潤影の増強が認められ、病理でも肺毛細血管内の白血球集簇像とともに肺胞への浸出液漏出が認められ急性の肺障害を惹起できた。

(Fig. 1, 2)

2) 抗 SLA class I モノクローナル抗体の投与のみでは、末梢血白血球数の減少が著明に起こり、投与中より肺動脈圧の著明な上昇が観察されるも、レントゲン上の肺浸潤影の出現には至らず、呼吸状態の悪化も一過性のものであった。

病理所見上は肺毛細血管内の白血球集簇像は認められた。(Fig. 3)

3) LPS 前投与後 30 分で 2) と同様に抗 SLA モノクローナル抗体の投与を試みるも、全身の血圧低下を伴うショック症状を呈してしまい、はっきりとした肺障害の観察は出来なかった。病理所見上は 2) の結果と同等の所見がみられた。(Fig.4)その後の検討で抗体の投与速度を緩やかにしたところ、レントゲン上浸潤影が認められ、極めてヒトの TRALI に近似したモデルが確立できた。

D. 考察

現段階では抗 SLA モノクローナル抗体投与によるレントゲン上明らかな肺障害の作成には至っていないが、病理には肺毛細血管内に多数の白血球が集簇している像が見られており、また、呼吸状態としては検査上 P/F ratio<300 となっており、肺障害の基準を満たしているその後の検討で、投与方法を調整したところ、臨床的なレントゲン上の肺浸潤影を伴うヒトの TRALI に近似した肺障害モデ

ルが作成できた。

E. 結論

ミニブタを用い、抗 SLA class I モノクローナル抗体を静脈投与することにより、病理学的には肺毛細血管内の白血球集簇を伴う肺障害モデルが確立できた。

今後はヒトの TRALI と同様のレントゲン上の浸潤影をきたすような条件を模索し、データを集積する予定である。

F. 健康危険情報

無し。

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Reesink HW, Panzer S, Gonzalez CA, Lena N, Muntaabski P, Gimbatti S, Wood E, Lambermont M, Deneys V, Sondag D, Alport T, Towns D, Devine D, Turek P, Auvinen M-K, Koski T, Lin CK, Lee CK, Tsoi WC, Lawlor E, Grazzini G, Piccinini V, Catalano L, Pupella S, Kato H, Takamoto S, Okazaki H, Hamaguchi I, Wiersum-Osselton JC, van Tilborgh AJW, Zijlker-Jansen PY, Mangundap KM, Schipperus MR, Dinesh D, Flanagan P., Flesland Ø, Steinsvåg CT, Espinosa A, Letowska M, Rosiek A, Antoniewicz-Papis J, Lachert E, Koh MBC, Alcantara R, Corral Alonso M & Muñiz-Diaz E: Haemovigilance for the optimal use of blood products in the hospital. Vox Sang 99: 278-293, 2010

2. Imoto S, Kawamura K, Tokumine Y, Araki N, Akita S, Nishimura C, Inaba H, Saigo K, Mabuchi O, Okazaki H: Acute non-hemolytic transfusion reactions and HLA class I antibody: advantages of solid phase assay compared with conventional complement-dependent assay. Transfus Med 20: 95-103, 2010

3. Hashimoto S, Nakajima F, Kamada H,

Kawamura K, Satake M, Tadokoro K, Okazaki H: Relationship of donor HLA antibody strength to the development of transfusion-related acute lung injury. *Transfusion* 50: 2582-2591, 2010

4. 岡崎 仁: TRALI の診断と対策—白血球抗体—: 臨床病理レビュー 特集第 145 号 臨床検査 Yearbook 2010 臨床に役立つ検査のポイント 47-51, 2010

5. 岡崎 仁: 輸血関連急性肺障害: The Word on Hematology No.1:4-5, 2010

6. 岡崎 仁: 先端医学講座: 輸血によるアレルギーの新しいメカニズム: アレルギーの臨床 30:78-82, 2010

7. 岡崎 仁: 輸血関連肺障害と輸血関連循環負荷の診断: 検査と技術 増刊号、免疫反応と臨床検査 2010 38:861-865, 2010

8. 岡崎 仁: 輸血と ARDS (TRALI): 医学のあゆみ 別冊 最新 ARDS のすべて 164-169, 2010

9. 岡崎 仁: 輸血関連急性肺障害 (TRALI) の病態解明と対策: 医学の歩み 輸血医療・細胞治療—現状と課題 235:37-42, 2010

2) 学会、研究会発表

1. Hashimoto S, Nakajima F, Okazaki H, Satake M, Tadokoro K: Relationship of donor HLA antibody strength to the development of transfusion-related acute lung injury. XXXIst International Congress of the ISBT, Berlin, Germany, Jun 26-July 1, 2010

2. Okazaki H: Current status of TRALI in Japan. Joint meeting of Korean hematology society, Seoul, Korea, May 28, 2010:

3. Okazaki H: Leukocyte antibodies in TRALI. XIth European symposium on platelet and granulocyte immunology, Beaune, France, Oct 24, 2010:

4. Okazaki H: Country report V; Japan. The Sixth Red Cross & Red Crescent Symposium on Blood Programs in the Asian Region. Securing Stable

Supply of Safe Blood (I), Tokyo, Japan, Nov 26, 2010

5. 岡崎 仁: TRALI & TACO: An Update. シンポジウム 4 TRALI と TACO. 第 58 回日本輸血・細胞治療学会 (名古屋) (平成 22 年 5 月 29 日)

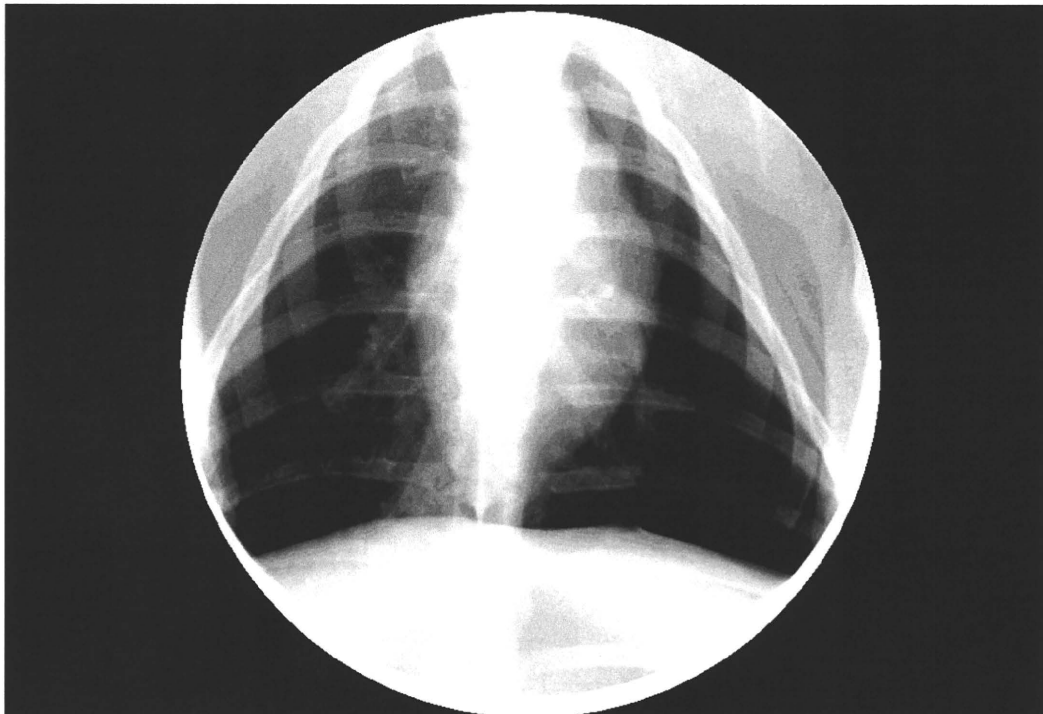
6. 岡崎 仁: TRALI と TACO の病態と診断. 東京慈恵会医科大学附属病院 医療安全研修会 (東京) (平成 22 年 9 月 13 日)

7. 岡崎 仁: TRALI 対策へのアプローチ. ワークショップ 5 輸血副作用対策と製剤の効率化. 第 34 回日本血液事業学会総会 (福岡) (平成 22 年 9 月 23 日)

8. 岡崎 仁: 非溶血性輸血副作用. 宮城県臨床輸血研究会 (仙台) (平成 22 年 11 月 20 日)

Figure 1

LPS 処置前



LPS 処置後

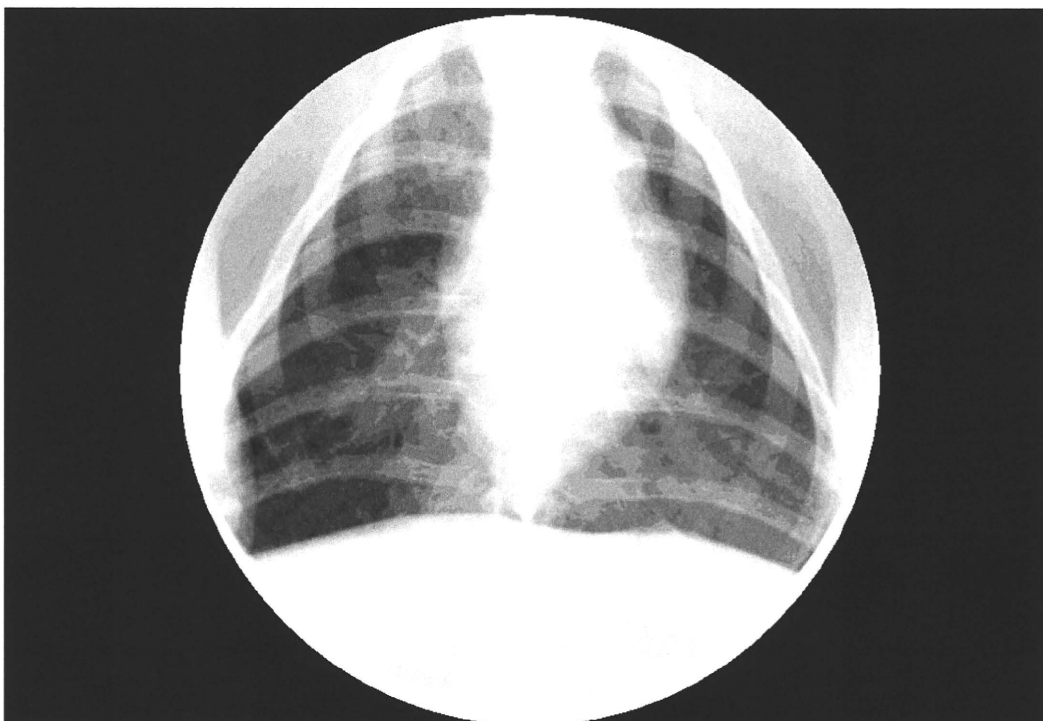


Figure 2
LPSのみ

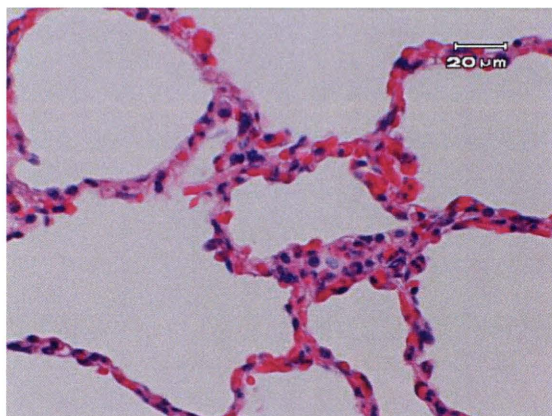
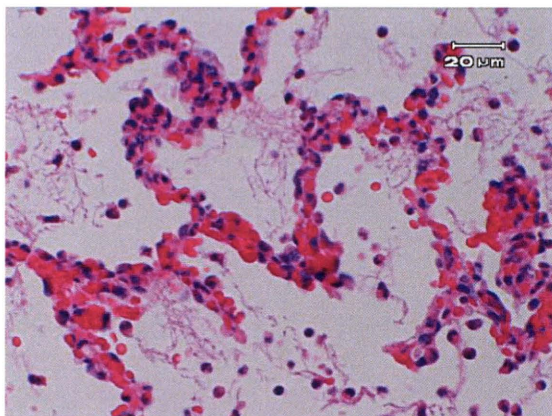


Figure 3
mAb(4G8)のみ

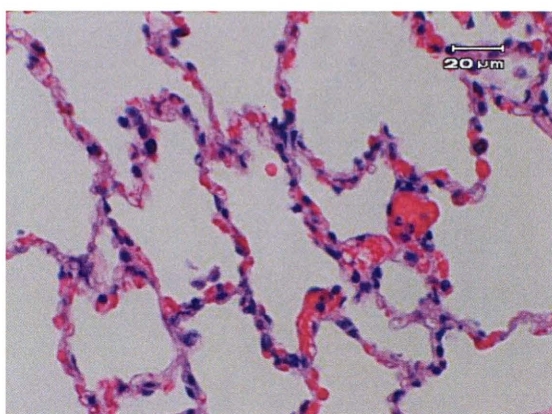
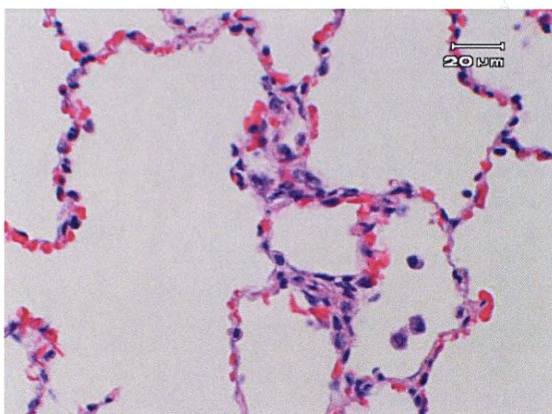
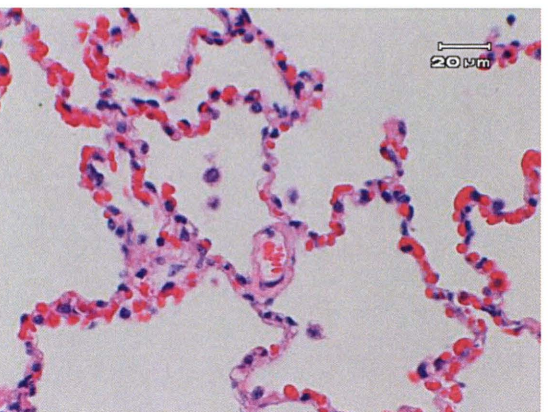


Figure 4
LPS+mAb



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

研究分担者： 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】 昨年度の研究では、献血者における Siglec-14 欠損率が 10.8% (54/502)、献血者における Siglec-14 抗体保有率が 0.8% (4/500)、非溶血性輸血副作用原因製剤中の Siglec-14 抗体陽性率が 5.3% (11/207) であること、および Siglec-14 抗体を保有する TRALI 原因製剤 3 剤において少なくともその 1 剤については好中球活性化能があることを明らかにすることによって、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を示した。本年度はその可能性をさらに強固にするために、1) Siglec-14 抗体除去による好中球活性化能への影響と 2) Siglec-14 抗体モノクローナル抗体の好中球活性化能について検討した。

【方法】 1. Siglec-14 抗体保有 TRALI 原因製剤：厚生労働科学研究費補助金：昨年度の報告書（H20-医薬-一般-009）において好中球活性化試験陽性となった Siglec-14 抗体保有 TRALI 原因製剤上清を用いた。Siglec-14 抗体モノクローナル抗体：clone #40-1 (Glycobiology 19: 841-846, 2009) 2. Siglec-14 抗体保有 TRALI 原因製剤および Siglec-14 抗体モノクローナル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 の発現上昇を指標に検討した。3. Siglec-14 抗体の除去：Siglec-14 抗体保有 TRALI 原因製剤上清 100 μ l を 1×10^6 個の KY-mock 細胞あるいは KY-Siglec-14 細胞と混和し、37°C で 30 分間インキュベートし、上清を得るという操作を 3 回繰り返した。

【結果と考察】 1. Siglec-14 抗体除去による好中球活性化能への影響：Siglec-14 抗体を保有する TRALI 原因製剤上清から Siglec-14 抗体を除去すると好中球活性化能が著しく減弱した。2. Siglec-14 抗体モノクローナル抗体の好中球活性化能：0.01~1 μ g/ml の Siglec-14 モノクローナル抗体は Siglec-14 抗原陽性血液中の好中球を活性化させた。以上より、Siglec-14 抗体は TRALI の原因になる可能性が強く示唆された。

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。昨年度の研究では、献血者における Siglec-14 欠損率が 10.8% (54/502)、献血者に

における Siglec-14 抗体保有率が 0.8% (4/500) 、非溶血性輸血副作用原因製剤中の Siglec-14 抗体陽性率が 5.3% (11/207) であること、および Siglec-14 抗体を保有する TRALI 原因製剤 3 剤において少なくともその 1 剤については好中球活性化能があることを明らかにすることによって、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を示した。本年度はその可能性をさらに強固にするために、1) Siglec-14 抗体除去による好中球活性化能への影響と 2) Siglec-14 抗体モノクローナル抗体の好中球活性化能について検討した。

B. 研究方法

1. Siglec-14 抗体保有 TRALI 原因製剤：厚生労働科学研究費補助金：昨年度の報告書 (H20-医薬-一般-009) において好中球活性化試験陽性となった Siglec-14 抗体保有 TRALI 原因製剤上清を用いた。Siglec-14 抗体モノクローナル抗体：clone #40-1 (Glycobiology 19: 841-846, 2009)

2. Siglec-14 抗体保有 TRALI 原因製剤および Siglec-14 抗体モノクローナル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 の発現上昇を指標に検討した。

3. Siglec-14 抗体の除去：Siglec-14 抗体保有 TRALI 原因製剤上清 100 μ l を 1×10^6 個の KY-mock 細胞あるいは KY-Siglec-14 細胞と混和し、37°C で 30 分間インキュベートし、上清を得るという操作を 3 回繰り返した。

C. 研究結果

1. Siglec-14 抗体除去による好中球活性化能への影響：Siglec-14 抗体を保有する TRALI 原因製剤上清から Siglec-14 抗体を除去すると好中球活性化能が著しく減弱した (図 1)

2. Siglec-14 抗体モノクローナル抗体の好中球活性化能：陰性コントロールとして mouse IgG (1 μ g/ml)、陽性コントロールとして fMLP (0.1 μ M) をそれぞれ用いた。検査試料としては、3 種類の濃度 (1、0.1、0.01 μ g/ml) の Siglec-14 に対するモノクローナル抗体を用いた。被検全血として Siglec-14 抗原陽性のものを 3 種類 (Blood A-C)、Siglec-14 抗原陰性のものを 3 種類 (Blood D-F) それぞれ用意した。これら 5 種類の血漿と 6 種類の被検全血をそれぞれ混和し、37°C で 30 分間インキュベートした後、好中球分画での Mac-1 (好中球活性化マーカー) の発現を FCM で測定し、その平均蛍光強度 (MFI) を求めたところ、0.01~1 μ g/ml の Siglec-14 モノクローナル抗体は Siglec-14 抗原陽性血液中の好中球を活性化させた。(図 2)

D. 考察

以上より、Siglec-14 抗体は TRALI の原因になる可能性が強く示唆された。

E. 発表論文

1. Yasui K, Angata T, Matsuyama N, Furuta RA, Kimura T, Okazaki H, Tani Y, Nakano S, Narimatsu H, Hirayama F. Detection of anti-Siglec-14 alloantibodies in blood components implicated in nonhemolytic transfusion reactions. Br J Haematology, in press.

図1 Siglec-14抗体による好中球活性化

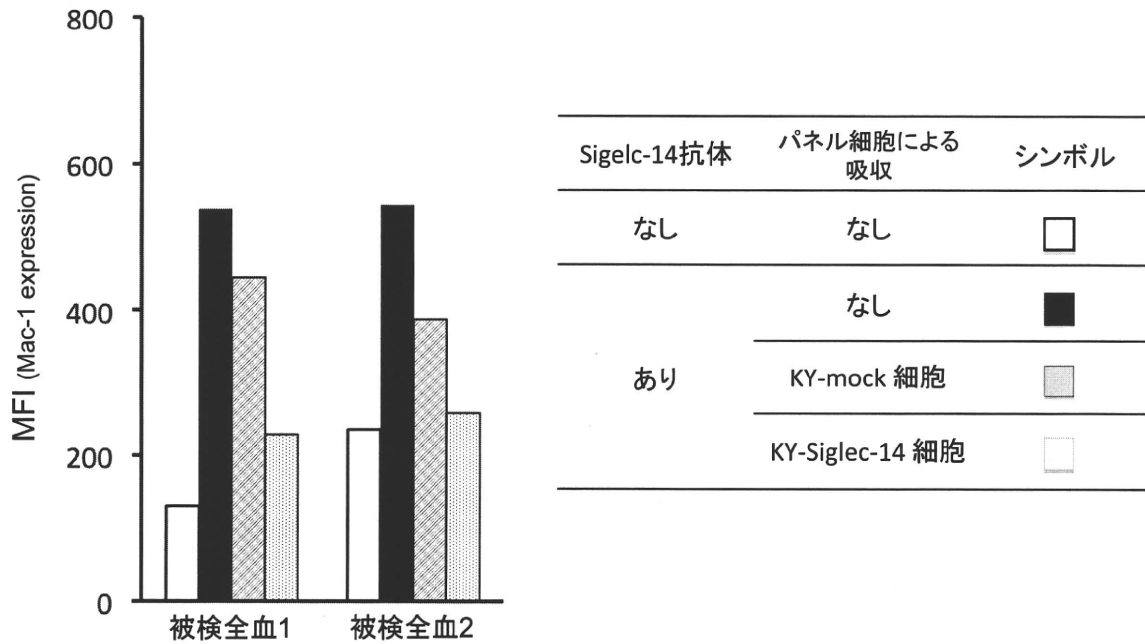
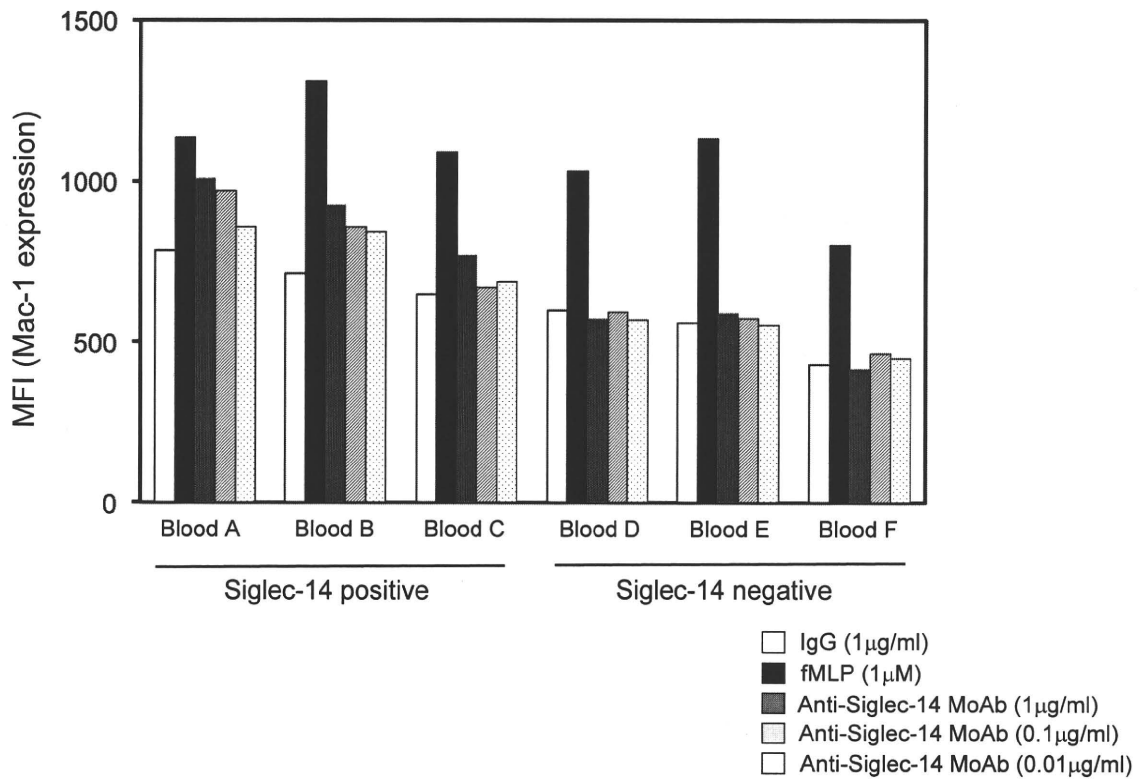


図2 Siglec-14 MoAbによる好中球の活性化



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

研究分担者： 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）
中澤 春政（杏林大学医学部麻酔科学）
満田 真吾（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）
中村 圭太（日本赤十字社東京都血液センター）
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臨床研究を施行した。

【方法】平成 21 年 10 月 1 日から平成 22 年 10 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した。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分離し、血漿を冷凍保存した。投与された患者の 6 時間以内の血液ガス所見を記録保存した。術前に急性肺障害の risk がなく、投与後に P/F (PO₂/FiO₂) が 300 未満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った。TACO と TRALI の区別は、手術中の循環器パラメータでの左房負荷の所見の有無及びバッグランドを知らない放射線科医師による胸部レントゲン写真での所見もとづきどちらかに分類した。また、血小板製剤中に含まれる抗白血球抗体、および Lysophosphatidylcholine (LysoPC) 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した。

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

行った。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った。

【結果と考察】対象症例は 86 例であり、心臓外科 69 例(大血管 35 例、冠動脈バイパス 27 例、弁置換 7 例：on pump 56 例、off pump 13 例)、脳神経外科 4 例、産婦人科 3 例、泌尿器科 3 例、消化器外科 3 例、その他 4 例であった。男性 56 名、女性 30 名であった。患者の平均年齢は 67.6 ± 13 歳、身長 159.9 ± 14 cm 体重 58.1 ± 12.0 kg であった。輸血後に $P/F < 300$ となった症例は 54 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 26 例、心原性肺水腫 23 例、浸潤性肺水腫 5 例であった。これらの呼吸不全の分類群において群間に有意差があったものは年齢 ($P < 0.05$) のみであった。各呼吸不全を従属因子としてのロジスティック回帰分析による分析では、呼吸不全を起こす有意な因子は年齢 (オッズ比 1.093 (95%CI: 1.023~1.167), $p=0.008$) であった。そのうち、TACO を起こす有意な因子は血小板製剤に含まれる抗白血球抗体抗 HLA Class II (オッズ比 18.4 (95%CI: 1.987~170.074), $p=0.010$) 年齢 (オッズ比 1.146 (95%CI: 1.028~1.279), $p=0.014$) であった。TRALI を起こす有意な因子は抗顆粒球抗体 (オッズ比 13.0 (95%CI: 1.428~118.279), $p=0.023$) であった。

今回の対象症例は心臓外科症例が大半を占め、手術後呼吸機能が一過性に悪化する症例が多く、胸部レントゲン所見と左房負荷のパラメータのみでは TACO と TRALI の区別をつけるのは困難であった。TACO と診断されたもので抗白血球抗体 HLA Class II が抽出されたのは、このなかに TRALI が含まれる可能性が推定される。TACO 疑い、TRALI 疑いと診断された患者血清と血小板濃厚液が実際に交差反応を起こすかを検討する必要がある。LysoPC は赤血球濃厚液および血小板濃厚液の貯蔵時に蓄積するものであり、以前 FFP 製剤で測定したものよりも高値であった。しかしながら、血小板濃厚液中の LysoPC と輸血後呼吸障害の関係は認められなかった。

A. 研究目的

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は、輸血関連急性肺障害の発症に関与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⁾。血小板濃厚液は現在、apheresis によって製剤化されており、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。また、血小板濃厚液には白血球の priming activity を上昇させると考えら

れている lysophosphatidylcholine (LysoPC) も含まれており、この免疫活性物質も TRALI 発生に関与している可能性がある。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検討した。

B. 研究方法

平成 21 年 10 月 1 日から平成 22 年 10 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した。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分離し、血漿を冷凍保存した。投与された患者の 6 時間

以内の血液ガス検査所見を記録保存した。術前に急性肺障害の risk がなく、投与後に P/F(PO₂/FiO₂)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なった。血小板製剤に含まれる抗白血球抗体、および LysoPC 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した。

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った。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った。

C. 研究結果

対象症例は 86 例であり、心臓外科 69 例(大血管 35 例、冠動脈バイパス 27 例、弁置換 7 例 : on pump 56 例、off pump 13 例)、脳神経外科 4 例、産婦人科 3 例、泌尿器科 3 例、消化器外科 3 例、その他 4 例であった。男性 56 名、女性 30 名であった。患者の平均年齢は 67.6 ± 13 歳、身長 159.9 ± 14cm 体重 58.1 ± 12.0kg であった。輸血後に P/F < 300 となった症例は 54 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 26 例、心原性肺水腫 23 例、浸潤性肺水腫 5 例であった。P/F 300 以上の症例 32 例の胸部レントゲン写真では 24 例は正常であったが 4 例には浸潤影像が認められ、2 例は心拡大をとまなう肺うっ血像が認められた。P/F < 300 の呼吸不全の分類群において群間に有意差があったものは年齢 (P < 0.05) のみであった。各呼吸不全を従属因子としてのロジスティック回帰分析による分析では、呼吸不全を起こす有意な因子は

年齢 (オッズ比 1.093 (95%CI: 1.023~1.167) , p=0.008) であった。そのうち、TACO を起こす有意な因子は血小板製剤に含まれる抗白血球抗体 HLA ClassII (オッズ比 18.4 (95%CI: 1.987~170.074) , p=0.010) 年齢 (オッズ比 1.146 (95%CI: 1.028~1.279) , p=0.014) であった。TRALI を起こす有意な因子は抗顆粒球抗体 (オッズ比 13.0 (95%CI: 1.428~118.279) , p=0.023) であった。血小板に含まれる LysoPC と P/F の低下度には関係は認められなかった (図 1)。

D. 考察

TRALI の発症頻度を血液製剤別に比較すると本邦の統計では RBC 0.48, FFP 0.42, PC 2.1 (10 万バッグ当たり) と血小板濃厚液での発症頻度が高くなっている[1]。米国の統計では、RBC での TRALI 発症のオッズ比を 1.0 として血漿製剤 12.5, apheresis 由来血小板 7.9, 全血由来血小板 1.2, クリオ製剤 2.0 となっており、やはり apheresis 由来血小板製剤による TRALI 発症頻度は高いと報告されている[2]。これは同一ドナーからの血漿を多く含むため、免疫活性物質を持つドナーからの製剤では希釈されることはなく患者へ投与してしまうからと考えられる。オランダ、フランス、ケベックでの統計においても血小板製剤の TRALI 発症頻度は 0.18 (10 万例の輸血症例に対して) であるが、血小板製剤では 0.46 と高い頻度で TRALI が発症すると報告されている[3]。SHOT の報告では血小板濃厚液の TRALI 発症は 68000 単位に 1 例と報告されている[4]。以上のことから女性由来の apheresis 血小板濃厚液をいかにコントロールするか議論のあるところである。米国での試算によれば、すべての女性由来の apheresis 血小板濃厚液の生産を取りやめると 37.1% の減産になり、妊娠経験のある妊婦からのもののみをやめると 22.5% の減産になり、さらにこのうち HLA 陽性患者からのもののみを取りやめる