

表2 都道府県別輸血管理体制と血液使用状況

都道府県	回答施設	回答率	一元管理	責任医師	担当技師	24h体制	委員会設置	体制総和	赤血球製剤	血小板製剤	FFP	Alb製剤	IVIG
北海道	288	35.3%	56.3%	44.8%	52.3%	49.4%	45.9%	248.6%	6.37U/床	13.82U/床	3.00U/床	37.28g/床	4.93g/床
青森県	86	50.6%	53.5%	47.1%	52.9%	71.8%	45.7%	271.1%	6.02U/床	9.81U/床	2.29U/床	29.37g/床	4.35g/床
岩手県	65	52.0%	50.9%	43.6%	61.1%	76.4%	53.9%	285.9%	6.30U/床	13.79U/床	2.59U/床	43.25g/床	8.27g/床
宮城県	80	45.5%	59.7%	54.2%	62.5%	72.2%	58.0%	306.6%	5.18U/床	7.79U/床	1.57U/床	20.83g/床	3.58g/床
秋田県	62	66.0%	69.6%	69.6%	75.4%	68.4%	67.2%	350.4%	5.38U/床	11.86U/床	1.58U/床	29.97g/床	2.71g/床
山形県	28	44.4%	87.5%	62.5%	87.0%	87.5%	82.6%	407.1%	8.04U/床	9.25U/床	3.08U/床	33.4g/床	2.63g/床
福島県	84	48.6%	70.6%	67.7%	75.8%	75.4%	75.0%	364.4%	5.68U/床	7.18U/床	2.28U/床	23.98g/床	3.87g/床
茨城県	78	30.8%	57.4%	44.9%	58.2%	65.2%	41.4%	267.1%	6.44U/床	8.70U/床	1.83U/床	26.80g/床	4.23g/床
栃木県	72	42.1%	68.4%	54.1%	59.3%	59.0%	69.5%	310.4%	7.23U/床	10.26U/床	3.40U/床	46.78g/床	6.19g/床
群馬県	98	55.4%	75.6%	70.0%	74.7%	72.2%	85.2%	377.8%	6.58U/床	12.95U/床	3.30U/床	35.37g/床	4.24g/床
埼玉県	222	49.1%	66.9%	48.1%	52.5%	56.3%	55.8%	279.5%	8.33U/床	12.37U/床	3.81U/床	39.08g/床	7.55g/床
千葉県	151	41.9%	72.4%	44.6%	65.9%	65.4%	51.9%	300.3%	8.66U/床	13.33U/床	4.29U/床	46.73g/床	5.59g/床
東京都	415	50.4%	73.8%	71.0%	68.2%	63.6%	82.7%	359.3%	8.67U/床	17.10U/床	4.32U/床	47.45g/床	6.43g/床
神奈川県	188	45.4%	69.6%	69.2%	72.0%	70.1%	64.9%	345.8%	8.27U/床	14.14U/床	3.41U/床	36.70g/床	6.57g/床
新潟県	88	61.5%	84.4%	64.5%	77.9%	96.1%	82.7%	405.6%	6.82U/床	14.79U/床	2.44U/床	39.33g/床	4.66g/床
富山県	48	49.5%	72.7%	65.7%	61.8%	66.7%	63.9%	330.8%	5.13U/床	8.88U/床	1.42U/床	25.29g/床	4.55g/床
石川県	53	50.0%	85.1%	67.4%	66.7%	65.3%	75.5%	360.0%	4.48U/床	7.27U/床	1.15U/床	15.38g/床	3.42g/床
福井県	52	43.7%	63.9%	51.4%	43.2%	56.4%	48.7%	263.5%	6.98U/床	12.85U/床	2.29U/床	35.3g/床	6.94g/床
山梨県	38	55.1%	64.7%	71.4%	73.5%	72.2%	68.6%	350.5%	6.00U/床	7.16U/床	2.53U/床	38.78g/床	4.16g/床
長野県	80	52.6%	73.9%	65.2%	75.0%	82.6%	70.2%	366.9%	5.92U/床	11.45U/床	2.26U/床	30.91g/床	5.22g/床
岐阜県	83	59.3%	72.3%	61.2%	64.2%	74.6%	63.6%	336.0%	6.11U/床	7.82U/床	2.08U/床	39.69g/床	5.40g/床
静岡県	102	46.8%	72.2%	61.5%	62.9%	63.7%	60.2%	320.7%	8.67U/床	13.38U/床	3.08U/床	36.05g/床	4.00g/床
愛知県	184	41.1%	65.4%	59.7%	58.4%	53.4%	62.2%	299.1%	7.59U/床	13.93U/床	3.67U/床	36.08g/床	7.02g/床
三重県	47	39.8%	65.1%	50.0%	55.8%	77.3%	61.4%	309.6%	6.06U/床	11.56U/床	2.78U/床	34.98g/床	6.37g/床
滋賀県	35	46.7%	75.0%	62.1%	65.5%	73.3%	73.1%	349.0%	6.11U/床	10.49U/床	2.87U/床	44.66g/床	4.60g/床
京都府	92	45.5%	65.4%	60.2%	48.8%	58.8%	70.6%	303.9%	6.75U/床	12.77U/床	4.44U/床	59.61g/床	6.98g/床
大阪府	254	37.0%	73.3%	59.4%	58.0%	60.9%	61.1%	312.7%	7.66U/床	14.02U/床	4.07U/床	44.81g/床	5.81g/床
兵庫県	179	39.8%	69.2%	72.3%	70.9%	76.5%	76.6%	365.6%	7.29U/床	10.83U/床	3.25U/床	38.06g/床	4.12g/床
奈良県	43	43.4%	74.4%	55.0%	47.5%	55.0%	40.0%	271.9%	6.58U/床	18.44U/床	4.56U/床	47.15g/床	5.40g/床
和歌山県	44	32.4%	73.5%	38.3%	48.6%	51.4%	45.7%	257.6%	5.95U/床	8.67U/床	3.18U/床	46.14g/床	6.07g/床
鳥取県	28	48.3%	75.0%	54.2%	66.7%	76.0%	66.7%	338.5%	6.64U/床	11.28U/床	2.45U/床	38.16g/床	4.11g/床
島根県	29	50.0%	73.9%	75.0%	78.3%	84.0%	82.6%	393.8%	4.86U/床	10.26U/床	1.93U/床	14.66g/床	4.53g/床
岡山県	96	43.4%	68.6%	65.1%	62.7%	66.3%	72.0%	334.6%	6.89U/床	10.78U/床	2.86U/床	49.53g/床	5.08g/床
広島県	141	42.6%	69.0%	47.9%	54.8%	55.1%	50.0%	276.8%	6.44U/床	23.85U/床	2.45U/床	46.02g/床	6.48g/床
山口県	82	50.3%	71.0%	53.6%	59.7%	69.6%	57.6%	311.5%	4.92U/床	6.02U/床	2.03U/床	25.42g/床	3.89g/床
徳島県	43	27.7%	70.6%	58.8%	47.1%	58.8%	62.5%	297.8%	5.11U/床	9.07U/床	1.94U/床	36.85g/床	8.81g/床
香川県	51	34.5%	66.7%	47.5%	60.5%	58.5%	48.7%	282.0%	5.63U/床	8.33U/床	2.77U/床	28.77g/床	8.64g/床
愛媛県	85	43.8%	68.7%	62.3%	62.1%	63.9%	66.7%	323.7%	5.76U/床	9.25U/床	2.91U/床	37.45g/床	6.00g/床
高知県	66	44.0%	66.7%	50.9%	66.1%	74.1%	49.1%	306.9%	4.66U/床	9.27U/床	2.71U/床	20.10g/床	2.15g/床
福岡県	233	37.9%	68.9%	55.2%	56.9%	59.4%	54.9%	295.3%	6.62U/床	11.67U/床	3.06U/床	45.47g/床	3.56g/床
佐賀県	65	43.6%	64.0%	42.3%	36.7%	51.9%	47.1%	242.0%	4.22U/床	5.82U/床	2.75U/床	27.20g/床	1.95g/床
長崎県	101	36.2%	68.0%	47.5%	51.9%	67.5%	49.4%	284.2%	4.99U/床	8.48U/床	2.37U/床	45.30g/床	3.39g/床
熊本県	146	42.3%	60.3%	49.6%	54.6%	45.8%	47.0%	257.3%	6.39U/床	10.19U/床	3.15U/床	46.15g/床	4.04g/床
大分県	99	44.0%	67.1%	48.2%	55.4%	57.8%	42.7%	271.2%	5.36U/床	8.28U/床	2.91U/床	28.40g/床	2.51g/床
宮崎県	62	28.1%	45.7%	41.3%	37.8%	42.6%	44.4%	211.7%	5.65U/床	9.90U/床	2.86U/床	38.17g/床	4.43g/床
鹿児島県	112	27.1%	49.4%	42.1%	44.8%	39.3%	48.9%	224.5%	4.96U/床	7.95U/床	2.31U/床	36.60g/床	2.87g/床
沖縄県	34	35.4%	71.0%	75.0%	75.0%	78.1%	68.8%	367.9%	8.98U/床	14.21U/床	5.07U/床	50.74g/床	9.95g/床

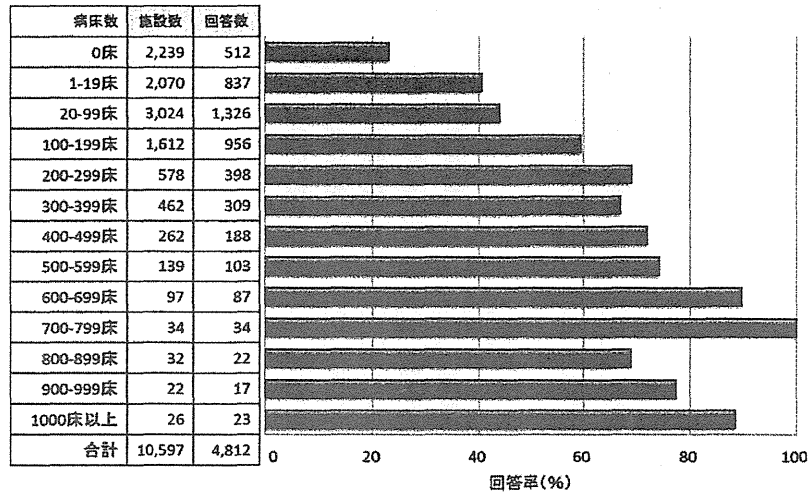
施設は、各規模の施設とも30%弱であり、半分以上の施設では入院時検査や術前検査と合わせて実施していた。全く実施していない施設も10~20%存在した(小規模施設17.8%,中規模施設10.5%,大規模施設11.7%)(図5A)。輸血後感染症検査を原則的に全て実施する施設は3分の1以下であり、症例によって実施するか、未実施であった。過去3年間では、輸血後感染症検査実施率は増加傾向にあり(2010年25.1%,2011年26.5%,2012年27.0%)、特に小規模施設で増加していた。

一方、輸血前の検体保存は、300床以上施設では96%以上施設で実施されていたが、小規模施設では65.1%であった(図5B)。輸血後検体保存を原則的に全て実施している施設は、30%以下であった。

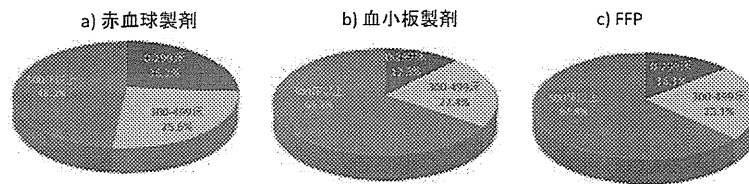
4. 血液製剤使用状況

輸血実施患者数を本調査結果より概算した。同種血輸血患者数は1,046,101人であり、東日本大震災のあった2011年とほぼ同程度であった。一方、自己血輸血患者数は95,730人であり、ここ4年は減少傾向である。

A 調査回答率と血液製剤使用量の捕捉率



B 2011年に日赤より血液製剤が供給された医療施設の病床数と回答率



d) 年間日赤血液製剤供給量に対する捕捉率

日赤年間供給量に占める捕捉率	赤血球製剤	血小板製剤	FFP	全体
回答総使用量(単位)	457万	703万	246万	1406万
日赤総供給量(単位)	659万	904万	328万	1891万
調査捕捉率(%)	69.3%	75.0%	74.9%	74.3%

図1 調査回答率と血液製剤使用量の捕捉率
2011年に日赤より血液製剤が供給された医療施設の病床数と回答率

各血液製剤における過去5年間の使用状況を施設規模別に解析した(図6)。前年に比べて各血液製剤とも微増傾向であった。しかし、2008年を基準にすると、赤血球製剤、血小板製剤、FFP、自己血製剤、アルブミン製剤、免疫グロブリン製剤(IVIG)は、それぞれ15.6%、21.5%、30.1%、16.4%、3.2%、37.6%の増加率であり、血漿製剤とIVIGの増加が目立った。各血液製剤とも大規模施設での使用量が増加しており、逆に自己血輸血は減少していた。

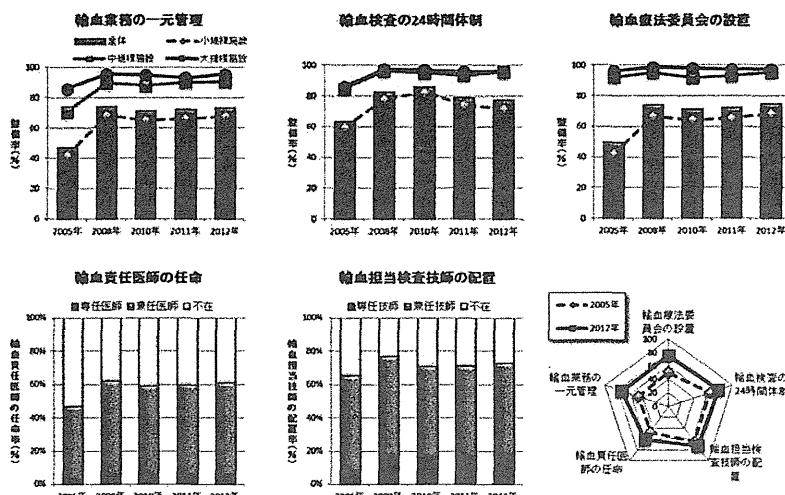
施設ごとの年間血液購入量は、各血液製剤とも施設規模が大きくなるにつれて増加していた(図7)。総赤血球廃棄量は、実施施設数の多い小規模施設で最も多かった。しかし、総血小板廃棄量は、使用量の多い大規模施設で多く、総血漿廃棄量は、その中間であり、施設規模別の差がなかった。

診療科別の血液使用状況の詳細⁹⁾は既に報告されているので、その概要を示す。赤血球製剤は血液内科と心

臓血管外科での使用量が多く、血小板製剤は殆ど血液内科で使用されていた。FFPは心臓血管外科が多かった。総アルブミン製剤は、消化器外科、心臓血管外科、消化器内科で使用が多かったが、等張アルブミン製剤は心臓血管外科と消化器外科が多く、高張アルブミン製剤は、消化器内科と消化器外科での使用が多かった。IVIGは神経内科で特に多く、血液内科、小児科でも使用されていた。

都道府県別(表2)では、赤血球製剤は沖縄県で使用量が多く、使用量の少ない佐賀県の2.1倍であった。血小板製剤は広島県が多く、使用量の少ない佐賀県の4.1倍であった。FFPは沖縄県で多く、石川県の4.4倍であった。総アルブミン製剤は京都府で多く、使用量の少ない島根県の4.1倍であった。IVIG製剤の使用量の多い沖縄県は佐賀県の5.1倍であり、都道府県間で未だ大きな差が認められた。

A 輸血管理体制の整備状況 年次別推移 (20床以上施設)



B 輸血管理体制の整備状況 施設規模別 (2012年全施設)

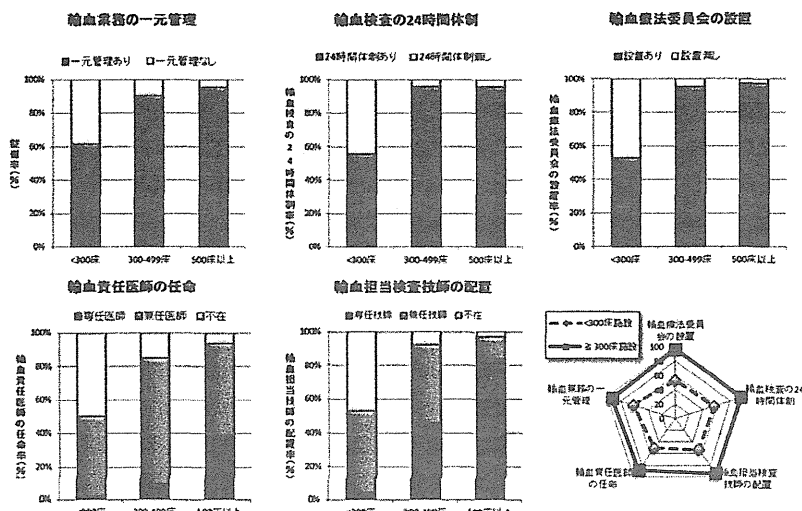


図2 輸血管理体制の整備状況
A: 年次別推移 (20床以上施設)
B: 施設規模別 (2012年全施設)

考 察

本調査は、2008年以降、国内の全輸血実施施設を対象に国の委託事業として日本輸血・細胞治療学会が日本臨床衛生検査技師会および日本赤十字社の協力を得て実施している^{1)~3)}。2012年調査は過去5年間で最も回答率が高く、日赤から供給される全血液製剤の74.3%の捕捉率であった。300床以上施設の回答率は72.9%と高く信頼性が高い。今後は300床未満、特に無床診療所や20床未満の有床診療所での回答率が高くなるように調査方法を工夫する必要がある。

輸血療法の実施に関する指針の中で、輸血の管理体制のあり方として、①輸血部門を設置し輸血業務の一元管理を行い、②輸血責任医師を任命し、③輸血担当

検査技師を配置して、④輸血検査の24時間体制を実施する。⑤院内に輸血療法委員会を設置し安全で適正な輸血療法の実施のためのルール作りを行うことが推奨されている。この5項目に関する各医療機関の整備状況を年次別に比較したところ、300床以上の医療施設においては、輸血責任医師の任命が88.5%であるが、他の4項目に関しては2008年から90%以上の施設で実施されており、ほぼ輸血管理体制が整備されている。一方、小規模施設においては60%前後の整備率であり、2008年以降はほぼ横ばいである。輸血管理体制は各都道府県でも大きな差を認め、最も整備されている県と、そうでない県を比較すると1.9倍の差が認められたが、前年調査より差が縮まっている。これは各都道府県の

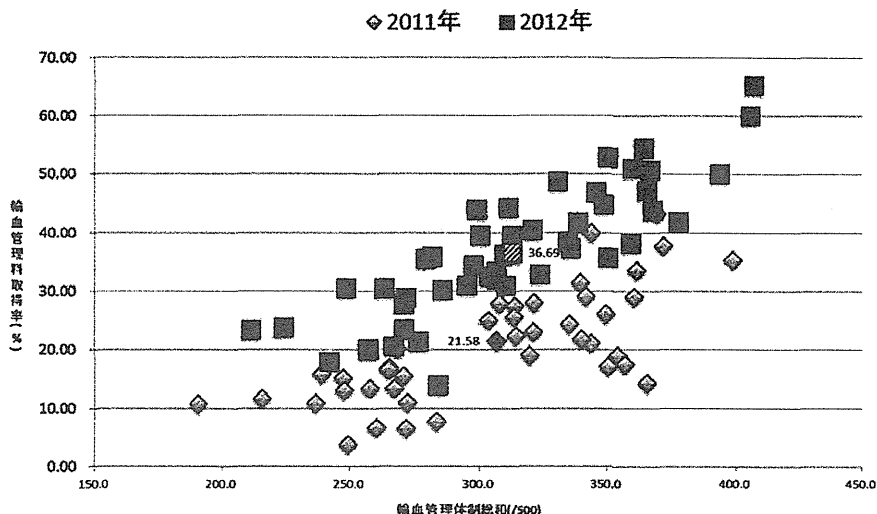


図3 都道府県別での輸血管理体制の総和と輸血管理料取得率

合同輸血療法委員会の活動が活発になっていることも要因であるが、2012年の保険改定で輸血管理料取得条件が変更になったことも影響している。

2012年の各血液製剤の病床当たりの使用量は、微増程度であり、日本赤十字血液センターからの供給量の増加を反映していた。輸血実施患者数は前年並みの約104万人であった。輸血実施施設は11,000~12,000施設であり、その約90%は300床未満の小規模施設であった。しかし、血液製剤の85%前後は300床以上の施設で使用されていた。多くの血液製剤を使用する300床以上施設の輸血管理体制は2008年以降急速に整備されており、今後は小規模施設の輸血医療の現状を明らかにする必要がある。外来化学療法増加に伴って外来輸血が行われることが多くなり、輸血後の管理が問題となっている。さらに無床診療所の10%において在宅輸血が行われていることが今回の調査で明らかになった⁴⁾。外来輸血や在宅輸血に関しては、その実施体制の整備を含め今後の重要な課題である。

輸血検査に関しても、300床以上施設では、輸血実施施設内で血液型検査や交差適合試験を行っているが、小規模施設では院外の検査機関に委託している施設が3割前後存在した。「輸血療法の実施に関する指針」には、不適合輸血を防ぐため、輸血を実施する医療機関で責任を持って輸血検査を行うように明記してある。また、血液型検査においてウラ試験は行わなければならないとされているが、12.9%の小規模施設において未実施の回答であった。20床未満の輸血施設が4,309施設あり、全体の40.7%を占めているため、国、日赤、本学会の協力で安全な輸血医療を実施するための輸血検査体制作りが喫緊の課題である。

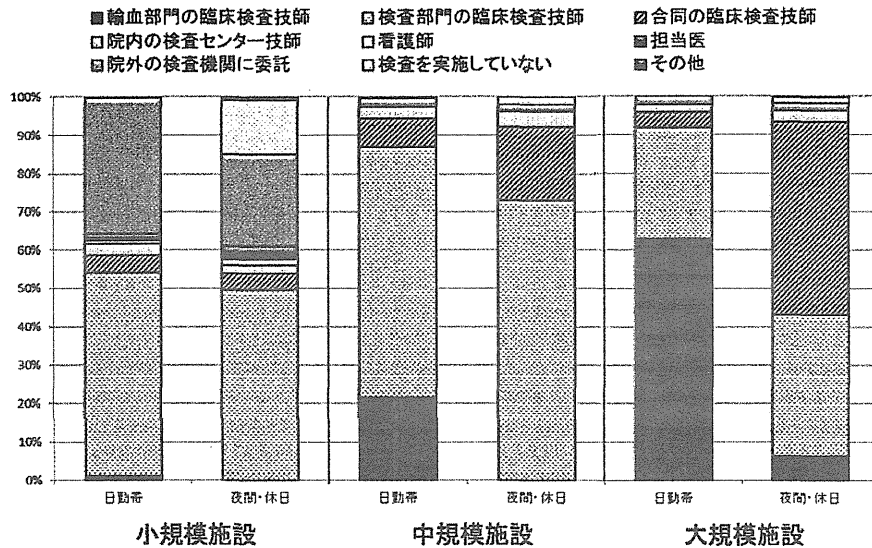
輸血前の感染症検査を原則的に全て実施している施設は、30%未満であった。300床以上施設では輸血前の検体保存率は96%以上であったが、小規模施設は65%とやや差があった。輸血後感染症検査の実施率は過去3年間軽度上昇していたが、“症例によって実施する”施設が多く、検体保存も30%未満の実施率であった。輸血後肝炎やHIV感染は非常に少なくなってきたが完全に排除できたわけではなく、2013年には中南米出身の供血者がシャーガス病の抗体陽性であることが判明し問題になった。輸血が適正に使用されたにも関わらず発生した輸血感染症等に対し生物由来製品感染等被害救済制度が設立されたが、この制度の対象となるには輸血との因果関係を証明する必要があり、輸血前後の感染症検査と検体保存が重要である。

安全な血液製剤の安定供給の確保等に関する法律(血液法)の中に医療従事者の責務として適正輸血の推進が挙げられている。血液製剤の使用指針に輸血の適応やトリガー値が記載されているが、十分周知されているとは言えない。各血液製剤の使用量は都道府県間で2~5倍の差が存在している。輸血の適応やトリガー値の見直しを含めて、「科学的根拠に基づく輸血ガイドラインの策定等に関する研究」(研究代表者：松下正)が厚生労働科学研究費補助金研究として2013年より開始された。少子高齢化に伴い献血人口の減少および輸血が必要な高齢者の増加に伴う血液不足が懸念されており、より一層の適正使用の徹底が必要である。

結 語

安全で適正な輸血療法を実施するためには、各医療機関における輸血管理体制を整備し、血液製剤の使用

A ABO式血液型検査の実施状況



B 交差適合試験の実施状況

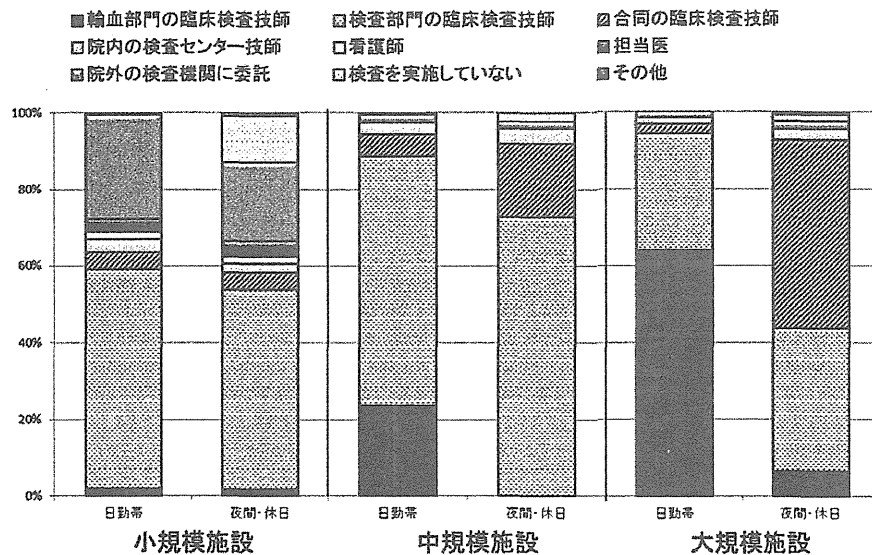


図4 血液検査の実施状況

A: ABO式血液検査

B: 交差適合試験

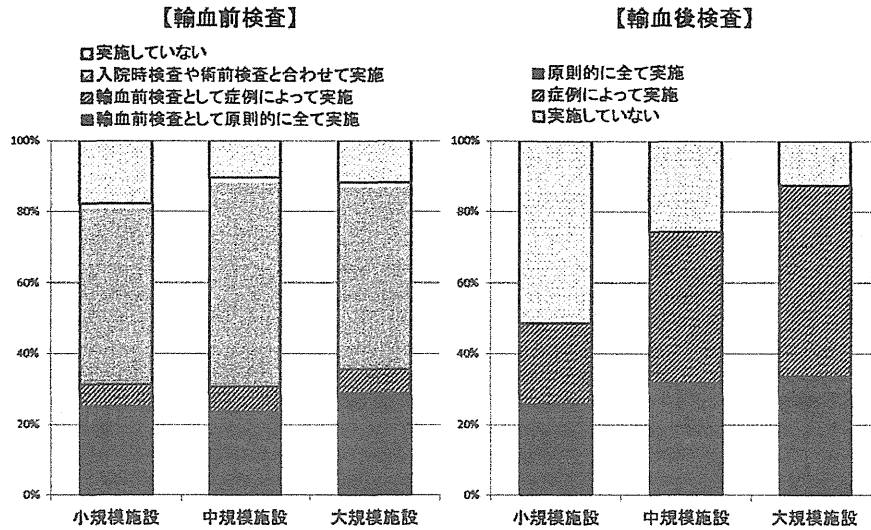
状況を正確に把握することが重要であり、例年、本血液製剤実態調査を実施している。その調査結果を解析し時期を逸することなく報告することにより、各施設における輸血医療の見直しや、合同輸血療法委員会での検討事項に役立てることを希望する。

著者のCOI開示：本論文の発表に関連して特に申告なし

謝辞：2012年度血液製剤使用実態調査に協力していただいた全国の医療関係者の皆様に深謝いたします。

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・科学的根拠に基づく輸血ガイドラインの策定等に関する研究」(公募番号：25270701)により行われた。

A 輸血前後の感染症検査の実施状況



B 輸血前後の検体保存の実施状況

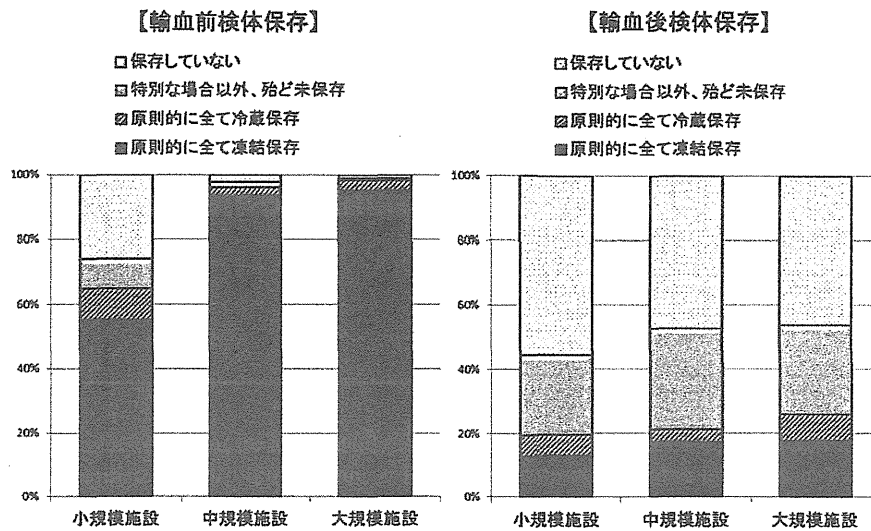


図5 輸血前後の感染症検査と検体保存の実施状況

A：輸血前後の感染症検査

B：輸血前後の検体保存

文 献

- 1) 牧野茂義, 田中朝志, 高橋孝喜, 他: 輸血業務・輸血製剤年間使用量に関する総合的調査報告書—輸血管理体制と血液使用状況に関する2005年度調査と2008年度調査の比較検討—. 日本輸血細胞治療学会誌, 56(4): 515—521, 2010.
- 2) 牧野茂義, 田中朝志, 高橋孝喜, 他: —2008年輸血業務・輸血製剤年間使用量に関する総合的調査結果報告書—小規模医療施設における輸血管理体制と血液使用状況について. 日本輸血細胞治療学会誌, 56(5): 632—638, 2010.
- 3) 牧野茂義, 田中朝志, 紀野修一, 他: 2011年度日本の輸血管理体制および血液製剤使用実態調査報告. 日本輸血細胞治療学会誌, 58(6): 774—781, 2012.
- 4) 厚生労働省: 平成25年度第1回薬事・食品衛生審議会薬事分科会血液事業部会適正使用調査会 平成24年度血液製剤使用実態調査報告書 <http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/0000029966.html>
- 5) 高橋孝喜, 稲葉頌一, 半田 誠, 他: 2004年度輸血関連総括アンケート調査報告—輸血部門の管理体制および輸血療法委員会に関する調査. 日本輸血学会雑誌, 52(3): 414—421, 2006.

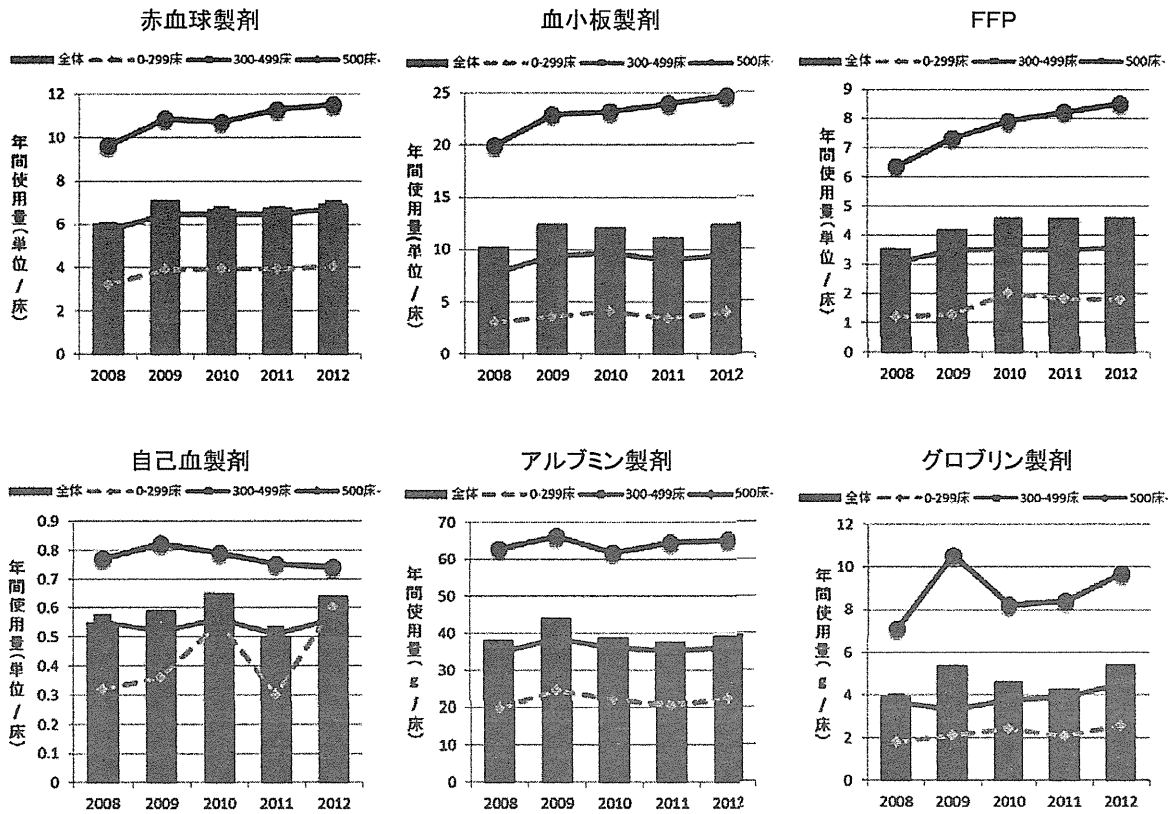


図6 年次別血液製剤の使用状況

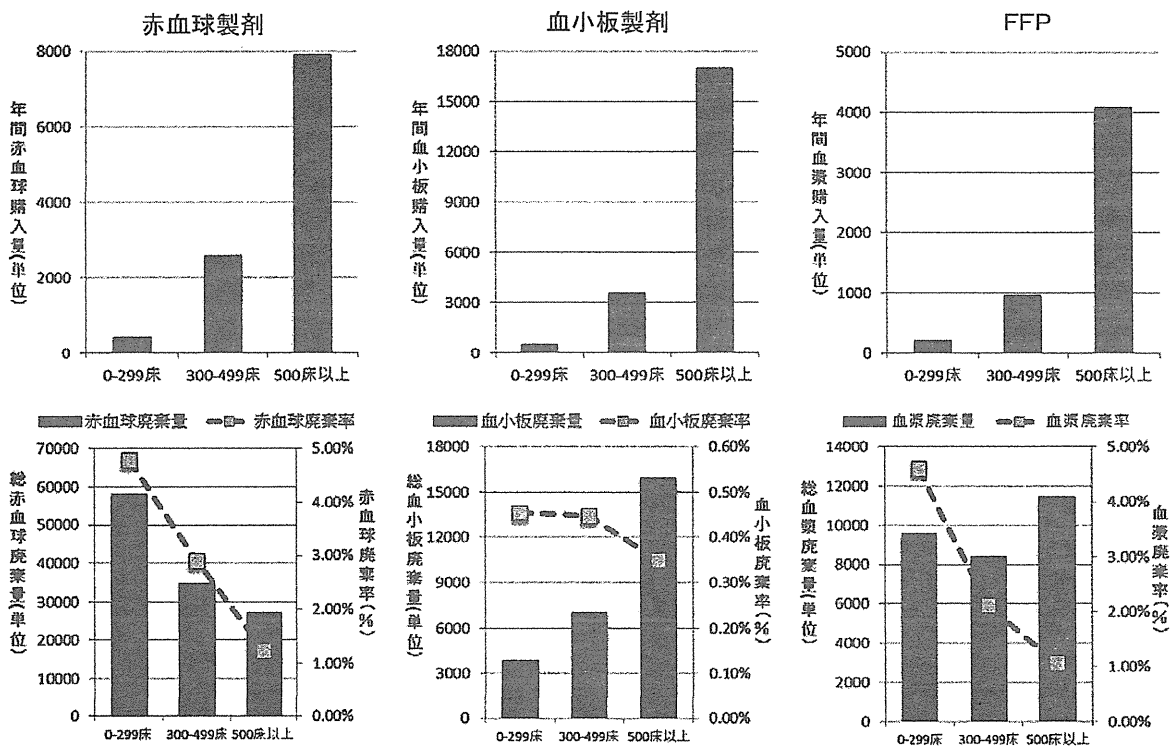


図7 1施設当たりの年間血液製剤購入量と廃棄量の総和

- 6) 高橋孝喜, 稲葉頌一, 半田 誠, 他: 2005 年度輸血関連
総括アンケート調査報告—輸血部門の管理体制および輸
血療法委員会に関する調査. 日本輸血細胞治療学会誌,
53 (3) : 365—373, 2007.
- 7) 高橋孝喜, 稲葉頌一, 半田 誠, 他: 2006 年度輸血関連
総括アンケート調査報告—輸血管理体制, 輸血療法委員
会および血液の適正使用推進に関する調査—, 日本輸血
細胞治療学会誌, 54 (3) : 398—405, 2008.
- 8) 牧野茂義, 田中朝志, 高橋孝喜, 他: 2007 年度輸血関連
総括アンケート調査報告 輸血管理体制と血液の適正使
用に関する調査. 日本輸血細胞治療学会誌, 55(6) : 717—
722, 2009.

NATIONWIDE QUESTIONNAIRE SURVEY OF TRANSFUSION MEDICINE IN FISCAL YEAR 2012

*Shigeyoshi Makino*¹⁾, *Asashi Tanaka*²⁾, *Shuichi Kino*³⁾, *Junichi Kitazawa*⁴⁾, *Hirokazu Tsuno*⁵⁾,
*Kimitaka Sagawa*⁶⁾, *Koki Takahashi*⁷⁾ and *Makoto Handa*⁸⁾

¹⁾Department of Transfusion Medicine, Toranomon Hospital

²⁾Department of Transfusion Medicine, Tokyo Medical University Hachioji Medical Center

³⁾Department of Medical Laboratory and Transfusion Service, Asahikawa Medical University Hospital

⁴⁾Division of Blood Transfusion, Kuroishi General Hospital

⁵⁾Department of Transfusion Medical and Immunohematology, the University of Tokyo Hospital

⁶⁾Japanese Red Cross Saga Blood Center

⁷⁾Central Blood Institute, Blood Service Headquarters, The Japanese Red Cross Society

⁸⁾Center for Transfusion Medicine and Cell Therapy, Keio University Hospital

Abstract:

In the survey conducted in 2012, among the 11,348 Japanese institutions receiving blood supply from the Japanese Red Cross Blood Center (JRCBC), the 4,812 institutions, which responded to the questionnaire, were enrolled. Except for the appointment of the doctor responsible for the management of transfusion, more than 90% of the large institutions (more than 300 beds) achieved the establishment of blood managing system. In cases of small institutions (less than 300 beds), however, only 50 to 70% of them achieved it and no significant improvement was observed in the last 5 years. Especially, the appointment rate of the doctor responsible for the management of transfusion was as low as 50.3%. Compared to the fiscal year 2008, the number of red blood cells, platelets products and fresh frozen plasma (FFP) used per number of beds in the fiscal year 2012 has increased by 15.6%, 21.5% and 30.1%, respectively. 2-5 times regional variations in the amount of blood product usage (red blood products by 2.1 times, platelet products by 4.1 times, FFP by 4.4 times, albumin by 4.1 times and IVIG by 5.1 times) was observed. It is an important issue to promote the establishment of blood managing system in the small institutions, which account for 90% of all transfusions, and is also critical to decrease the differences in the use of blood products between regional institutions.

Keywords:

nationwide questionnaire survey on transfusion medicine, transfusion management system,
appropriate blood transfusion

References

- Chou, T.C. & Talalay, P. (1984) Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Advances in Enzyme Regulation*, **22**, 27–55.
- Fahy, B.N., Schlieman, M.G., Virudachalam, S. & Bold, R.J. (2003) Schedule-dependent molecular effects of the proteasome inhibitor bortezomib and gemcitabine in pancreatic cancer. *Journal of Surgical Research*, **113**, 88–95.
- Lonial, S., Kaufman, J., Tighiouart, M., Nooka, A., Langston, A.A., Heffner, L.T., Torre, C., McMillan, S., Renfro, H., Harvey, R.D., Lechowicz, M.J., Khoury, H.J., Flowers, C.R. & Waller, E.K. (2010) A phase I/II trial combining high-dose melphalan and autologous transplant with bortezomib for multiple myeloma: a dose- and schedule-finding study. *Clinical Cancer Research*, **16**, 5079–5086.
- Mitsiades, N., Mitsiades, C.S., Richardson, P.G., Poulaki, V., Tai, Y.T., Chauhan, D., Fanourakis, G., Gu, X., Bailey, C., Joseph, M., Libermann, T. A., Schlossman, R., Munshi, N.C., Hideshima, T. & Anderson, K.C. (2003) The proteasome inhibitor PS-341 potentiates sensitivity of multiple myeloma cells to conventional chemotherapeutic agents: therapeutic applications. *Blood*, **101**, 2377–2380.
- Nencioni, A., Hua, F., Dillon, C.P., Yokoo, R., Scheiermann, C., Cardone, M.H., Barbieri, E., Rocco, I., Garuti, A., Wesselborg, S., Belka, C., Brossart, P., Patrone, F. & Ballestrero, A. (2005) Evidence for a protective role of Mcl-1 in proteasome inhibitor-induced apoptosis. *Blood*, **105**, 3255–3262.
- Popat, R., Oakervee, H., Williams, C., Cook, M., Craddock, C., Basu, S., Singer, C., Harding, S., Foot, N., Hallam, S., Odeh, L., Joel, S. & Cavenagh, J. (2009) Bortezomib, low-dose intravenous melphalan, and dexamethasone for patients with relapsed multiple myeloma. *British Journal of Haematology*, **144**, 887–894.
- San Miguel, J.F., Schlag, R., Khuageva, N.K., Dimopoulos, M.A., Shpilberg, O., Kropff, M., Spicka, I., Petrucci, M.T., Palumbo, A., Samoilova, O.S., Dmoszynska, A., Abdulkadyrov, K.M., Schots, R., Jiang, B., Mateos, M.V., Anderson, K.C., Essetine, D.L., Liu, K., Cakana, A., van de Velde, H. & Richardson, P.G. (2008) Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *New England Journal of Medicine*, **359**, 906–917.
- Spanswick, V.J., Craddock, C., Sekhar, M., Mahendra, P., Shankaranarayana, P., Hughes, R.G., Hochhauser, D. & Hartley, J.A. (2002) Repair of DNA interstrand crosslinks as a mechanism of clinical resistance to melphalan in multiple myeloma. *Blood*, **100**, 224–229.
- Weigert, O., Pastore, A., Rieken, M., Lang, N., Hiddemann, W. & Dreyling, M. (2007) Sequence-dependent synergy of the proteasome inhibitor bortezomib and cytarabine in mantle cell lymphoma. *Leukemia*, **21**, 524–528.
- Yarde, D.N., Oliveira, V., Mathews, L., Wang, X., Villagra, A., Boulware, D., Shain, K.H., Hazlehurst, L.A., Alsina, M., Chen, D.T., Beg, A.A. & Dalton, W.S. (2009) Targeting the Fanconi anemia/BRCA pathway circumvents drug resistance in multiple myeloma. *Cancer Research*, **69**, 9367–9377.

Occupancy of whole blood cells by a single *PIGA*-mutant clone with *HMG2* amplification in a paroxysmal nocturnal haemoglobinuria patient having blood cells with NKG2D ligands

Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) is an acquired stem cell disorder caused by expansion of PNH clones that harbour *PIGA* mutations and lack glycosylphosphatidylinositol (GPI)-linked membrane proteins, such as CD55 and CD59, leading to complement-mediated intravascular haemolysis and thrombosis (Parker & Ware, 2003). PNH also manifests immune-mediated bone marrow (BM) failure. PNH presents critical problems that need to be resolved (Luzzatto *et al*, 1997; Dunn *et al*, 2000; Inoue *et al*, 2003; Nakakuma & Kawaguchi, 2003; Parker & Ware, 2003): the mechanism by which PNH clones expand, the pathogenesis of BM failure, which is a major cause of death, and PNH aetiology.

Two hypotheses exist for the mechanism of clonal expansion: survival and growth advantage theories. For the first theory, PNH clones selectively survive in the setting of immune-mediated BM injury (survival advantage) (Dunn *et al*, 2000; Inoue *et al*, 2003; Nakakuma & Kawaguchi, 2003). A possible candidate for this is NKG2D (KLRK1)-

mediated immunity (Hanaoka *et al*, 2009), which is triggered by the expression of ligands, such as major histocompatibility complex class I chain-related peptides A and B (MICA/B) and cytomegalovirus UL-16 binding proteins (ULBPs). MICA/B and ULBPs are peptide-linked (transmembrane) and GPI-linked membrane proteins, respectively. The ligands share NKG2D as a common receptor on such lymphocytes as natural killer (NK) cells and CD8⁺ cytotoxic T cells. The engagement of NKG2D with its ligands that are frequently coexpressed promotes the elimination of NKG2D ligand-expressing cells by NKG2D⁺ lymphocytes. Then, PNH clones lacking GPI-linked ULBPs may preferentially survive by immunoselection (Hanaoka *et al*, 2006). The growth advantage theory is partly supported by the pathological expression of genes such as high mobility group AT-hook 2 (*HMG2*), which encodes a transcription factor often found in benign tumours such as lipoma and myoma, early growth response factor 1 (*EGR1*), and Wilms' tumour 1 (*WT1*) (Inoue *et al*, 2003; Nakakuma & Kawaguchi, 2003; Ikeda *et al*, 2011;

Murakami *et al*, 2012). Current reports suggest that the two theories are cooperative rather than mutually exclusive (Inoue *et al*, 2003; Nakakuma & Kawaguchi, 2003). Indeed, we here report a patient with PNH showing this cooperation.

A 47-year-old woman was diagnosed as having PNH with a coexisting congenital deficiency of C9 in 1980. She is presently 79 years old and has maintained a high quality of life for more than 32 years after PNH diagnosis. She has mild BM failure responsive to low-dose metenolone acetate (10 mg/day). She

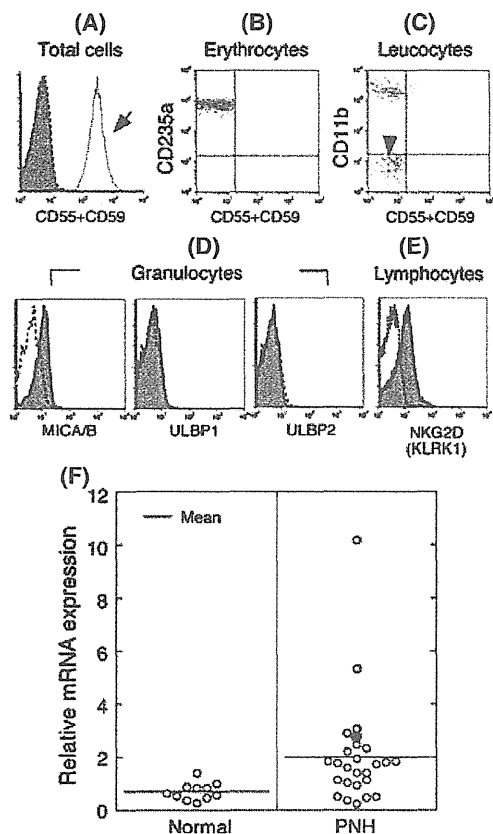


Fig 1. Characterization of the PNH clone. (A-C) Lack of CD55 and CD59. (A) total peripheral blood cells (Total cells, shaded histogram), (B) erythrocytes (CD235a⁺ cells), (C) granulocytes (CD11b⁺ cells) and lymphocytes (CD11b⁻ cells, ▽). An arrow (in panel A) indicates blood cells positive for CD55 and CD59 of a healthy donor (positive control). (D) Granulocytes positive for MICA/B but negative for ULBPs. (E) Lymphocytes positive for NKG2D. (F) *HMG2* mRNA amplification in leucocytes of the present case in this report. For comparison, the data of the present case (●) were shown together with our published data of 25 patients with PNH (PNH) and 11 healthy volunteers (Normal) (Murakami *et al*, 2012). The value of relative expression shows the ratio of *HMG2* mRNA expression: sample/normal control. The mean relative mRNA expression (—) was 1.97 ± 1.15 (standard deviation, SD) in PNH, 0.73 in the present case of PNH, and 0.70 ± 0.26 in normal individuals. (A, D, and E) Dotted lines in the histograms indicate nonspecific background staining with isotype-matched control immunoglobulin.

also manifests very low levels of both intra- and extravascular haemolysis, with detection of haemosiderinuria and C3d-bound erythrocytes (Hanaoka *et al*, 2012). Flow cytometry showed complete occupancy of her peripheral blood by PNH cells negative for both CD55 and CD59 (Fig 1A). Erythrocytes (Fig 1B) and leucocytes (Fig 1C) all had the PNH phenotype. In general, it is very rare that all lymphocytes show PNH phenotype even in patients with high population of PNH-erythrocytes and -granulocytes. Of interest, virtually all cells in the lymphocyte fraction (CD11b⁻ leucocytes) were also negative for CD55 and CD59 (Fig 1C). It is then conceivable that all haematopoietic stem cells are also affected. The blood cells were of a single *PIGA*-mutant clone, which has persistently maintained haematopoiesis under the treatment with low-dose metenolone acetate for more than 13 years since 1998 (data not shown). These findings prompted us to be concerned about the mechanism by which the mutant clone completely occupies blood cells in the patient.

Regarding NKG2D-mediated immunity as a potential candidate that allows the immunoselection of PNH clones (Inoue *et al*, 2003; Nakakuma & Kawaguchi, 2003; Hanaoka *et al*, 2006, 2009), we confirmed the pathological expression of MICA/B, peptide-linked NKG2D ligands, on granulocytes (Fig 1D). Given that NKG2D receptor is expressed in the patient's lymphocytes (Fig 1E), NKG2D-mediated injury of the blood cells may occur in the patient (Hanaoka *et al*, 2006, 2009). In this setting, the *PIGA*-mutant clone lacking ULBPs as GPI-linked NKG2D ligands (Fig 1D) may survive and accumulate (Hanaoka *et al*, 2006, 2009), leading to clonal expansion. Of note, the *PIGA*-mutant clone also showed *HMG2* amplification about four times normal (Fig 1F), which is reported to confer the benign tumour-like growth phenotype (Ikeda *et al*, 2011; Murakami *et al*, 2012). The amplification may also support expansion of the mutant clone in the patient.

This is the first case of PNH indicating the marked expansion of a single PNH clone by combination of both survival and growth advantages.

Acknowledgements

The authors thank Tatsuya Kawaguchi of Kumamoto University for his critical discussion.

This work was supported by grants from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology of Japan, the Ministry of Labour and Welfare of Japan, and the Takeda Science Foundation.

Author contributions

NH designed and performed research, analysed data, and wrote the paper. YM and TK performed molecular analyses. MN, KH, SN, YY, SM, and TS analysed clinical data. HN supervised the project, analysed data, and wrote the paper.

Conflicts of interest

All authors declare no competing financial interests.

Nobuyoshi Hanaoka¹
Yoshiko Murakami²
Masahide Nagata³
Kentaro Horikawa⁴
Shoichi Nagakura⁵
Yuji Yonemura⁶
Shogo Murata¹
Takashi Sonoki¹
Taroh Kinoshita²
Hideki Nakakuma¹

¹Department of Haematology/Oncology, Wakayama Medical University, Wakayama, ²Research Institute for Microbial Diseases and WPI

Immunology Frontier Research Centre, Osaka University, Osaka, ³Nagata ENT Clinic, Kumamoto, ⁴Koshi Dai-Ichi Hospital, Kumamoto, ⁵Department of Haematology, National Hospital Organization Kumamoto Medical Centre, Kumamoto, and ⁶Department of Blood Transfusion Medicine and Cell Therapy, Kumamoto University, Kumamoto, Japan
E-mail: nhanaoka@wakayama-med.ac.jp

Keywords: paroxysmal nocturnal haemoglobinuria, immunoselection, clonal expansion, NKG2D (KLRK1), high mobility group AT-hook 2

First published online 18 October 2012

doi: 10.1111/bjh.12093

References

- Dunn, D.E., Liu, J.M. & Young, N.S. (2000) Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. In: *Bone Marrow Failure Syndromes* (ed. by N.S. Young), pp. 99–121. Saunders, Philadelphia, PA.
- Hanaoka, N., Kawaguchi, T., Horikawa, K., Nagakura, S., Mitsuya, H. & Nakakuma, H. (2006) Immunoselection by natural killer cells of *PIGA* mutant cells missing stress-inducible ULBP. *Blood*, **107**, 1184–1191.
- Hanaoka, N., Nakakuma, H., Horikawa, K., Nagakura, S., Tsuzuki, Y., Shimanuki, M., Kojima, K., Yonemura, Y. & Kawaguchi, T. (2009) NKG2D-mediated immunity underlying paroxysmal nocturnal haemoglobinuria and related bone marrow failure syndromes. *British Journal of Haematology*, **146**, 538–545.
- Hanaoka, N., Murakami, Y., Nagata, M., Nagakura, S., Yonemura, Y., Sonoki, T., Kinoshita, T. & Nakakuma, H. (2012) Persistently high quality of life conferred by coexisting congenital deficiency of terminal complement C9 in a paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patient. *Blood*, **119**, 3866–3868.
- Ikeda, K., Mason, P.J. & Bessler, M. (2011) 3'UTR-truncated *Hmga2* cDNA causes MPN-like hematopoiesis by conferring a clonal growth advantage at the level of HSC in mice. *Blood*, **117**, 5860–5869.
- Inoue, N., Murakami, Y. & Kinoshita, T. (2003) Molecular genetics of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *International Journal of Hematology*, **77**, 107–112.
- Luzzatto, L., Bessler, M. & Rotoli, B. (1997) Somatic mutations in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a blessing in disguise? *Cell*, **88**, 1–4.
- Murakami, Y., Inoue, N., Shichishima, T., Ohta, R., Noji, H., Maeda, Y., Nishimura, J., Kanakura, Y. & Kinoshita, T. (2012) Deregulated expression of *HMG2* is implicated in clonal expansion of *PIGA* deficient cells in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *British Journal of Haematology*, **156**, 383–387.
- Nakakuma, H. & Kawaguchi, T. (2003) Pathogenesis of selective expansion of PNH clones. *International Journal of Hematology*, **77**, 121–124.
- Parker, C.J. & Ware, R.E. (2003) Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. In: *Wintrobe's Clinical Hematology* (ed. by J.P. Greer, F. Foerster, J.N. Leukens, G.M. Rodgers, F. Paraskevas & B. Glader), pp. 1203–1221. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, MD.

Complement C3 is a substrate for activated factor XIII that is cross-linked to fibrin during clot formation

Complement C3 is the main effector protein of the complement system and plays a major role in innate immunity. A growing body of evidence indicates complex interactions between the complement and coagulation cascades (Oikonomopoulou *et al*, 2012), which are likely to be beneficial in the context of protection following injury. We previously identified C3 as a novel clot component and demonstrated that C3 binds to fibrin with high affinity and prolongs fibrinolysis in a purified system and plasma milieu (Howes *et al*, 2012), consistent with results of several clinical studies (Schroeder *et al*, 2010; Hess *et al*, 2012; Howes *et al*, 2012).

In the present study we further explored the mechanisms by which C3 becomes incorporated into clots, by evaluating the interactions between C3 and factor XIII (FXIII). Using 5-(biotinamido)pentylamine (BPNH2) in microplate-based cross-linking assays (full details of all methods are provided Appendix S1), BPNH2 was incorporated into immobilized C3 and fibrinogen (positive control) in the presence of thrombin-activated FXIII (FXIIIa) but not zymogen FXIII (FXIIIa2B2) in a concentration-dependent manner (Fig 1A). Time-dependent incorporation of BPNH2 to C3 in the fluid phase was also observed in the presence of FXIIIa but not

総説

OPTIMA 試験：高精度フローサイトメトリー法による GPI アンカー膜蛋白欠損血球の検出

山本 正樹¹⁾, 西村 純一¹⁾, 細川 晃平²⁾, 杉盛 千春²⁾, 米村 雄士³⁾, 小原 直⁴⁾,
野地 秀義⁵⁾, 中村 嘉彦⁶⁾, 安藤 潔⁶⁾, 七島 勉⁵⁾, 二宮 治彦⁴⁾, 千葉 滋⁴⁾,
川口 辰哉³⁾, 金倉 譲¹⁾, 中尾 眞二²⁾

OPTIMA study : Detection of GPI-anchored protein deficient cells using high-resolution flow cytometry

Masaki Yamamoto, M.D.¹⁾, Jun-ichi Nishimura, M.D.¹⁾, Kohei Hosokawa, M.D.²⁾, Chiharu Sugimori, M.D.²⁾,
Yuji Yonemura, M.D.³⁾, Naoshi Obara, M.D.⁴⁾, Hideyoshi Noji, M.D.⁵⁾, Yoshihiko Nakamura, M.D.⁶⁾, Kiyoshi Ando, M.D.⁶⁾,
Tsutomu Shichishima, M.D.⁵⁾, Haruhiko Ninomiya, M.D.⁴⁾, Shigeru Chiba, M.D.⁴⁾, Tatsuya Kawaguchi, M.D.³⁾,
Yuzuru Kanakura, M.D.¹⁾, Shinji Nakao, M.D.²⁾

¹⁾ Department of Hematology and Oncology, Graduate School of Medicine, Osaka University

²⁾ Kanazawa University

³⁾ Kumamoto University

⁴⁾ University of Tsukuba

⁵⁾ Fukushima Medical University

⁶⁾ Tokai University

Abstract

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a hematologic disorder characterized by the clonal expansion of hematopoietic stem cells that are incapable of glycosylphosphatidylinositol (GPI) -anchor biosynthesis, due to an acquired somatic mutation in the *phosphatidylinositol glycan class A*-gene. The detection of GPI-anchored protein deficient cells by flow cytometry (FCM) is essential for the diagnosis of PNH. Moreover, it helps to predict response to immunosuppressive therapy in patients with bone marrow failure (BMF) such as aplastic anemia (AA). However, the clinical significance of such PNH-type cells has not been assessed in a multi-centered, large-scale study. A nationwide multi-center prospective observational study (OPTIMA study) was conducted to determine the prevalence of increased PNH-type cells and its correlation with prognosis in patients who develop BMF. PNH-type cells were detected with a high-resolution FCM method with liquid fluorescent aerolysin and antibodies against CD55 and CD59 that was established by Kanazawa University. The sensitivity and specificity of the assay (granulocytes, $\geq 0.003\%$; erythrocytes, $\geq 0.005\%$) were validated by six laboratories using a positive sample containing 0.01% PNH-type cells as well as a negative sample from a healthy individual. Of 664 cases examined so far, 240 (36.1%) had PNH-type cells and 76 (11.4%) had $\geq 1\%$ PNH-type cells. In patients who had $\geq 1\%$ PNH-type cells, 50% showed lactate dehydrogenase levels ≥ 1.5 upper limits of normal cases. Thus, we confirmed the feasibility for different laboratories to detect PNH-type cells less than 0.1% precisely with a standardized high-resolution FCM method.

Key words : OPTIMA, PNH, high-resolution flow cytometry

はじめに

発作性夜間ヘモグロビン尿症 (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : PNH) は、造血幹細胞の *phosphatidylinositol glycan class-A* 遺伝子に後天性の変異が起こり、glycosylphosphatidylinositol (GPI) アンカー膜蛋白の合成障害を来し、CD59 や CD55 といった GPI アンカー型の補体制御因子を欠損する PNH 型血球が、補体の活性化に伴い血管内溶血を起こす疾患である¹⁻³⁾。

PNH の 3 大症状は、血管内溶血、骨髄不全、血栓症であるが、それぞれの程度とバランスは症例ごとに大きく異なる^{4,5)}。また、慢性的な溶血は疲労感、腹痛、嚥下障害、勃起不全などの様々な症状を起こし、血栓症を誘発し、腎不全や肝障害などの臓器障害の原因となる^{4,5)}。

1. OPTIMA 試験の背景

PNH の診断基準は 2010 年度に改訂されたが (Table 1)、溶血所見を認めることと併せて、フローサイトメトリー法により GPI アンカー型膜蛋白の欠損した PNH 型血球を検出、定量することが重要とされている。この診断基準には「PNH 型赤血球が 1～10% であれば、溶血所見を認めることが多い」の記述があるが、「1% 以上の PNH 型赤血球の存在」を臨床的 PNH の診断基準としてよいかはエビデンスが存在せず、長い間問題とされている。また、フローサイトメトリー法による PNH 型血球の検出は、2012 年度の時点で診療報酬制度上、赤血球の two-color 分析法での鑑別診断でしか認められていない。即ち、赤血球より PNH 型血球のクローンサイズを正確に反映する顆粒球での検査⁶⁾ および PNH 型血球検出後のフォローアップ検査は対象外となっている。

さらに、近年では、金沢大学が開発した高精度フローサイトメトリー法によって、従来のフローサイトメトリー法では判定が困難な 0.1% 未満の微少 PNH 型血球の検出が骨髄不全疾患における免疫抑制療法の効果予測に有用であることが示されている。実際に高

精度フローサイトメトリー法を用いると、再生不良性貧血 (aplastic anemia : AA) 患者の約 50%、芽球や環状鉄芽球の増加を認めない低リスク骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndrome : MDS) 患者の約 15% に微少 PNH 型血球が検出される⁷⁾。このような微少 PNH 型血球が存在する症例では、存在しない症例と比較して免疫抑制療法の反応性が有意にすぐれていた^{8,9)}。ただし、これは後方視的な解析によるものであり、前方視的な観察研究による検証が必要とされている。

2. OPTIMA 試験の概要

前述の問題点を踏まえて、日本 PNH 研究会は「骨髄不全症候群および発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH) 疑い症例における GPI アンカー膜蛋白欠損血球の保有率とその意義を明らかにするための観察研究 (OPTIMA)」を開始した。

全ての対象患者よりインフォームドコンセントを得た上で匿名化を行い本観察研究に登録した。予定登録患者数は 1000 例、登録期間は 2013 年 12 月 31 日までで観察期間は 3 年である (Table 2)。主要評価項目においては、各疾患において PNH 型血球を 1% 以上保有する患者を同定し、その臨床経過を観察する。また、副次評価項目では、微少 PNH 型血球を保有する患者を同定し、その経過を観察するとともに免疫抑制療法の効果との関係性を評価する。

3. 高精度フローサイトメトリー法

高精度フローサイトメトリー法において、顆粒球の解析では、抗体は FLAER-Alexa488 (Pinewood Scientific Services)、顆粒球マーカーとして CD11b-PE (BD Biosciences)、7AAD (BD Biosciences) を用いる。FLAER は、細胞表面上 GPI アンカー型膜蛋白のアンカー部分に結合する (Fig. 1, 特許出願中)¹⁰⁾。赤血球の解析では、抗体は CD55+59-FITC (BD Biosciences)、赤血球マーカーとして glycophorinA-PE (Dako) を用いる。フローサイトメトリー法は FACSCanto II (BD Biosciences) または同等の性能を有するものを用い、顆粒球で 0.003% 以上、赤血球で 0.005% 以上を陽性とする。顆粒球における実際のゲーティングを Fig. 2 に示す。この症例では 0.015% の PNH 型顆粒球を認める。

一元化の基本的な条件は、同一検査プロトコールを使用した上で各検査協力施設 (金沢大学、大阪大学、熊本大学、筑波大学、東海大学、福島県立医科大学) で (1) 同一の試薬を使用、(2) 検出感度が一致、(3) カッ

¹⁾ 大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科学

²⁾ 金沢大学

³⁾ 熊本大学

⁴⁾ 筑波大学

⁵⁾ 福島県立医科大学

⁶⁾ 東海大学

Table 1 PNH の診断基準 (2010 年度改訂)

1. 臨床所見として、貧血、黄疸のほか肉眼的ヘモグロビン尿(淡赤色尿～暗褐色尿)を認める。ときに静脈血栓、出血傾向、易感染性を認める。先天発症はないが、育壮年を中心に広い年齢層で発症する。
2. 以下の所見がしばしばみられる。
 - 1) 貧血および白血球、血小板の減少
 - 2) 血清間接ビリルビン値上昇、LDH値上昇、ハプトグロビン値低下
 - 3) 尿上清のヘモグロビン陽性、尿沈渣のヘモジデリン陽性
 - 4) 好中球アルカリホスファターゼスコア低下、赤血球アセチルコリンエステラーゼ低下
 - 5) 骨髓赤芽球増加(骨髓は過形成が多いが低形成もある)
 - 6) Ham(酸性化血清溶血)試験陽性または砂糖水試験陽性
3. 以下の検査所見によって診断を確実なものとする。
 - 1) グリコシルホスファチジルイノシトール(GPI)アンカー型膜蛋白の欠損血球(PNHタイプ血球)の検出と定量
 - 2) 骨髓穿刺、骨髓生検、染色体検査等による他の骨髓不全疾患の判定
4. 以下によって病型分類を行う。
 - 1) 臨床的PNH(溶血所見がみられる)
 - (1) 古典的PNH
 - (2) 骨髓不全型PNH
 - (3) 混合型PNH
 - 2) PNHタイプ血球陽性の骨髓不全症(溶血所見は明らかでないPNHタイプ血球陽性の骨髓不全症は、下記のように呼び、臨床的PNHとは区別する)
 - (1) PNHタイプ血球陽性の再生不良性貧血
 - (2) PNHタイプ血球陽性の骨髓異形成症候群
 - (3) PNHタイプ血球陽性の骨髓線維症、など
5. 参考
 - 1) PNHは溶血性貧血と骨髓不全症の側面を併せ持つ造血幹細胞異常による疾患である。骨髓不全型PNHは、再生不良性貧血-PNH症候群によって代表される。
 - 2) PNHタイプ血球の検出と定量には、抗CD55および抗CD59モノクローナル抗体またはFLAERを用いたフローサイトメトリー法が推奨される。PNHタイプ好中球比率はしばしばPNHタイプ赤血球のそれより高値を示す。
 - 3) 溶血所見として、肉眼的ヘモグロビン尿、網赤血球増加、血清LDH値上昇、間接ビリルビン値上昇、血清ハプトグロビン値低下が参考になる。PNHタイプ赤血球が1～10%であれば、溶血所見を認めることが多い。

Table 2 OPTIMA 試験の概要

予定登録患者数; 1000例以上

登録期間; 2011年4月～2013年12月31日

研究期間; 2011年4月～2016年12月31日(観察期間3年)

主要評価項目;

- 各疾患において初回測定時のPNH型血球(赤血球および顆粒球)を1%以上保有する患者の割合

副次評価項目;

- 各疾患において初回測定時のPNH型血球(赤血球および顆粒球)の陽性率が赤血球 $\geq 0.005\%$ 、顆粒球 $\geq 0.003\%$ を示す患者の割合
- 初回測定時PNH型血球が陽性(赤血球 $\geq 0.005\%$ 、顆粒球 $\geq 0.003\%$)であった例におけるPNH型血球の割合の経時的変化
- PNH型血球測定後に施行された免疫抑制療法の効果とPNH型血球の増減との関係

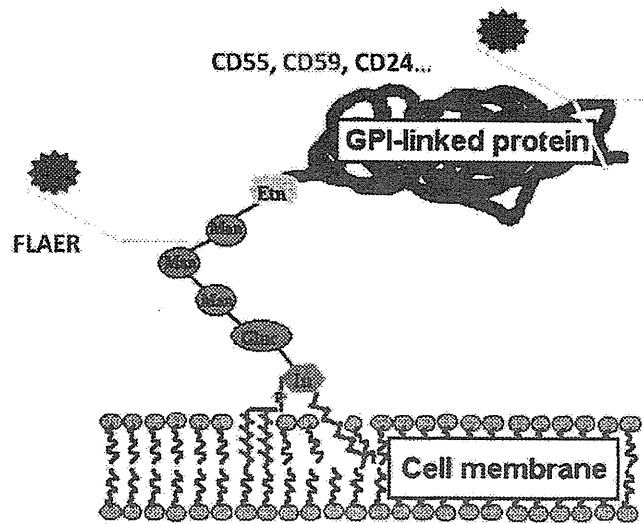


Figure 1 FLAER (Fluorescent-Labeled inactive toxin AERolysin)

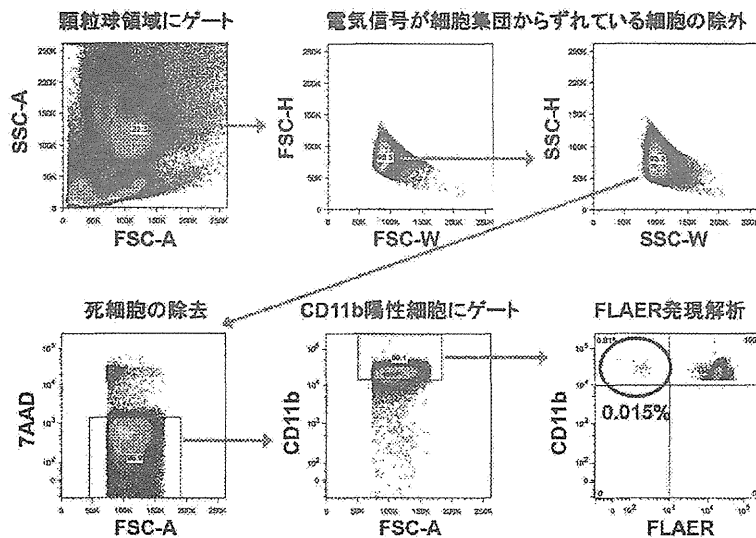


Figure 2 PNH 顆粒球解析におけるゲーティング

トオフ値が一致していることで、その上で約 0.01% の PNH 型血球を有する健常人（陽性コントロール）検体と、PNH 型血球を有さない別の健常人（陰性コントロール）を用いた定期的なクロスバリデーションにより各施設における精度を維持している。

4. 中間解析結果

2012 年 9 月の時点で、仮登録数は 709 例、実際に解析を行った登録数は 664 例であった (Fig. 3)。PNH 型血球陽性症例は 240 例 (36.1%) であり、この中で陽性率が 1% 以上の症例は 76 例 (11.4%) であった。

PNH 型血球陽性症例における原疾患の割合は、AA が 52% で最も多く、次いで MDS15%、PNH13% であった (Fig. 4)。また、PNH 型血球 1% 以上の症例における原疾患の割合は、AA41%、PNH35%、MDS11% であった (Fig. 5)。

PNH 型血球 1% 以上の症例においては、その 50% で lactate dehydrogenase (LDH) が施設基準値の 1.5 倍以上となっており溶血の存在が示唆された。PNH 型血球の存在比率が増大するにつれて、LDH が上昇している症例の割合も増加していた (Table 3)。

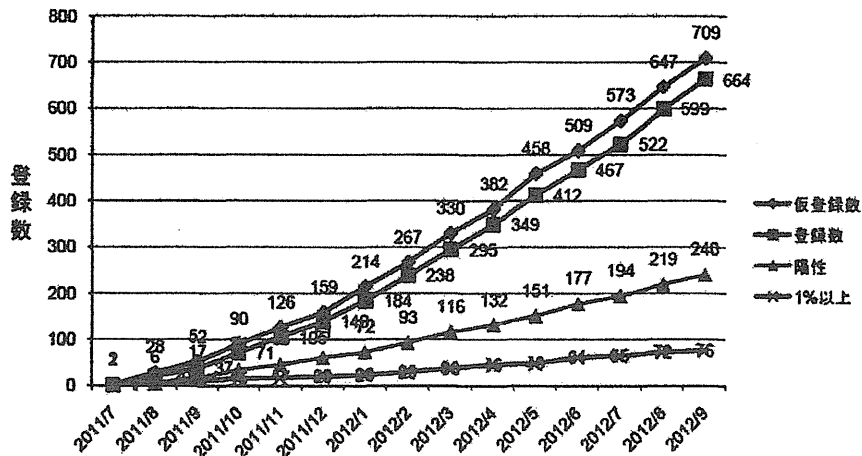


Figure 3 症例登録数

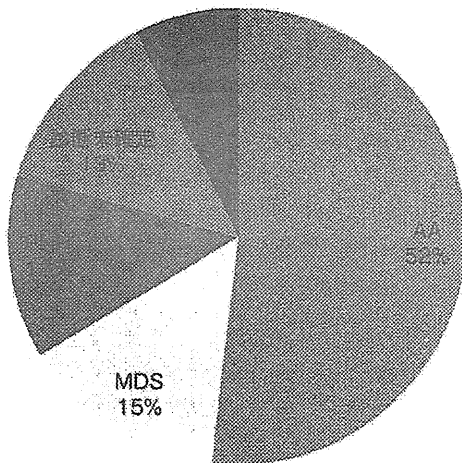


Figure 4 PNH 血球陽性症例における原疾患の割合

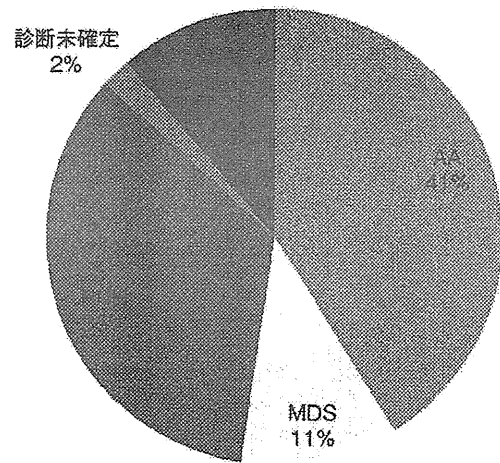


Figure 5 PNH 血球 1%以上の症例における原疾患の割合

Table 3 PNH 血球 1%以上症例における LDH 基準値上限 1.5 倍を超えた症例の割合

	No. of cases	% 1.5 x ULN
PNH clone \geq 1%	64	50.0%
PNH clone \geq 1% and LDH > 1.5 x ULN	32	
PNH clone \geq 3%	48	64.6%
PNH clone \geq 3% and LDH > 1.5 x ULN	31	
PNH clone \geq 5%	42	69.0%
PNH clone \geq 5% and LDH > 1.5 x ULN	29	
PNH clone \geq 7%	41	70.7%
PNH clone \geq 7% and LDH > 1.5 x ULN	29	
PNH clone \geq 10%	35	74.3%
PNH clone \geq 10% and LDH > 1.5 x ULN	26	

おわりに

金沢大学で確立された高精度フローサイトメトリー法を用いることによって、異なる施設において同一の感度・特異度で 0.1% 未満の微少 PNH 型血球が検出できることを確認した。また、全国 6 施設で地域を分担することにより、全国のどの施設でも PNH 型血球検査を受けられる体制を確立した。

微少 PNH 型血球の意義、特に免疫抑制療法の効果との関係を検討するために、さらなる症例の蓄積と観察が必要である。

謝 辞

本 OPTIMA 試験の運営にあたりご協力いただいたアレクシオファーマ合同会社に深謝致します。

文 献

- 1) Miyata T, Takeda J, Iida Y, et al: The cloning of FIG-A, a component in the early step of GPI-anchor biosynthesis. *Science* 259: 1318-1320, 1993
- 2) Takeda J, Miyata T, Kawagoe K, et al: Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the FIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cell* 73: 703-711, 1993
- 3) Miyata T, Yamada N, Iida Y, et al: Abnormalities of FIG-A transcripts in granulocytes from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 330: 249-255, 1994
- 4) Nishimura J, Kanakura Y, Ware RE, et al: Clinical course and flow cytometric analysis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the United States and Japan. *Medicine* 83: 193-207, 2004
- 5) Parker C, Omine M, Richards S, et al: Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 106: 3699-709, 2005
- 6) Nakamura H, Nagakura S, Iwamoto N, et al: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in bone marrow of patients with pancytopenia. *Blood* 85: 1371-1376, 1995
- 7) Nakao S, Sugimori C, Yamazaki H: Clinical significance of a small population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in the management of bone marrow failure. *Int J Hematol* 84: 118-122, 2006
- 8) Wang H, Chuhjo T, Yasue S, et al: Clinical significance of a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in bone marrow failure syndrome. *Blood* 100: 3897-3902, 2002
- 9) Sugimori C, Chuhjo T, Feng X, et al: Minor population of CD55⁻CD59⁻ blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia. *Blood* 107: 1308-1314, 2006
- 10) Brodsky RA, Mukhina GL, Nelson KL, et al: Resistance of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells to the glycosylphosphatidylinositol-binding toxin aerolysin. *Blood* 93: 1749-1756, 1999

別冊請求先 : 〒 565-0871 吹田市山田丘 2-2

大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科学, 山本 正樹 (やまもと まさき)

Tel : 06-6879-3871 Fax : 06-6879-3879 e-mail : myama@bldon.med.osaka-u.ac.jp

検査技師が起こしやすい 輸血関連のインシデントとその防止対策

今月の講師 ● 米村雄士 (熊本大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部 副部長)

はじめに

2000年12月、柴田らによって大規模な輸血過誤症例の調査が過去5年間(1995~1999年)について日本ではじめて行われ、ABO輸血過誤は166件(年間平均33件)で、そのなかに赤血球製剤(RBC)のMajor mismatchが51件(年間平均10件)あった¹⁾。2004年から開始された日本輸血・細胞治療学会および日本臨床衛生検査技師会の「輸血関連総合アンケート調査」は今年で9年目を迎えるが、その中で輸血過誤によるABO型異型輸血症例が毎年詳細に調査されている²⁾。

最近の輸血過誤

2006年からは毎年調査が行われるようになり、2010年には調査対象の病院も増加してきて、その数は11,449病院で、そのうち4,352の病院がアン

ケートに回答した。それらの病院では、およそ65万人の患者に輸血が行われ、輸血されたバッグ数はRBCが208万、血漿製剤(FFP)が65万、血小板(PC)が60万バッグで、日本赤十字血液センターが供給しているバッグ数の約60%に相当した。最初の調査からすると倍以上の輸血数に相当するが、輸血過誤件数は1年間で13件であり、輸血数当りの輸血過誤率は1/5に減少したと思われる。各病院では輸血手順書や輸血マニュアルの整備、IDバンドの装着、輸血検査24時間体制の確立、輸血のコンピュータオーダリングシステムの確立など、輸血実施体制の環境が飛躍的に改善され、輸血療法委員会も設置され、輸血過誤はかなり減少してきた。しかし、輸血手順が徹底されずに輸血過誤に至った症例、すなわち輸血実施時にダブルチェックを行えば防げた症例が半数以上はあることがわかった。

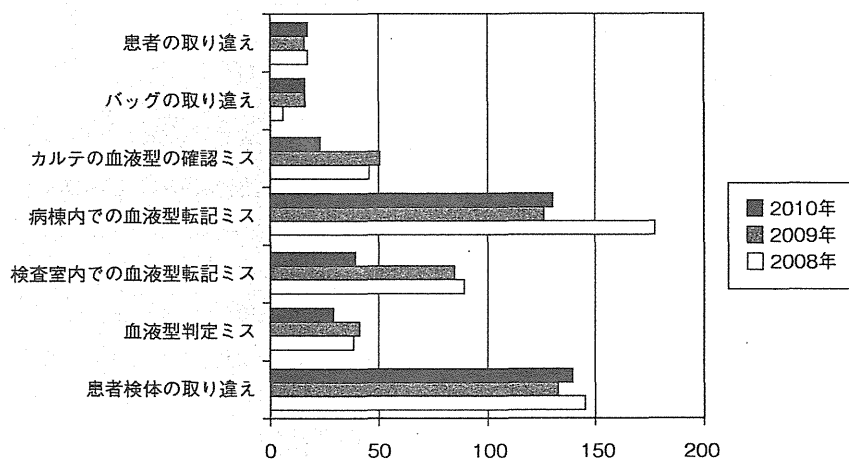


図1 輸血インシデントの原因別発生件数(米村雄士; 2012)³⁾

表 1 日本における 2005～2010 年の輸血過誤状況別発生件数 (米村雄士; 2012)³⁾

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	合計
時間外件数/ 過誤総件数	13/14	5/9	2/7	5/10	3/10	6/13	34/63
緊急件数/ 過誤総件数	5/14	7/9	1/7	1/10	5/10	8/13	27/63

また、実際には輸血過誤には至らなかったインシデント症例の調査が 2008 年から開始された³⁾。2008 年, 2009 年, 2010 年のインシデント総件数は 513 件, 469 件, 385 件で, 図 1 に示すとおり少しずつ減少しており, 病棟内での血液型転記ミスは 170 件, 127 件, 131 件, 検査室内での血液型転記ミスは 90 件, 85 件, 39 件, 患者検体の取り違えは 146 件, 133 件, 140 件であった。しかし, 2005 年からの実際に起こった輸血過誤総件数は, 表 1 に示すとおり, 14, 9, 7, 10, 10, 13 件とほぼ横ばい状態であった。また, 過誤輸血の半数以上は時間外または緊急時に発生しており, 冒頭で述べた柴田らの報告と同じである。

検査技師のかかわった輸血過誤

2008 年から 2010 年の 3 年間における輸血過誤症例は, 表 2 に示すとおり 33 例であり, そのうち検査技師がかかわった症例は, 2008 年が 4 例, 2009 年が 3 例, 2010 年が 3 例の 10 例で, 全体の約 1/3 を占めていた (表 2, 表 3)。

血液型判定ミスが 4 例 (No. 4, 9, 17, 23), 血液型誤記入と確認ミスが 3 例 (No. 6, 7, 13), コンピュータへの血液型登録ミスが 1 例 (No. 16), 申し送り不備で異型製剤をオーダミスしたケースが 1 例 (No. 30), 移植後血液型変更オーダミスの 1 例 (No. 29) であった。

血液型判定ミス

血液型判定ミスの 4 例のうち No. 4 は, B (-) を誤って B (+) と判定した。血液型判定をかならず 2 人で, または 2 回行っていけば防げた症例であり, 病院内の輸血手順書の改善が今後必要で

あるかもしれない。

No. 9, 17, 23 は時間外の輸血で, 3 例とも輸血専任でない技師の判定ミスによる症例であった。時間外の輸血が多い病院では, マンパワーに余裕があれば, 日当直は輸血専任技師を置くほうがよいが, ほとんどの病院では人的な余裕がないため, 普段は輸血以外の検査を行っている技師が日当直を行っている場合が多く, 定期的にトレーニングを行う必要がある。No. 9 は新生児の症例で, 本当は O 型であったが AB 型と判定ミスした症例であった。また No. 17 は時間外に救急外来で, 抗 A (-) 抗 B (-), A 血球 (1+) B 血球 (3+) で O 型と判定し, O 型 FFP 16 U, PC 10 U を輸血した。翌日, 輸血担当者とのダブルチェック時に A 型亜型であることが判明した。No. 23 は時間外に緊急で, A 型患者を B 型と判定し, B 型 PC 10 U が輸血された。翌日 RBC がオーダされ, 判定ミスが判明した。新生児や亜型患者のように血液型判定がむずかしい症例に遭遇する場合もあるため, 普段からそのような症例を想定したトレーニングが必要である。

近年, 病床数 500 以上の大きい病院では, 血液型自動判定装置などを導入してダブルチェックを行っている病院が増加しているが, 今回の 4 件の血液型判定ミスが起きた病院は, 病床数が 300～500 の中核病院で, 輸血される症例数のわりには検査技師の数が少ないと推定される施設であった。このような病院では, 血液型自動判定装置はなく, 今後の対策としては, 機器を購入する方法と, 検査する技師を徹底的にトレーニングしていくことが考えられるが, ダブルチェックという観点からすれば, 両方が必要である。

表 2 日本における 2008~2010 年の輸血過誤症例 (米村雄士; 2012)³⁾

年度	No.	血液製剤 -血液型	患者血液型	輸血量 (ml)	当事者	時間外 輸血	緊急 輸血	原因
2008	1	R-O	A	400	N			患者取り違え
	2	R-A	O	1	N	+		バッグ取り違え
	3	R-A	O	50	N			輸血用シリンジ取り違え
	4	R-B (+)	B (-)	400	T			血液型判定ミス
	5	R-不明	同型	不明	D	+		バッグ取り違え
	6	P-AB	B	200	DとNとT	+	+	血液型誤記入と輸血時確認不足
	7	F-O	A	240	DとNとT			血液型誤記入と輸血時確認不足
	8	F-B	O	42	N			患者取り違え
	9	F-AB	O	120	T	+		血液型判定ミス
	10	F-不明	同型	1	N	+		FFP2 名分同時融解
2009	11	R-A	B	400	N			患者取り違え
	12	R-B	A	400	N			患者取り違え
	13	R-A (+)	A (-)	80	DとNとT		+	センター発注ミス
	14	R-不明	同型不規則抗体	10	N			患者取り違え
	15	P-O	O	不明	N			患者取り違え (輸血必要ない)
	16	P-O	A	200	T	+	+	血液型誤入力 (オーダーリング時)
	17	P-O, F-O	A	2,120	T	+	+	血液型判定ミス
	18	F-O	B	3,840	DとN	+	+	判定保留
	19	F-A	B	10	N			FFP2 名分同時融解
	20	F-AB	A	10	N		+	患者取り違え (輸血必要ない)
2010	21	P-AB	A	10	D			2 名分同時準備
	22	R-B	A	50	D			バッグ取り違え
	23	P-B	A	200	T	+	+	血液型判定ミス
	24	R-A	O	3	N	+		患者取り違え
	25	R-A	O	23	N			輸血用シリンジ取り違え
	26	P-A	O	10	D		+	バッグ取り違え
	27	P-O	AB	5	D			移植後血液型変更オーダーミス
	28	F-O	B	240	DとN		+	FFP2 名分同時融解
	29	F-O	A (AB)	240	DとT	+	+	移植後血液型変更オーダーミス
	30	F-O	B	480	T	+	+	センター発注ミス
	31	R-AB	O	15	N		+	患者取り違え
	32	R-A	B	不明	N	+	+	バッグ取り違え
	33	R-O	A	580	D	+	+	血液型誤記入

R: 赤血球製剤, P: 血小板製剤, F: 血漿製剤, D: 医師, N: 看護師, T: 検査技師.

血液型誤記入と確認ミス

No. 6, 7, 13 の 3 例とも、輸血オーダー時に医師がミスしたものであるが、輸血受付時に検査技師が登録された血液型をきちんとチェックしていれば

防げたミスである。No. 6, 7 は両症例とも 300~500 床の病院で発生し、No. 13 は 100 床以下の病院であった。コンピュータによるオーダーリングシステムはなく、手書きの依頼用紙であることが原因で、No. 13 では医師が電話で輸血依頼するなど