

ワークショップ 3

輸血副作用発症機構の解析

ワークショップ3 司会のことば

輸血副作用発症機構の解析

池田和真(岡山県赤十字血液センター)

河 敬世(大阪府赤十字血液センター)

2010年に発生し、血液センターに報告された輸血副作用は1,709件で、そのうち1,579件が非溶血性輸血副作用である。非溶血性輸血副作用には蕁麻疹、発熱反応、アナフィラキシー(様)ショック、アナフィラキシー(様)反応、呼吸困難、血圧低下、TRALIなどが含まれる。発症には、(1) 患者血中や血液製剤中に存在するHLA、好中球抗原、血小板抗原、血漿蛋白に対する抗体、(2) 好中球、単球・マクロファージ、マスト細胞、血小板などの細胞成分、(3) これらの相互作用により産生されるサイトカインが複雑に関与することが推定されている。本ワークショップでは4人の演者が非溶血性輸血副作用の発症機構に関する講演を行った。

日本赤十字社血液事業本部中央研究所の岡崎仁氏は、TRALIの疫学、基本的な発症メカニズムに続き、多くの新しい報告を引用しながら発症機構に関する詳細なレビューを行った。大阪府赤十字血液センターの平山文也氏は、抗好中球抗体検出系の改良、抗体の新たな標的抗原候補としての

Siglec-14、好中球活性化の指標とエフェクターとしてのヘパリン結合蛋白質について報告した。日本赤十字社血液事業本部中央研究所の阿部高秋氏は、さい帯血から分化誘導したマスト細胞からのトリプターゼと β ヘキソサミニダーゼの放出を指標として、アナフィラキシーを起こした2つの血液製剤の血漿から、それぞれ、IgEオリゴマーとIgEに対する抗体を同定したと報告した。北海道赤十字血液センターの藤原満博氏は、非溶血性輸血副作用に関与する可能性がある製剤側と患者側の生理活性物質について広範なレビューを行った。

種々の対策により輸血後の感染症やGVHDに関する安全性が向上し、免疫学的な機序による非溶血性輸血副作用の発症機構の解明と対策の樹立は重要なテーマである。今回のワークショップにおける4つの講演は、非溶血性輸血副作用の基本的な発症機構と種々の取り組みによる新しい知見について俯瞰するよい機会となったと考える。

ワークショップ 3

TRALI発症機構の解析

岡崎 仁(日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)

2010年におけるTRALIの報告数はTRALIが9例、possible TRALIが15例となっている。死亡例は3例。ドナーの抗体陽性率は約3割程度であり、これまでの傾向と変わりはない。日本ではTRALIに関与したドナーのうち抗体陽性のドナーの血液に関してはsafe guardの措置をとっている。米国FDAのデータでは2005～10年の過去6年間にTRALIの死亡例は145例全体の死亡の47%を占めている。しかし、2006年末頃より徐々に導入されたmale predominant plasma戦略が功を奏し、2008年ころからは死亡例は以前の約半数に減ってきている。製剤別ではFFPによるTRALIは激減し、ここ3年間は2～4例程度にとどまっている。

このように女性の血液を排除することで一定の効果は上げることができてはいるが、TRALIの発症機構はすべて解明されているわけではない。これまで観察されたTRALIの症例の検討や、動物モデルでの検討などで、現在では製剤側の要因と患者側の要因の程度によって、TRALIの発症が決定されているというThreshold modelがBuxらにより提唱されている。

ヒトでの研究が危険であり倫理的に許されないものであるため、動物モデルでの検証がTRALI発症機構の解明には欠かせない。これまでに白血球抗体とくにMHC class I抗体による動物モデルとしては、マウスを用いたLooneyらのモデルで、好中球のFcRが抗体のFc部分に結合し、血管内皮にMHC抗体がFab部分で結合するモデルが作成されている。このモデルではLPSによるプライミングの重要性が続報の論文で示されており、血球系細胞上のTLR4がLPSによるプライミングに必要であることも示された。さらに、詳細な機序は明らかではないが、血小板除去が肺障害を軽減し、アスピリンによる前処置が肺障害を軽減することも報告されている。TRALIにおける好中球と血小板の相互作用の重要性は今後さらに詳しく検証されるべき課題となるであろう。Kelherらのラットのモ

デルではこちらもMHC class I抗体の投与により肺障害を惹起するモデルであるが、Looneyらのモデルと違い、MHC抗体は好中球上に局在し、好中球のFcRの関与はほとんどないと報告されている。種差によるものか、抗体の種類の違いによるものか、詳細はいまだはっきりしていない。

TRALIの発症にこれまでHLA class I抗体のみならず、HLA class II抗体の関与が知られている。Kopkoらの検討により、HLA class II抗体が単球上のHLA class II抗原を認識し、サイトカインの産生などが報告されていたが、時間的経過が臨床のTRALIの発症と少し乖離していることは認識されていた。さらに我々の研究により、単球、培養肺血管内皮細胞を使用したin vitroの系でLTB₄、TNF- α の1時間以内の単球からのLTB₄、TNF- α の放出が確認され、単球がHLA class II抗体によるTRALIの発症に重要であることが示唆されていた。MHC class II抗体による動物モデルは最近Sachsらにより、ex vivoのラット肺のモデルが作成され、ヒト単球、ヒト好中球、抗原にマッチした抗体を含む血清を灌流することにより肺障害を引き起こすことに成功した。

非免疫的機序によるTRALI発症のモデルとしてはこれまでSillimanらの作成したラットのモデルで、5日保存のヒト血小板製剤、42日間保存のヒト赤血球製剤で蓄積されるLipidが肺障害を引き起こすことが確認されていたが、Tungらはヒツジを使用し5日間保存のヒト血小板で肺障害を引き起こすことができた。また、NicholsonらはTrauma-hemorrhageモデルのラットにおいて、28日間以上保存した赤血球の輸血で肺障害が起きる頻度が高まることを観察している。さらに、Vlaarらによる、ラットを用いたラットの赤血球、血小板の輸血モデルを作成し、14日保存の赤血球、5日間保存の血小板で肺障害を起こすことに成功している。以前のSillimanらの報告と違い、血小板上清にはLysoPCの上昇を認めたが、赤血球上清には

LysoPCの上昇は認めていない。UV照射をおこなったヒト血小板でマウスに肺障害が引き起こされることがFDAのGeldermanらから報告され、血小板製剤の不活化処理により、肺障害の危険性が高まる可能性も考えられる。

臨床的な検討としては、KleinmanらによるLAPS-II studyの後方視的研究で2,500人ほどのドナーで半数はHLA抗体を保有しているドナー、半数はHLA抗体を保有していないドナーについて、TRALI発症の比率を検討したところ、それぞれ0.59%と0.16%とややHLA抗体保有ドナーにTRALI発症が多かった傾向ではあったが、有意差は出なかった。

アメリカ、オランダなどmale predominant plasmaを導入している国々からは血漿製剤によるTRALIの発症が減少しているというヘモビジュランスデータが出てきているが、Welsbyらによる報告では血漿製剤の投与数を一致させ、男性由来の血漿のみ投与された群と女性由来の血漿のみ投与された群で心臓手術患者の呼吸状態が男性由来の血漿投与群で悪化していたという報告がなされ、男性由来血漿製剤のOverallの有効性に一石を投じている。

TRALI発症における製剤側の危険因子に関する検討とともに、患者側の危険因子に関する検討もなされており、Gajicらの重症患者における前方視的臨床研究において、敗血症、アルコール中毒が危険因子として抽出されたのをはじめとして、VlaarらによるICU患者の検討では輸血してALIを起こさなかった群と比べTRALIを起こした群では、APACHE IIスコアの高値、血液腫瘍性疾患の割合、敗血症、人工呼吸、大量輸血、緊急のCABGなど

が、危険因子として抽出されている。また、輸血をせずにALIを起こした群と比べると、APACHE IIスコアの高値、敗血症が危険因子として抽出された。またVlaarらによる心臓疾患患者に限った検討では2.4%の患者にTRALIを発症しているが、患者側のTRALIの危険因子として年齢とpump timeが抽出されている。

このように、製剤側・患者側の危険因子がそれぞれ徐々に明らかになってきている。血液センター側の対応としては、欧米ですでに数年前から行われ、TRALIのリスク低減に一定の効果を上げているmale predominant plasmaの戦略を日本でも400mL採血のFFPを中心に、最初は基幹センターで実験的に、また今年に入ってから全国のセンターでできる範囲で、施行していただけるように統一システムのプログラム変更を行っている。この効果がでてくるのはFFPの貯留保管期間後になるので2011年終わり頃には400mL献血由来のFFPはほぼ男性由来ということにできそうである。海外において、女性の血漿を排除することでTRALIの減少につながっているという事実からも、経産婦血液中に存在する抗体がTRALIの原因としてもっとも可能性が高く、その中でもTRALIの原因の一つとして現時点でわかっているHLA/HNA抗体を含む製剤をどの程度排除すればよいかが、今後の課題となってくる。

患者側の危険因子も徐々に明らかになってきており、リスクの高い患者に不要な輸血を避けるとともに、リスクの低い製剤を輸血できるようなシステムの構築をしていく必要が出てくるかもしれない。

ワークショップ 3

白血球抗体の検出と輸血副作用発症の解析

平山文也(大阪府赤十字血液センター)

白血球抗体の検出と輸血副作用発症の解析

HLA 抗体
HNA 抗体輸血関連急性肺障害
(TRALI)

本日のレジメ:

1. 白血球抗体の検出法と新たなHNA抗体
2. 白血球抗体による好中球の活性化

1. 白血球抗体の検出法と新たなHNA抗体

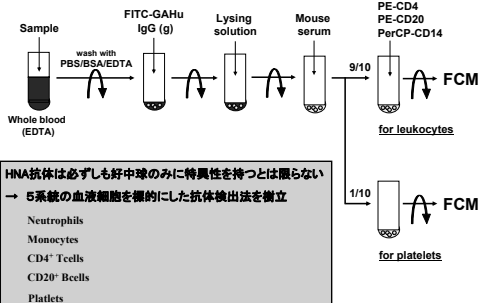
HLA 抗体: 蛍光ビーズ法

HNA 抗体: 測定法として golden standardがない
(顆粒球抗体)やむなく *granulocyte IFT (GIFT)* を採用

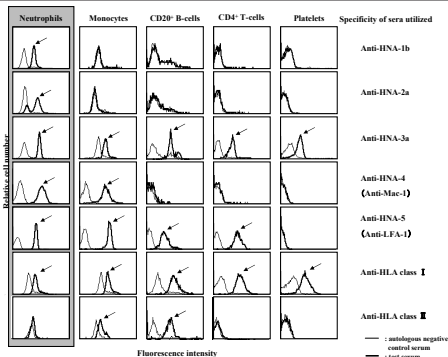
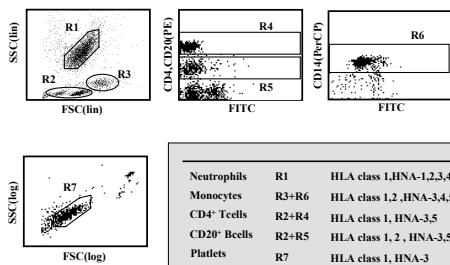
HNA抗体検出法

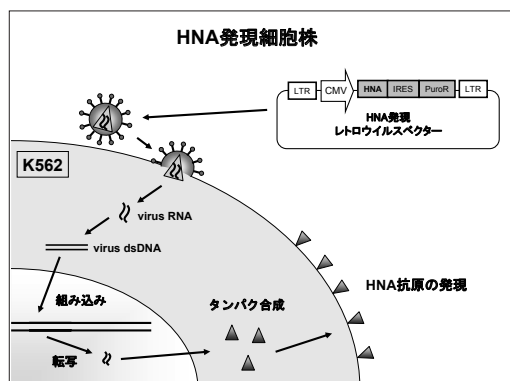
大阪府赤十字血液センター
5-cell lineage IFT法: スクリーニング
HNA transfectant IFT法: 特異性同定
(HNA発現細胞株)北海道赤十字血液センター
GIFT法日本赤十字社中央血液研究所
GIFT法

5-cell lineage IFT法



Gates of five lineage cells

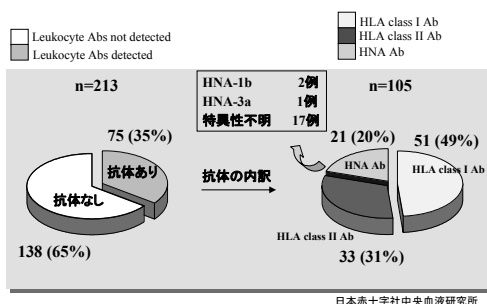




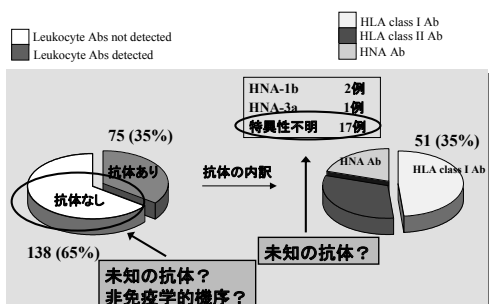
顆粒球抗原発現細胞株

		allotype	cell lines	assay
HNA-1	FcγRIIIb (CD16b)	a, b, c	KY-1a, 1b, 1c	FCM
HNA-2	CD177	a	KY-2a	FCM
HNA-3	CTL2	a, b		
HNA-4	Mac-1 (CD11b)	a, b	KY-4a, 4b	FCM
HNA-5	LFA-1 (CD11a)	a, b	KY-5a, 5b	FCM

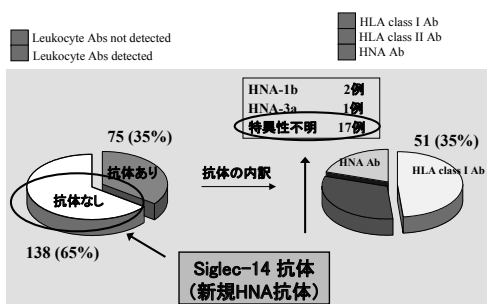
TRALI(possible TRALI)に関与した製剤のHLA抗体およびHNA抗体の陽性率(2004-2008)



TRALI(possible TRALI)に関与した製剤のHLA抗体および顆粒球抗体の陽性率

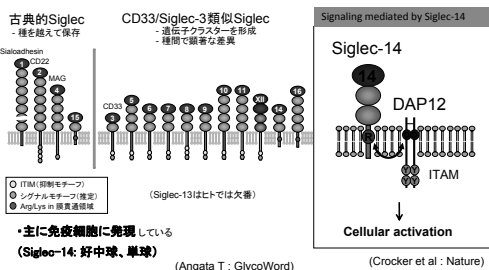


TRALI(possible TRALI)に関与した製剤のHLA抗体および顆粒球抗体の陽性率

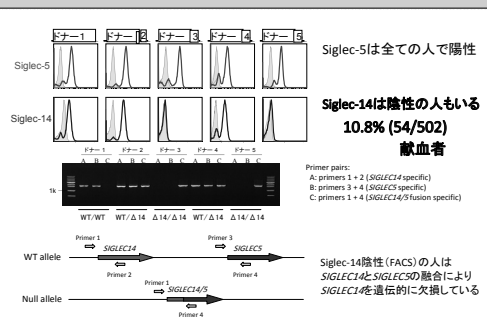


Siglec-14 抗原について

Siglec : sialic-acid-binding Ig-like lectins



Siglec-14 抗原の欠損



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)
副作用製剤	5.3% (11/207)

p<0.01

→ Siglec-14 抗体は副作用発症の原因となりうる

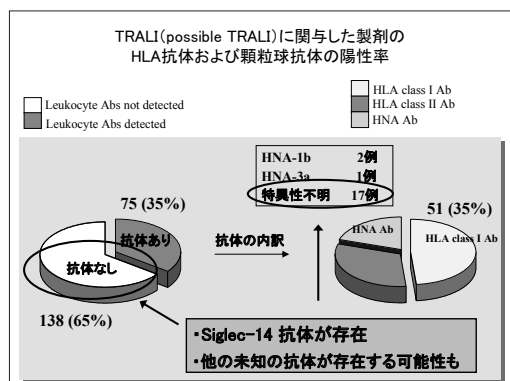
② TRALI vs TRALI 以外

TRALI	17.2% (5/ 29)
TRALI 以外	3.4% (6/178)

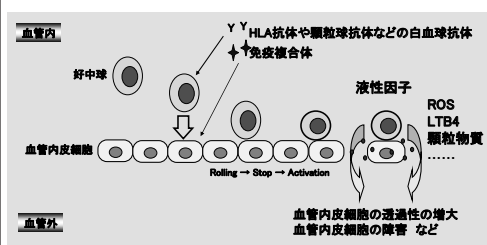
p<0.01

尋麻疹 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



2. 白血球抗体による好中球の活性化



好中球の顆粒

一次(アズール)顆粒

殺菌性タンパク、水解酵素

MPO, リゾチーム、エラスターゼ、プルニターゼ、マンノシダーゼ
カテプシンG, B.D, アズロシジン、チフェンジン、
殺菌性透過性亢進タンパク(BPI)
Heparin Binding Protein (HBP), Mac-1(顆粒膜タンパクとして)

二次(特殊)顆粒

ラクトフェリン、ビタミンB12結合タンパク、リゾチーム
シトクロームb558

三次(ゼラチナーゼ)顆粒

ゼラチナーゼ
シトクロームb558

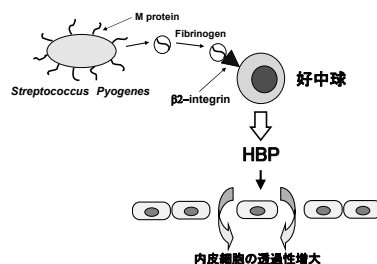
分泌小胞 : 顆粒放出が最も容易にされる

アルカリフォスファターゼ、テトラネクテン

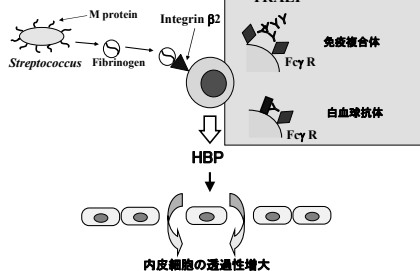
Heparin Binding Protein (HBP) → 血管透過性を亢進

STSS Streptococcus toxic shock syndrome

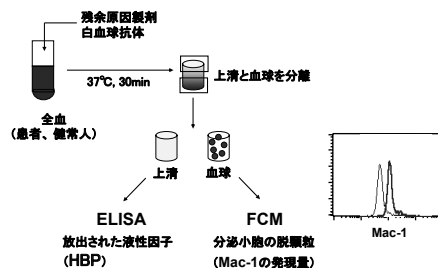
Herwaldt et al
Cell 2004 116:367



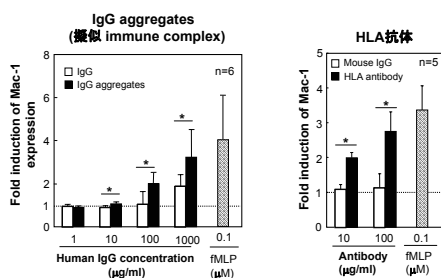
STSS Streptococcus toxic shock syndrome



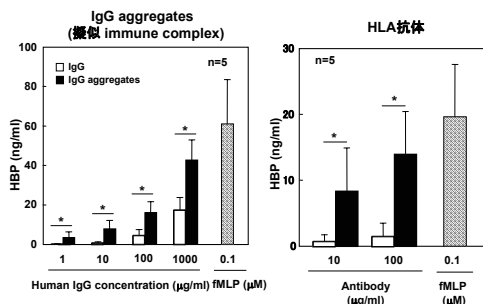
好中球活性化試験

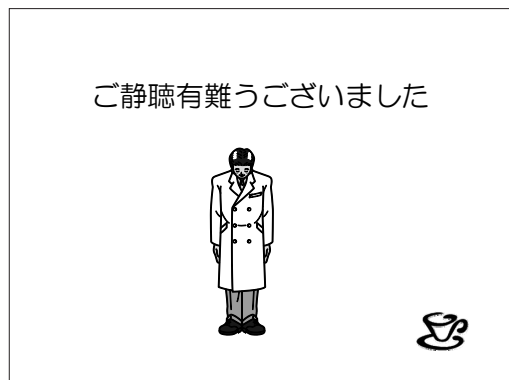
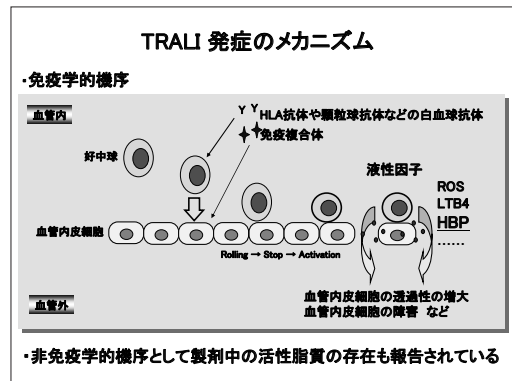
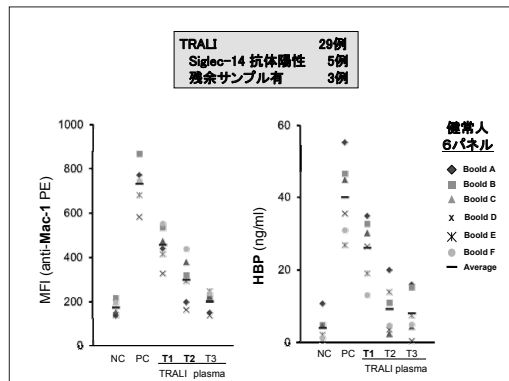


好中球の活性化(Mac-1の発現亢進)



好中球の活性化(HBPの放出)





ワークショップ 3

輸血アナフィラキシーの解析

—輸血血液中の肥満細胞活性化因子の探索—

阿部高秋, 嶋田英子, 岡崎 仁, 佐竹正博, 田所憲治
(日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)

1. はじめに

輸血アナフィラキシーの発症機構は、患者の血漿タンパク質欠損が判明したわずかな症例を除き、ほとんどの症例では分かっていない。一方、ショックを伴う重篤な輸血アナフィラキシー症例には、副作用発症後に患者血中トリプターゼ濃度が上昇し、肥満細胞が血液製剤の輸血により何らかの機構で活性化されたことが示唆される症例が多い。しかしながら、このような症例の中には血漿タンパク質が欠損した患者が関わる症例は少なく、副作用の原因究明のためには、患者血液のみを調べる限りでは不足であると考えられた。そこで、患者だけではなく輸血された血液製剤も検査の対象とし、患者の肥満細胞を活性化させ得る因子が存在するか調査を行った。

調査には臍帯血から調製した培養肥満細胞を用い、*in vitro*で培養肥満細胞の活性化実験を行った。血液製剤中の肥満細胞活性化因子を探索するために、種々の液体クロマトグラフィーを利用して血清成分を分画し、どのフラクションが活性化を誘引するかを検討した。本発表では、このような方法で肥満細胞活性化因子を同定することのできた2人のドナー由来の血液製剤について、研究の過程を紹介する。

2. 方 法

2-1. 臍帯血由来培養肥満細胞の調製

東京都赤十字血液センター臍帯血バンクから譲渡を受けた臍帯血から単核球を単離し、Stem cell factorとInterleukin (IL)-6存在下で9週から12週間培養した。トルイジンブルーによる異染色陽性細胞が98%以上になった後、IL-4を培地に加えて1週間培養した。これを下記の培養肥満細胞の活性化実験に使用した。

2-2. 培養肥満細胞の活性化実験

培養肥満細胞に患者血漿を6時間、37℃、5% CO₂の環境で感作させ、調査対象ドナー由来の血液製剤から調製した血漿・血清、または液体クロマトグラフィーによって得られたフラクションを加えた。40分間、37℃で静置した後、培養上清のトリプターゼ濃度を測定した。

3. 肥満細胞活性化因子の解析

3-1. ドナー1 (肥満細胞活性化因子: 抗IgE抗体)

3-1-1. ドナー1

1940年生まれの女性で、頻回献血者であった。少なくとも15本の新鮮凍結血漿製剤(以下、FFP製剤)が製造された。血漿IgE濃度は24.2ng/mLと低濃度だが標準値(415ng/mL以下)の範囲内だった。アレルギー素因については調査されていない。

3-1-2. 症例1

発生日は2004年10月。患者は53歳の女性で、血小板減少症のためドナー由来のFFP製剤を用いた血漿交換が行われた。輸血開始後10分で収縮期血圧が136mmHgから30mmHgまで低下、脈拍が104回/分から30-40回/分に低下し、呼吸停止となった。過去の輸血歴は不明。

3-1-3. 症例2

発生日は2005年10月。患者は62歳の女性で、全身性エリテマトーデスに合併した血栓性血小板減少性紫斑病のため、ドナー由来のFFP製剤が輸血された。輸血開始後10分で血圧が150/80mmHgから86/47mmHgまで低下、経皮的動脈血酸素飽和度は86%となり、前頭部に発赤出現した。過去の輸血副作用歴はない。患者血中トリプターゼ濃度は副作用発症前の4.0 μ g/Lに対し、発症後には20.5 μ g/Lと上昇しており、肥満細胞の活性化が認められた。

3-1-4. 解析

ドナー血清は患者血漿感作後の培養肥満細胞を活性化させた一方で、血漿未感作の培養肥満細胞は活性化させなかった。ゲルろ過および陽イオン交換クロマトグラフィーによって得られたフラクションを用いて活性化実験を行ったところ、活性化を誘引する強さとIgG濃度が相関した。さらに、アフィニティークロマトグラフィーを利用して単離したドナー血清のIgGフラクションが培養肥満細胞を活性化させたことから、ドナー血清中の肥満細胞活性化因子はIgGであると考えられた。患者血漿中の因子は、IgE標品を感作させた培養肥満細胞がドナー IgGフラクションによって活性化したことから、IgEであることが分かった。ウェスタンブロット法により、ドナーのIgGの中にIgEを認識する抗体が検出された。以上の実験結果から、IgEをFcεレセプターに結合した患者中の肥満細胞が、ドナー由来FFP製剤中の抗IgE抗体によってFcεレセプターを架橋されることで活性化するという機構が考えられた。

胞が、ドナー由来FFP製剤中の抗IgE抗体によってFcεレセプターを架橋されることで活性化するという機構が考えられた。

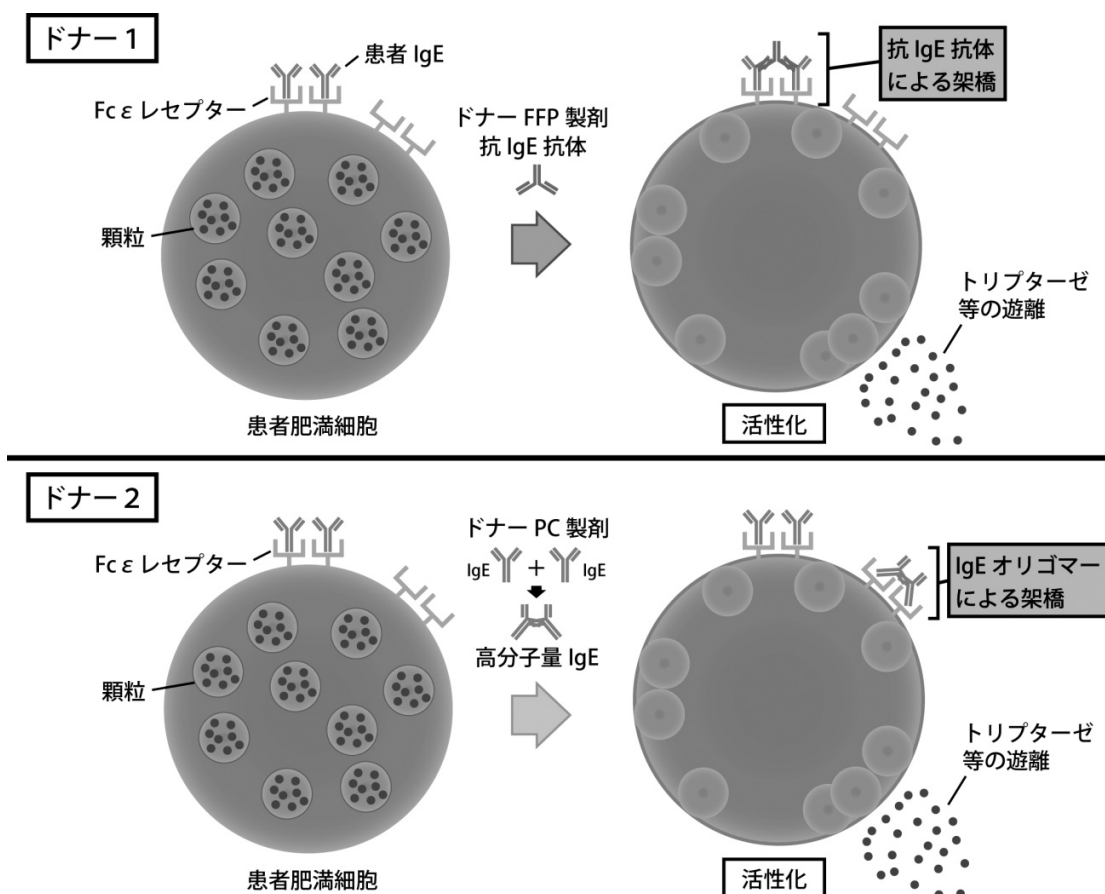
3-2. ドナー2 (肥満細胞活性化因子: IgEオリゴマー)

3-2-1. ドナー2

1977年生まれの男性で、頻回献血者だった。血小板製剤(以下、PC製剤)、FFP製剤、原料血漿が製造されたが、輸血副作用が発生した後は、原料血漿のみが製造された。血漿IgE濃度は150,000ng/mLと異常な高値だった。

3-2-2. 症例1

発生日は2002年1月。患者は播種性血管内凝固症候群の71歳女性で、転倒時の止血のためにドナー由来のPC製剤が輸血された。輸血開始2時間で



血圧が144/68mmHgから83/41mmHgに、その後30分で56/32mmHgまで低下した。患者は背中に掻痒感を訴えた。過去、PC製剤の輸血で発熱した輸血副作用歴があった。

3-2-3. 症例2

発生日は2002年2月。患者は49歳の女性で、急性白血病の強化療法による血小板減少のためドナー由来のPC製剤が輸血された。輸血開始後7分で収縮期血圧が60mmHg以下に低下し、経皮的動脈血酸素飽和度は90%以下となった。四肢に膨隆疹出現、顔面紅潮し、患者は掻痒感を訴えた。過去の輸血副作用歴はない。患者血中トリプターゼ濃度は副作用発症前の $2.22 \mu\text{g/L}$ に対し、発症後には $18.4 \mu\text{g/L}$ と上昇しており、肥満細胞の活性化が認められた。

3-2-4. 解析

ドナー血漿は患者血漿感作の有無に拘わらず培養肥満細胞を活性化させた。ゲルろ過、陽イオン交換、および陰イオン交換の3種のクロマトグラフィーとフラクションを用いた活性化実験により、培養肥満細胞を活性化させ、かつタンパク質濃度の小さいフラクションを得た。このフラクション

に含まれるタンパク質を質量分析法を利用して解析したところ、500kDaとそれより高い分子量であるIgEであることが分かった。抗IgE抗体やIgE標品を共存させることによって当該フラクションによる培養肥満細胞の活性化が阻害されたことから、この高分子量IgEが活性化因子であり、通常のIgEと競争的に培養肥満細胞と反応すると考えられた。この高分子量IgEは、分子量が単量体IgEの2倍、3倍程度であること等からIgEオリゴマーであることが示唆された。以上の実験結果から、患者の肥満細胞が、ドナー由来PC製剤中の高分子量IgEによってFcεレセプターを直接架橋されることで活性化する、という機構が考えられた。

4. まとめ

臍帯血由来培養肥満細胞を利用した活性化実験と液体クロマトグラフィーを用いた血清の分画によって、2人のドナーに含まれる肥満細胞活性化因子を同定し、4件の輸血副作用症例の副作用機構を解析することができた。ドナーに主な副作用の原因がある症例はまれかもしれないが、輸血副作用の原因究明のためには使用された血液製剤も詳細に調べることが必要だと考えられる。

ワークショップ3

生理活性物質による非溶血性輸血副作用

藤原満博，東 寛
(北海道赤十字血液センター)

1. はじめに

非溶血性輸血副作用(NHTR)には、発熱、蕁麻疹、アレルギー様反応、血圧低下、TRALIなどが知られ、その原因として抗HLA抗体、抗HNA抗体、抗HPA抗体、抗血漿タンパク抗体などの関与が広く知られている。これらの抗体の関与では説明できない副作用の成因として、血液製剤の保存によって蓄積する生理活性物質の関与が指摘されてから既に20年近くがたとうとしている。血小板製剤においては、保存前白血球除去の導入によって、混入白血球に由来する炎症性サイトカインの関与は極めて低いと考えられる。しかし、血小板に由来するRANTES、可溶性CD40 ligand、BDNF (Brain-derived neurotrophic factor)などの保存による濃度の上昇とNHTRへの関与が報告されている。また製剤側の因子を検討する我々の最近の試みにおいて、一部の新鮮凍結血漿(FFP)には、好中球の活性化作用を有するものがあり、その作用には血小板から放出されるケモカインNAP-2 (neutrophil activating protein-2)が関与していることを見出している。

一方、患者側の因子についての検討の試みについては、ほとんどなされてこなかった。それは患者の背景が多岐にわたることが大きな要因と考えられる。我々は、NHTRを起こした患者の輸血前の血清検体は、培養ヒト肥満細胞の細胞内Ca²⁺の流入を誘導する活性(Ca²⁺ influx inducing activity : CaIA)が高値のものが、NHTRを起こさなかった患者や、健康人の血清に比べて、高頻度であることを報告している。

本発表においては、生理活性物質とNHTRに関する文献的な考察に加え、製剤側の生理活性物質および患者血清中の生理活性物質の特定に関する我々の取り組みを紹介したい。

2. 血小板由来生理活性物質と血小板製剤によるNHTRについて

血小板製剤におけるNHTRでは、蕁麻疹、掻痒感などのアレルギー様反応が多くを占めている。Kluterら¹⁾は、血小板由来の生理活性物質のRANTESに着目し、NHTRの症状別に、それぞれ関与した製剤中の濃度および血液センターで保存しておいた場合の濃度を比較した。その結果、アレルギー性のNHTRに関与した製剤中のRANTESの濃度は、発熱反応や循環器系のNHTR、および血液センターで保存しておいた場合の濃度に比べ、有意に高値であったことから、製剤中のRANTESが血小板製剤によるアレルギー性のNHTRに関与すると報告した。我々も、わが国のアフエーシスPCの保存においてRANTESの濃度が増加する知見を得た。さらにNHTRに関与したPCと、NHTRを引き起こさなかったPCをそれぞれ輸血後1日以内に回収し、RANTES濃度の比較をおこなった。NHTRに関与したPC中(19例中17例がアレルギー性の反応)のRANTESの濃度は、高値を示すものもあったが、両者に有意な差は認められず、少なくともRANTESの濃度のみでNHTRの発症を説明することはできないと結論した²⁾。

最近、Savageら³⁾は、米国のアフエーシスPCにおいてアレルギー性のNHTRに関与した製剤と、NHTRに関与しなかった製剤において、BDNF、アナフィラトキシンC5a、RANTESの3因子がアレルギー性のNHTRに関与した製剤において有意に高値であり(個々の上昇はそれぞれ41.8%、16.6%、13.9%)、これら3項目を合計した場合には、より副作用との関連が強くなると報告した。BDNFは、もともと神経成長因子NGFのファミリーであるが、近年アレルギー疾患との関連が指摘され、とくに掻痒感との関連が示唆されている。わが国のアフエーシスPCにおいても保存とともに増加する。今後、RANTESのみならず、BDNF、C5aを同時に測定することによって、NHTRとの関連性を

再度明らかにする必要があると考えられる。

3. FFPによる好中球活性化作用とNAP-2の関与

血小板と同じように血漿成分からなるFFPは、PC程ではないが、NHTRの原因となり、また特定の疾患に限ってみれば発症率が高い。HLA抗体やHNA抗体がTRALIの原因と考えられることから、欧米ではすでに男性ドナーのみからなるFFPが供給され、TRALIの発症の減少に貢献している。しかし、抗体以外の因子がNHTRに関与する可能性は残されている。そこで輸血を模倣して、同種全血とFFPをインキュベーションし、FFPが血液細胞に与える影響の検討を試みた。19例のFFPを添加したところ、4例のFFPにおいて好中球の活性化マーカーであるCD11bの発現増加が認められた。4例のうち1例は男性ドナー由来であった。これらのFFPの性状を調べると、HLA抗体、抗顆粒球抗体とも陰性であった。また非働化、血清化、孔径0.2 μ mフィルター処理、超遠心処理のいずれにおいても活性は維持されたままであったことから、補体、凝固因子、マイクロパーティクル、エキソソームの可能性は低いと考えられた。

そこで、血漿中にも一定量存在するNAP-2の関与について調べることとした。NAP-2の前駆体は血小板に存在し、血小板の活性化に伴って放出される。中間体としてCTAP-III、 β -TGが知られるが、好中球活性化作用のあるのはNAP-2のみである。NAP-2の中和抗体を用いたところ、4例中2例において、CD11bの発現増加が部分的ではあるが有意に抑性された。同じ受容体に作用するIL-8の中和抗体では4例とも抑性されなかった。以上のことから、FFPの中には好中球活性化作用を有するものがあり、その活性の一部においてNAP-2が関与している可能性が示された。今後、FFPによる好中球活性化能に対する患者側の病態や遺伝的背景による相乗作用について検討する必要があると考えられる。

4. NHTRを発症した患者の輸血前血清のCaIAに関する検討

NHTRの発症においては、ドナー側の因子のみならず患者側の因子を考える必要がある。アレルギー性の輸血副作用を発症する患者においては、輸血前に肥満細胞がプライミングされているのではないかと想定し、以下の検討を試みてきた⁴⁾。肥

満細胞においては、脱顆粒に先行して細胞内の Ca^{2+} 濃度の上昇が起る。この現象を利用し、肥満細胞に患者血清を作用させ、 Ca^{2+} 濃度の上昇が誘導されるか否かを検出した。血清検体としてNHTRを発症した患者の輸血前血清、輸血副作用を発症していない患者血清、健常者血清についてCaIAをみた。カットオフ値を21.4% (健常者血清の平均+2SD)と設定したとき、各群の陽性率は、51.0%、5.6%、6.5%となり、NHTRを発症した患者の輸血前血清では半数においてCaIAが認められることから、輸血前からプライミングの状態になっている可能性が示唆された。NHTRの症状別にCaIAを比較したが、有意な差はみとめられないことから、肥満細胞だけでなく他の血液細胞においてもCaIAを誘導する可能性が考えられた。

CaIAは、Gタンパクと受容体の共役性を消失させる百日咳毒素を培養細胞に処理することで抑性されることから、CaIA因子はGタンパク共役型受容体(GPCR)を介するアゴニストである可能性が考えられた。ヒト肥満細胞には、多くのGPCRが発現している。急性期タンパクの一つであるserum amyloid AもGPCRを介し、肥満細胞のchemotaxisを誘導する。また、GPCRとは異なるがIL-1受容体ファミリーのST-2を介するIL-33は、肥満細胞に対し単独で細胞内Ca濃度を高めるだけでなく、他のアゴニストの作用を増強する。興味深いことに、両タンパクともCaIA陽性群の方が、陰性群より、高値のものが有意に多いという結果が得られ、一部の検体ではCaIAと関連している可能性が考えられた。

5. おわりに

血小板由来の生理活性物質がアレルギー反応や発熱などのNHTRに関与する可能性が指摘されているが、洗浄血小板の使用によって、NHTRの発症を劇的に予防することができることは、広く認知されてきている。血小板輸血によるNHTRの発症機序をさらに理解するとともに、洗浄血小板製剤が認可され、使用が拡大することが望まれる。また、CaIA因子などの患者側の因子を特定し、そのアッセイ系を確立することによって、NHTRの発症リスクの高い患者を特定できるようになり、適切な治療薬の選択、あるいは洗浄血小板の使用等によってNHTRの予防に繋がることが期待される。

文 献

- 1) Kluter H., *et al.* Febrile and allergic transfusion reactions after the transfusion of white cell-poor platelet preparations. *Transfuion* 1999; 39: 1179-84.
- 2) Wakamoto S., *et al.* Biologic activity of RANTES in apheresis PLT concentrates and its involvement in nonhemolytic transfusion reactions. *Transfusion* 2003; 43: 1038-46.
- 3) Savage WJ, *et al.* Allergic agonists in apheresis platelet products are associated with allergic transfusion reactions. *Transfusion* 2011 (in press)
- 4) Azuma H., *et al.* Elevated Ca^{2+} influx-inducing activity toward mast cells in pretransfuion sera from patients who developed transfusion-related adverse reactions. *Transfusion* 2009; 49: 1754-61.