

シンポジウム5

輸血副作用の温故知新

シンポジウム5 司会のことば

輸血副作用の温故知新

面川 進(秋田県赤十字血液センター)

岡崎 仁(日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)

日本赤十字社が、医薬情報活動をはじめて20年が経過している。輸血副作用は非溶血性副作用、溶血性副作用、感染性副作用等に大別される。以前より認められいまだに大きな問題となっている副作用、現在ではほとんど見られなくなった副作用、最近認識されるようになった副作用など、さまざまな副作用がある。そのうち5つのトピックとなる副作用を取り上げて、それぞれ5人の演者に歴史から新たな検査も含め解説していただき、さらに、使用者である医療機関側からみた際の輸血副作用についてもその対応について一人の演者からご講演をいただいた。

血液事業本部の松崎先生には、以前からある輸血合併症であり最近注目されている輸血関連循環過負荷(TACO)についてイギリスSHOTにおける報告などをもとに症例の提示をふくめ概説を行っていただいた。近畿ブロック血液センターの平山先生はTRALIの原因となりうる新たな抗体検査に関して、Siglec14抗体の発見、HBP, Mac1を用いた好中球活性化試験の樹立に関する概説および未知のHNA抗体の存在の可能性に関して言及された。中央血液研究所の嶋田先生からはアレルギー性副作用に関するこれまでの取り組みとさらに、新たな手法として二次元電気泳動を用いた方法、SPRを用いた抗体の解析、製剤中の肥満細胞活性化因子の同定についての解説をお聞きすることができた。同じく中央血液研究所の渡辺先生からは

今ではほとんど見られなくなった輸血後GVHDの歴史、臨床症状、メカニズムおよび検査法に関する解説をいただいた。血液事業本部の平先生からは輸血感染症、主にB型肝炎に対するこれまでの血液事業本部の取り組みに加えさらなる安全対策の実施の経緯を含め概説いただいた。山口大学の藤井先生からは病院側の立場からの副作用対応についてご講演いただいた。日本輸血・細胞治療学会より刊行された「副作用対応ガイドライン」の概説や同学会によるABO不適合輸血などの副作用の実態についても言及された。

本シンポジウムでは、これまで知られている副作用に加え、最近新たに注目を集めてきた副作用、対策が取られてきた副作用の概要を知ること、今後新たに出現してくるかもしれない副作用に対して遅滞なく適切に対応できる体制づくりを強化するとともに、病院の輸血現場から上がってくる情報をいかに漏れなく適切に対応していくことの重要性が認識された。また、現在問題となっている副作用についても新たな手法を用いた副作用原因究明の検査の開発を通して科学的に解明していくことで、病院との信頼・協力体制を築き、さらに安全な輸血医療の構築に向けた一歩を感じていただけるシンポジウムとさせていただいたつもりである。詳しいご講演の内容はそれぞれの演者の論文に目をお通しいただきたい。

シンポジウム5

輸血関連循環過負荷の現状

松崎浩史(日本赤十字社血液事業本部, 東京都赤十字血液センター)

1996年PopovskyがTRALIとは異なる輸血後呼吸障害の一群を, Transfusion-associated Circulatory Overload, TACOとしてとして報告した¹⁾。しかし, わが国では「高齢者に濃厚赤血球を一度に大量に輸血するとうっ血になることがある」と, 昔は輸血実施時の注意として先輩医師から教わっていた。TRALIと違いTACOは血液自身に問題があるわけではなく(と思っているが), 輸血の適応あるいは手技の問題であり, 従来の輸血副作用とはやや赴きが異なる。しかし, 原因が血液に起因するものであれ, 手技の問題であれ, 患者にとっては不都合な輸血合併症に変わりはなく, 安全な輸血医療を進めるにあたっては原因(リスク)をみつけ, そのことについて注意喚起する義務が私たちにはあるだろう。

【TACOの診断】

TACOの診断基準の代表的なものは2007年の

ISBT Definitionである¹⁾。しかし, 循環過負荷は個人の心予備能に依存する相対的な問題であることからTACOは誠に捉えがたい。同じ量の輸血をしても肺水腫になったり, ならなかったりする。また, 輸血と同時に輸液もされていれば循環過負荷が輸血のためなのか, 輸液のためなのかも判断し難い。また, TACOが医原性要因を含むため, 現場の医師患者関係を考えるとその判断は慎重にならせざるを得ない。そこで現在血液事業本部ではTACOの診断をISBT基準よりも狭くしている(図1)。つまり, 循環過負荷のリスクが明らかである透析中の患者, 胸写や検査値だけでは循環過負荷, 呼吸不全の原因が輸血のせいなのか原疾患の悪化なのか判断できない人工心肺使用中・後の患者や補助体外循環装置装着中の患者, また, 治療を要する心不全患者, 慢性呼吸不全患者も敢えて評価対象外としている。また, ISBTの診断基準では頻脈, 血圧上昇が指標の一つとされているが,

A. 必須項目

1. 急性呼吸不全
2. 胸部X線上浸潤影を認める
3. 輸血・輸液過負荷を認める
4. 輸血中・輸血後6時間以内に発症

B. 参考項目

- ・血圧上昇
- ・頻脈
- ・BNP/NT-proBNP
- ・除外項目がない

C. 除外項目

- 透析中の患者
- 人工心肺使用中・後の患者
- 補助体外循環装置を使用中の患者
- 治療を要する(または, 現在治療している)心不全がある
- 治療を要する(または, 現在治療している)慢性呼吸不全がある

図1 日本赤十字血液事業部の診断基準

心機能が良くて前負荷（輸血，輸液）が増えれば血圧は上昇して脈拍や心拍出量を増やそうとする。さらに，息苦しくなれば血圧や脈拍は上昇し，そのほかの要因でも血圧や脈拍は容易に変動するためBNP，NT-proBNPと同様TACO診断の参考としている。

【ハイリスク患者】

心，肺，腎不全者がハイリスクであることはよく知られている。そのほかに相対的輸血過負荷となりやすい患者は，循環血液量の少ない者（小児，低体重者），高齢者，慢性貧血者である¹⁾。とくに慢性貧血者は若年でも急速なヘモグロビン値の補正は注意が必要と思われる。

【予防・治療】

まず，ハイリスクの患者での輸血速度は1 mL/minで（RCC-LR2ならば140分である），一日に何単位も輸血せず，輸血の前には利尿剤を使用して，水分バランスがプラスにならないように注意する。循環過負荷が疑われれば輸血は直ちに中止し，利尿剤，血管拡張剤を投与し，酸素投与，呼吸補助を行う¹⁾。

【検 査】

右心室，左心室の前負荷としてCVP（中心静脈圧），PCWP（肺動脈折楔入圧）の上昇，胸写上の肺水腫，CTR（心胸郭比）の拡大，心臓超音波検査でのLVEF（左室駆出率）の低下，E'（僧帽弁輪拡張早期最大運動速度）の低下はそれぞれ心収縮障害，心拡張障害を示す。また，IVC（下大静脈）径の20mm以上の拡大と呼吸性変動が少ない（呼吸性変

動50%以下はうっ血を疑う）ことは前負荷過剰の所見である。BNPとNT-proBNPは半減期が約20分と120分であり²⁾，それぞれ40pg/mL，125pg/mL以上は経過観察の必要な心負荷所見と考える^{3), 4)}。

【TACO診断の問題点】

TACOは輸血量・輸液量と患者の心予備能との相対的関係なので心機能が悪いのか純粋に過負荷なのか，病気なのか医原性なのか判然としない。また，検査データも揃わなかったりする。輸血後呼吸障害の報告例は，TRALI，TACO，その他に分類されるが，TRALI，TACOにはいずれも輸血中，輸血後の急性呼吸不全，胸写上の肺水腫があり，診断に決定的な検査法，検査値はない。TRALIではいくつかの抗体検査，TACOでは水分過剰の臨床所見を勘案し，総合的に判断せざるを得ない。

【最後に】

昨今の入院期間短縮の傾向は，貧血患者が外来輸血を受ける機会を増加させ，医療機関から寄せられる輸血副作用報告を見ていると，夕方から開始される輸血や輸血速度がやや速かったり，2日に分けるべき赤血球輸血が1日に行われたりする場合がある。TACOは思わぬ輸血中，輸血後の呼吸不全である。現在知られているハイリスク要因は，小児を含めた低体重者，高齢者，慢性貧血患者のほか，心抑制作用のある抗がん剤治療中の患者などであるが，今後，そのほかの潜在的リスク要因を見出し，医療機関への注意喚起に努める予定である。

文 献

- 1) SHOTホームページ：Meetings, Meeting Presentations, Presentations from BBT ASM 2008, TACO Transfusion Associated circulatory overload, <http://www.shotuk.org/home/> (2012年11月現在)
- 2) 石井潤一：虚血性心疾患の心筋ストレスマーカー（BNP，ANP，NT-proBNP），生物試料分析，32（2）：135，2009
- 3) 健康診断・血液検査MAP，NT-proBNPの測定値と慢性心不全の診断指標 <http://www.kensin-kensa.com/archives/cat13/ntprobnp/> (2012年11月現在)
- 4) 滝脇正貴，宇治義則，北島薫：小児腎不全患者における血清BNP，血漿NT-proBNPの評価，生物試料分析，34（4）：135，2011

シンポジウム5

TRALI原因抗体の検索および検査法

平山文也(日本赤十字社近畿ブロック血液センター)

多くのTRALIにおいては、血液製剤に存在する抗体が好中球を活性化させ、活性化した好中球が最終的に血管内皮細胞の透過性を亢進させることにより肺水腫を来すと考えられている。これまで、HLA class I, HLA class II, HNA-1a, -1b, -2a, -3aに対する抗体の関与が知られている。それに加えて、日本ではNak^a (CD36) 抗体によるTRALIも報告されている。本シンポジウムでは、1) Siglec-14抗体が新たな白血球抗体としてTRALIを惹起すること、2) 好中球活性化能の検査法として「好中球活性化試験」について概説する。

Siglec-14抗体が原因となるTRALI

Siglecとは、sialic-acid-binding immunoglobulin-like lectinsの頭文字の略で、シアル酸の受容体になっている分子である。主に免疫細胞に発現しているため免疫応答の調整に関与している分子と考えられている。種類は多く(1番から16番まで)、先端のドメインがシアル酸結合ドメインとなっている。ほとんどのSiglecは細胞内にITIMモチーフがあり抑制的なシグナルを送っていると類推されている。それに対して14番、15番、16番に関しては、Signal adapter moleculeの1つであるDAP12と会合しており、DAP12自身にITAM(活性化モチーフ)があるので、この14番、15番、16番に関しては活性化の正の信号を入れる分子であろうと想定されている。

Siglec-14は、好中球と単球に発現されている。Siglec-14とSiglec-5というのは構造上非常によく似ているが、大きな相違点としてSiglec-5はITIMモチーフを持っており、このペアで好中球、単球の活性化の正負の調整を行っているのではないかと類推されている。興味深いことに、Siglec-14には欠損者が存在する。献血者502人に対してフローサイトメーターで細胞表面上のタンパク質のレベルでの発現を見ると、およそ10%の人でSiglec-14が欠損していた。欠損者がいるというこ

とは抗体を作り得るということで、実際に献血者500人中4人で抗体が見つかった。

一方、副作用を起こした製剤では、そのおよそ6-7倍の高頻度(5.3%)で抗体が見つかった。両者の抗体陽性率には統計学的な有意差があり($P < 0.01$)、Siglec-14抗体は副作用発症の原因になるのではないかということがここから類推された。次に、どの副作用の原因になるかということを検証するために、TRALIを発症させた製剤とTRALI以外の副作用を発症させた製剤とを比較検討したところ、TRALI症例29例中5例の製剤でSiglec-14抗体が発見された。それに対して、TRALI以外の副作用では、約5分の1の3.4%しか見つからず($P < 0.01$)、Siglec-14抗体は副作用の中でもTRALI発症の原因になり得るのではないかと考えられた¹⁾。

好中球活性化試験

1) 好中球活性化試験 (Neutrophil Activation Test: NeuAT)

この検査法では、ヘパリン加全血を試験サンプルや血液製剤で刺激し、好中球の活性化を細胞表面マーカーであるMac-1をモニターすることで推量するものである。Mac-1は接着因子としての機能を持つ細胞膜タンパクであると同時に好中球の活性化マーカーでもある。Mac-1は分泌小胞膜にも発現しており、炎症性のメディエーターによる刺激により脱顆粒とともに細胞表面上に移動していき、結果的に細胞表面上のその発現量が上昇するため好中球の活性化マーカーになりうるのである。この検査系を用いて我々は、HLA抗血清や免疫複合体の刺激が好中球細胞表面上のCD16やCD32といったFcγ受容体を介して好中球に伝わりその活性化を短時間で(30分以内)惹起することを示した。また、この検査法では、全血200μLを血清あるいは血漿サンプル10μLと混合するため、5Lの血液を持った患者が白血球抗体を含む

250mLの新鮮凍結血漿あるいは血小板製剤を輸血された状態を試験管内で再現することが可能となる²⁾。

2) Heparin-binding protein (HBP) が非溶血性輸血副作用、とくにTRALIに関与している可能性

Heparin-binding protein (HBP) は好中球のアズール顆粒や分泌小胞に貯留されている、そして $\beta 2$ インテグリンを介する好中球の活性化によって引き起こされる血管壁透過性亢進に、HBPが重要な役割を果たしていることが最近明らかにされた。 $\beta 2$ インテグリンは好中球が血管内皮細胞に遊走する際にキーとなるインテグリンであり、このインテグリンを介して好中球は血管内皮細胞に接着する。 $\beta 2$ インテグリンのサブユニットであるCD18を抗体でクロスリンクすると好中球／血管内皮細胞間の接着を擬似再現できる。Herwaldら

は、 $\beta 2$ インテグリンを介する好中球の活性化はHBPの放出を引き起こし、結果的に引き起こされる血管壁透過性を亢進させることを示した。最近、彼らは、血漿のリークと多臓器不全を特徴とするstreptococcal toxic shock syndromeにおいてHBPが同様の働きをしていることを報告した。彼らの報告から、我々は好中球活性化試験においてHLA抗体や免疫複合体の刺激により好中球からHBPが放出されるのではないかと考えるに至った。その可能性を検討してみると、HLA抗体や免疫複合体の刺激後30分以内にMac-1の発現上昇とともにHBPが好中球から放出された³⁾。これらの結果は、Mac-1に加えてHBPも好中球活性化のマーカーとなりうることを示している。実際、Siglec-14抗体陽性のTRALI症例の一部で、好中球活性化が陽性となった。

References

- 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 nonhaemolytic transfusion reactions. *Br J Haematol*. 2011; 153: 794-6.
- 2) Hirayama F. Recent advances in laboratory assays for nonhemolytic transfusion reactions. *Transfusion*. 2010; 50: 252-63.
- 3) Yasui K, Furuta RA, Matsuyama N, Fukumori Y, Kimura T, Tani Y, Shibata H, Hirayama F. Possible involvement of heparin-binding protein in transfusion-related acute lung injury. *Transfusion*. 2008; 48: 978-987.

シンポジウム5

アレルギー性副作用(原因検索の現状と新たな手法)

嶋田英子, 穴沢雅子, 阿部高秋, 渡辺嘉久, 下山田高茂, 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)

【はじめに】

アレルギー性副作用(以下ATRと略す)は、重篤なアナフィラキシーから軽微な蕁麻疹まで幅広い症状を示す、比較的高頻度で発生する副作用である。血漿の除去によって症状が軽減することから血漿成分の関与が示唆されている。血漿タンパク欠損や多型による抗体産生、血液製剤中の生理活性物質やアレルゲン、IgE抗体の受動免疫による感作とアレルゲンの摂取、偶発的に発生した反応などが原因の候補として挙げられているが、個々のケースでは、そのほとんどで原因物質、機序が明らかとされていない。

【検索の現状】

2011年に全国の医療機関から報告された非溶血性輸血副作用のうち、重篤な全身性反応であるアナフィラキシー(様)ショック、ショックを伴わないアナフィラキシー(様)反応、主に皮膚症状のみの蕁麻疹の3種の合計は、全体の63%を占めている。日本赤十字社では、これらのATRの発生の免疫学的な発生機序、すなわち、輸血による同種免疫と抗体の産生やアレルギー反応に着目して、副作用発生患者と輸血製剤の検査を行ってきた。現在、中央血液研究所では、IgA、ハプトグロビンを含む6種の血漿タンパク欠損と抗体の検査、総IgE検査および3種の特異IgE抗体の検査、トリプターゼ等の検査を日常検査として実施している。副作用発生例の検査の過程で血漿タンパク欠損者が同定されている。輸血された製剤中の当該血漿タンパクが患者の抗体と反応して免疫複合体を形成し、補体を活性化して、あるいはエフェクター細胞を膜上の受容体を介して活性化して、アナフィラキシー反応を誘発すると考えられている。1993年からの調査において、ハプトグロビン欠損の第1例目が1998年に検出された。帝王切開術後の赤血球輸血でのアナフィラキシー発生であった。患者の解析から原因遺伝子として欠失遺伝子、

Hp^{del} が同定された。その後、現在までに30名のハプトグロビン欠損者が同定され、そのうちの19名でアナフィラキシーの発生が報告された。患者は、 Hp^{del} のホモ接合体であった。 Hp^{del} は、アジア地域に分布し、これらの地域でのATRの原因となるものと推察された。ハプトグロビン欠損者は、輸血を受けると抗体IgGおよびIgEを産生し、その後の輸血で、抗原抗体反応を引き金とした副作用を発生することが示唆された。ハプトグロビン欠損者は、現在では遺伝子検査で確認している。IgA欠損は、1997年に1例目が同定された。慢性関節リウマチ患者の癌の手術に先立つ赤血球輸血でのアナフィラキシーの発生であった。その後現在までに、7名のIgAクラス欠損患者と3名のIgA2サブクラス欠損患者が同定された。3名がアナフィラキシーを発症していた。すべての患者でIgG抗体が、加えて一部の患者ではIgM抗体も検出された。IgA欠損では、原因遺伝子が特定されていないため、含量の検査のみで検出している。補体C9の欠損者は7名認められ、1名がアナフィラキシーを発生していた。以上の、3種の欠損が副作用患者で同定されているが、ハプトグロビン欠損が、欠損頻度、報告された副作用症状の重篤度から国内では最も重要と思われる。

【新たな手法の検討】

日常検査の結果から以下の点が示唆されている。血漿タンパク抗体が検出される患者の多くは欠損者ではない。総IgEの高い患者が多いので、患者のアトピー素因と副作用の関連が示唆される。輸血前後でトリプターゼ値が上昇する患者では、肥満細胞の活性化が示唆される。輸血前後で補体値の低下が認められる患者が有り、補体の活性化が示唆される。これらのことから、交差反応を検出する高感度の検査法、IgE抗体の検査、肥満細胞活性化因子についての検討、検出された抗体の性質の検討等が必要と思われた。

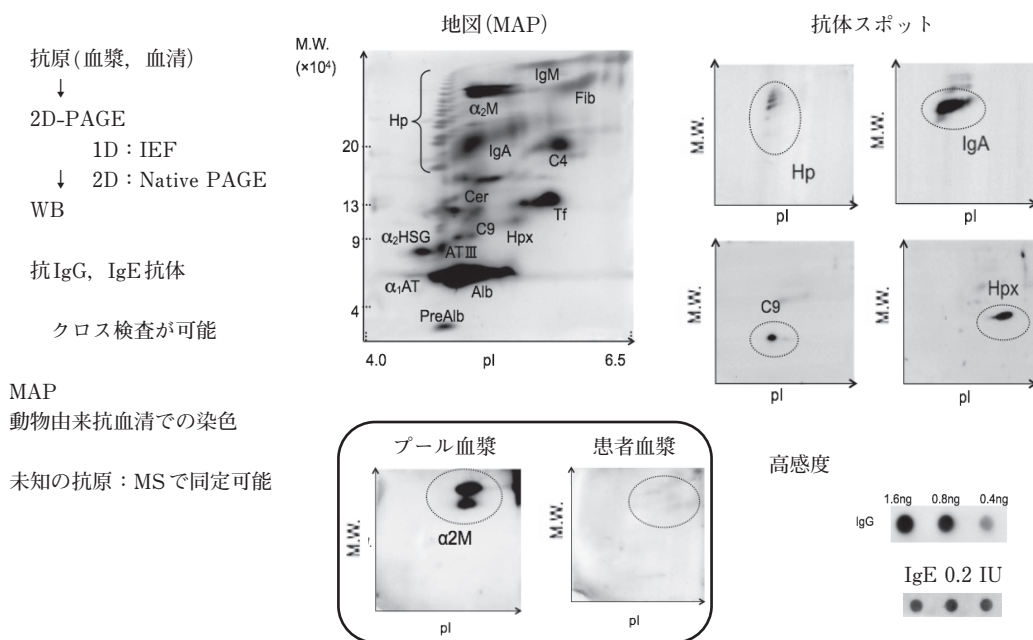
欠損者ではない患者に検出された血漿タンパク抗体について、交差試験を用いて、製剤中の当該血漿タンパクと反応するかあるいは、自身の当該タンパクと反応するかを検査することを試みている。その一つの手段として、二次元ウェスタンブロット法を用いた検査を行っている。抗原として血漿や血清を一次元目にIEFを、二次元目にNative PAGEを組み合わせて電気泳動を行い分離する。これをメンブランに転写して、患者血清希釈液と反応させた後、抗IgGあるいはIgE抗体を用いて検出する（図1）。検出された抗体のスポットは、MAPとの比較、動物抗体を用いた二次染色、スポットを切り出し後のMS等で同定する。抗原を変えて、高感度で交差試験が可能である。患者自身の抗原とは反応せずに、献血者の抗原のみと反応する抗体を検索している。

副作用発生患者血でトリプターゼ値の上昇が認められ、肥満細胞の活性化が示唆される例がある。

そこで、投与製剤に肥満細胞活性因子が存在すると仮定して検索を行っている。臍帯血由来培養肥満細胞を用いて、脱顆粒活性測定し、クロマトグラフィー等で分画、回収し、得られたタンパク質を、ウェスタンブロット、MS等で同定する（図2）。このような方法で、アナフィラキシーショックを発生した患者に投与された血漿成分からIgE重合体と抗IgE抗体が同定された。これらの成分を含む2名の献血者から献血された複数の血液製剤は、それぞれ別々の患者でのアナフィラキシーショックを発生時に投与されて原因製剤として報告されていた。これらの成分は、献血者に由来する因子であると思われた。

【おわりに】

ATRの発生の原因を明らかにすることは、合理的な予防法の策定に必要である。新しい手法を取り入れながら、今後とも検討を続けたい。



Anazawa M, *et al.* 血液事業 2009

図1 二次元電気泳動ウェスタンブロット法(2D-WB)
—血漿タンパク抗体の交差試験を高感度で実施する方法—

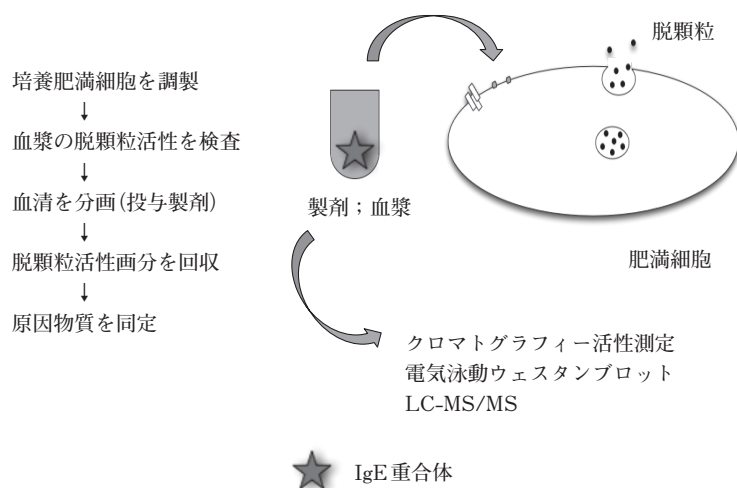
Abe *et al.* Transfusion 2011

図2 肥満細胞活性化因子の検討

シンポジウム5

輸血後GVHD

渡辺嘉久(日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)

はじめに

輸血後GVHDとは輸血された血液中のリンパ球が患者の体内で排除されずに増殖し、さらに患者の組織を異物として認識し攻撃することによって発症する重篤な輸血副作用である。その典型的な臨床経過は輸血後1～2週間で発熱・紅斑が出現し、肝障害・下痢などの症状が現れる。さらに骨髓が障害を受けることによる汎血球減少、そして多臓器不全を呈し、ほとんどの場合輸血後1カ月以内に死に至る。有効な治療法は確立されておらず、発症の予防のみが唯一の対策である。

歴史的背景

日本において輸血後GVHDが初めて報告されたのは1955年に術後紅皮症という予後不良の合併症としてであった¹⁾。後述するように輸血後GVHDは免疫不全状態の患者でのみ起こると認識されていたことから、この副作用は細菌感染症や薬物アレルギーが原因と疑われたが、その正体は不明であった。この副作用が輸血後GVHDと認識されるきっかけとなったのは1984年の青木らの大動脈瘤手術後の術後紅皮症の報告である²⁾。その中で著者らは非自己のリンパ球が血液ならびに骨髓で増殖し細胞障害性に働いたことを間接的にではあるが証明した。その後、日本輸血学会と日本胸部外科学会による胸部外科医を対象としたアンケートが行われ、63,257件の心臓手術のうちの96件(発症率1/658.9)が輸血後GVHDであると判定された³⁾。さらに日本赤十字社による全国の病院(年間1,000単位以上の輸血製剤を使用)を対象としたアンケートにより171例の確診例が得られ⁴⁾、これらのことから輸血後GVHDは年間100例以上発症しているのではないかと推定された。

発症の条件

輸血後GVHDの発症には、1) 輸血された血液(移植片)中に増殖能を有する免疫担当細胞が存在す

る、2) 宿主には移植片中の免疫担当細胞にはない組織適合性抗原が存在する、3) 宿主が移植片中の免疫担当細胞を排除できないこと、という3つの条件が必要である⁵⁾。はじめの2つは通常の輸血において成立しているが、3番目の条件から、輸血後GVHDは免疫不全状態の患者で起こることとされていた。しかしながら、GVHDと判定された例のほとんどは免疫学的には正常であった。だが、その後の確診例の調査から組織適合性抗原であるHLAの一方方向適合が成立していることがわかった。たとえばa/aというHLAホモ接合の血液がa/bというヘテロ接合の患者に輸血されたとき、患者からは輸血された血液中の免疫担当細胞を排除することができない。日本人は他の民族と比べて遺伝的に均一であり、このような組み合わせの輸血が起こる確率が高くなっている。また、手術において新鮮血の使用が好まれていたことや血縁者からの輸血が少なくなかったことも諸外国に比較して日本におけるGVHDの報告が多い要因であると思われる。

日赤、学会、厚生省の取り組み

この重篤な副作用に対して、日本輸血学会は1992年に最初の「輸血によるGVHD予防のための血液製剤への放射線照射ガイドライン」を作成した。このガイドラインはその後、1995年、1996年、1999年、2010年と4回改訂されている。日本赤十字社でも1992年に新たに発足した医薬情報部を中心に、医療機関への情報提供ならびに確定診断法の開発を行った。図1に日本赤十字社安全管理課によるGVHD疑い報告の推移を示す。さらに厚生省の二度の緊急安全性情報がきっかけとなって、輸血後GVHDが有効な治療法がなく死に至る重篤な副作用であり、放射線照射が唯一の予防法であることが広く認識されてきた。そして1998年に日本赤十字社が放射線照射輸血用血液の製造承認を取得し、その使用が普及したことにより、2000年

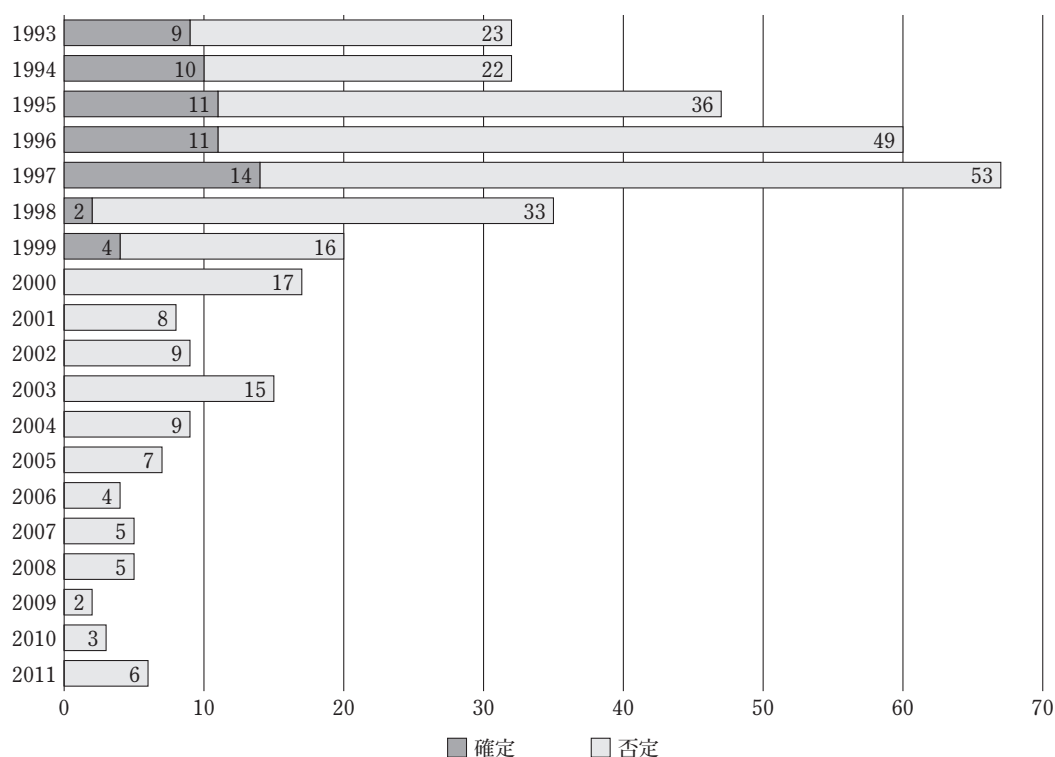


図1 輸血後GVHDを疑われた報告の推移

以降ではそれらによる輸血後GVHDと確定された例はなくなっている。

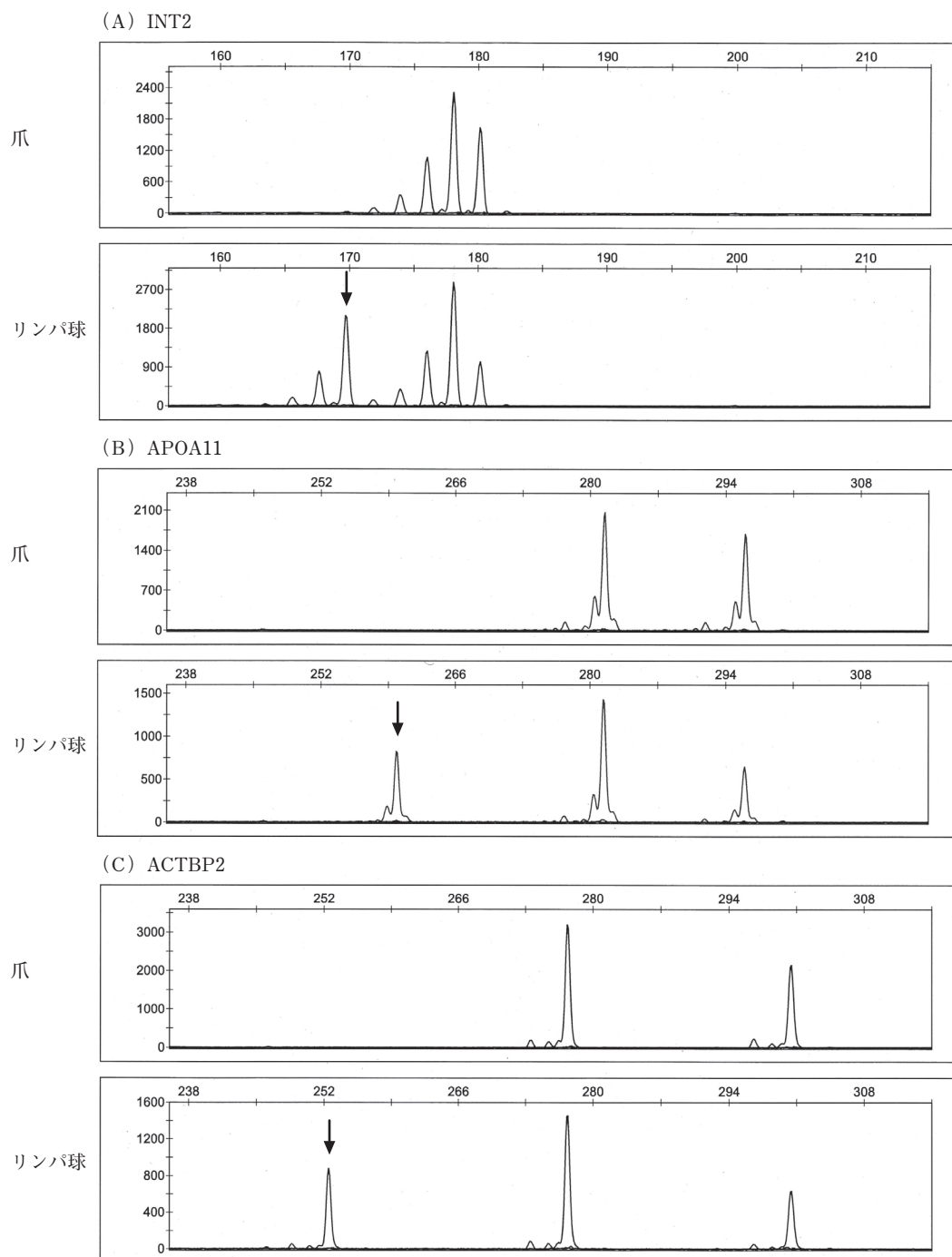
確定診断法

日本赤十字社ではGVHD疑いの症例についてマイクロサテライトDNAによるキメリズム検査を行っている⁶⁾。マイクロサテライトDNAとは2～6塩基の短い塩基配列が反復している領域で、その反復回数に個人差があり、高度の多型性を有していることから、個人識別などに用いられる。検体として患者の爪と末梢血を用いる。爪は表面を洗浄後、細かく刻みDNAを精製する。末梢血は磁気ビーズを用いてCD8陽性T細胞を分離し、そこからDNAを精製する。爪のDNAは患者本人のものであり、CD8陽性T細胞由来DNAに患者以外のDNAがあるかどうかでキメリズム状態を判定する。それぞれのDNAからPCR法で5種類のマイクロサテライトDNA (D6S89, INT2, HGH, APOA11, ACTBP2)を増幅し、キャピラリー電気泳動を行う。図2にキメリズム陽性例の泳動パ

ターンを示す。

今後に向けて

2010年1月に4度目の改訂となる「輸血によるGVHD防止のための血液に対する放射線照射ガイドラインV」が公表された⁷⁾。このガイドラインでは、原疾患に関わらず、放射線照射を新鮮凍結血漿を除くすべての製剤に適用することになっている。これは2007年および2008年の日本輸血・細胞治療学会のアンケート調査において未照射製剤を使用した施設が存在したことを受けてのことである。中央血液研究所でも院内採血の未照射新鮮血の輸血後の副作用でマイクロサテライトDNAのキメリズムが認められた例を経験している。幸い、最近はそのような症例を経験することもなく、予防対策が効果をあげていると思われるが、一方で関係者の輸血後GVHDに関する記憶も薄れてきたような印象を感じる。私たちは今後もこの副作用について忘れてはいけないものと考えます。



3種のマイクロサテライトDNA(INT2, APOA11, ACTBP2)の泳動パターン。縦軸はPCR産物の増幅量、横軸はサイズ(bp)を示す。3つのマイクロサテライトDNAすべてにおいてリンパ球で患者本人の爪には見られないピーク(↓で示す)が存在する。

図2 キメリズム陽性例の電気泳動パターン

謝 辞

副作用の情報ならびに検体の収集にご協力いた

だきました各医療機関の関係者の皆様、各血液センターの担当者の皆様に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 霜田俊丸：術後紅皮症について，外科，17：487-492，1955.
- 2) 青木泰子ほか：腹部大動脈瘤手術後の輸血による移植片対宿主反応が疑われた高令者の1例，日内会誌，73：1209-1216，1984.
- 3) Juji, T. *et al.*, Post-transfusion graft-versus-host disease in immunocompetent patients after cardiac surgery in Japan. *New Engl. J. Med.*, 321: 56, 1989.
- 4) 日本赤十字社「血液製剤の副作用防止に関する研究班」：研究報告書（平成元年度～平成3年度）．日本赤十字社，p26-56，1993.
- 5) Billingham, R.E., The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect.*, 62: 21-78, 1966.
- 6) 矢作裕司ほか：キャピラリー電気泳動法を用いたマイクロサテライトDNAの解析：輸血後GVHD検査への応用，日本輸血学会誌，46：432-442，2000.
- 7) 日本輸血・細胞治療学会 輸血後GVHD対策小委員会：会告VI，輸血によるGVHD予防のための血液に対する放射線照射ガイドラインV，日本輸血細胞治療学会誌，56：10-26，2010.

シンポジウム5

輸血後感染症の現状とその対策

平 力造(日本赤十字社血液事業本部)

[はじめに]

日本赤十字社では、2008年8月より血液製剤の安全性向上のために①血清学的検査を感染症検査の効率化、均一化を目的に凝集法から化学発光酵素免疫法(CLEIA法)へ変更した。(各検査項目の検出感度は凝集法と同等以上で設定し、HBs抗原検査のみ12ng/mL→0.1ng/mLと向上)②核酸増幅検査(NAT)は検査精度・感度の向上を目的に検出感度を約3倍程度向上させた新システムを導入した。この安全対策の導入効果を検証した結果、HBVについては、更なる安全対策が必要と判断され、HBc抗体検査の判定基準を強化することとなった。今回の報告では、同対策の効果の検証と同基準の強化に至った経緯について報告する。

[背景]

(1) B型肝炎ウイルスの歴史

現在、日本におけるHBVキャリア数は「慢性肝炎・肝硬変の診療ガイドライン2011」によると130万人～150万人と予測されている。受血者の輸血前検査の調査結果からHBs抗原陽性率は1.5%～3.7%、HBc抗体陽性率は19.7%～29.2%で、とくに60歳以上の高年齢者のHBc抗体の陽性率は約40%前後との報告がある(表1)。

1960年代の肝炎ウイルスが発見される前の輸血後肝炎発症率は約50%(輸血を受けた患者の2名に1名が発症)であり、当時の国民への肝炎ウイルス伝播を想像させた。その結果が現在の60歳以上のHBc抗体陽性率に反映しているものと推定された。

(2) 日赤でのHBV関連検査の変遷

HBVは1964年に発見され、1968年に病態の関連が判明した。日赤では世界に先駆け1972年から献血者全員にHBs抗原検査を開始し、1989年には、HBc抗体検査を導入した。導入経緯はHBs抗原検査実施後も輸血による劇症B型肝炎症例が散発し、

その原因を調査した結果HBc抗体高力価群にHBV-DNA陽性検体があることが証明され、現行のHBc抗体検査の礎であるHBc抗体とHBs抗体の総合判定による検査が開始された。また、1999年には感染極初期(ウィンドウ期)への対策としてNATを開始した。

[安全対策の効果の検証]

(1) NATシステムの変更

新システム導入により検出感度が約3倍上昇し旧システムと新システムとの比較においてHBV、HCV、HIVの検出数には大きな差はなかったが、旧システムで検出されたHBVのHBc抗体陽性頻度は10万検体あたり0.39件1.28件と上昇した。このことは、検出感度が高くなればHBc抗体陽性者は血中にHBVを検出する可能性があることが示唆された(表2)。

(2) 副作用・感染症報告からの検証

2000年以降に医療機関から報告され、保管検体の調査結果から、輸血と感染の可能性が高いとされたTT-HBV、TT-HCV、TT-HIV症例は、それぞれ117件、5件、1件であった。(2011年末時点)

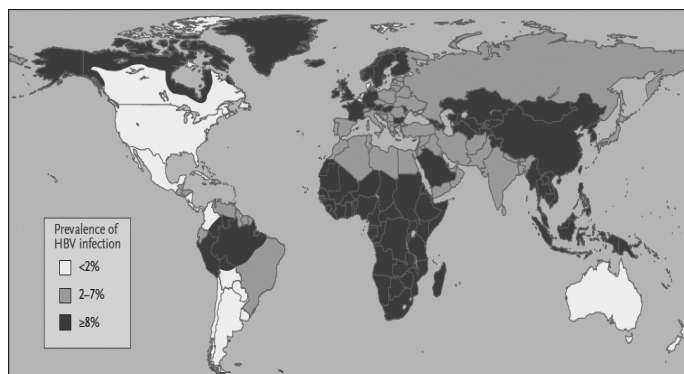
新システム導入後の2年間でTT-HBVは23症例で内16例(70%)がHBV感染既往の血液が原因であった。同システム下でのHBV感染既往の血液による感染事例が年間7件(1件は個別NAT陰性)確認された。

一方、HCV、HIVは、新システムでの検査すり抜けによる感染事例がなく、新システムがさらに有効に機能していることが示唆された(表3)。

(3) HBV感染既往献血者の個別HBV-NAT陽性率調査

現行検査システムで検査判定「適」のHBV感染既往(HBc抗体1以上12未満・HBs抗体200mIU/mL未満)の献血血液4,742本について個別HBV-NATを実施した結果、92本1.9%が陽性であった。

表1 Prevalence of HBV Infection



- 4 億人／世界持続感染 (HBs 抗原陽性)
- 3 億人 (75%) が東南アジアと極東に集中
⇒ 日本では、130 万人から 150 万人と予測
「慢性肝炎・肝硬変の診療ガイドライン 2011」
- HBs 抗原陽性率の違いで 3 段階
(8 % 以上, 2-8 %, 2 % 未満)

Dienstag JL. N Engl J Med. 2008; 359: 1486

	Hong Kong		Japan (nagoya)	Japan (asahikawa)
HBsAg (+)	12% ¹⁾ (78/626)	—	1.5% ⁴⁾ (53/3,874)	3.7% ⁵⁾ (124/3,353)
Anti-HBcAb (+)	76% ¹⁾ (94/124)	62% ³⁾ (152/244)	19.7% ⁴⁾ (764/3,874)	29.2% ⁵⁾ (979/3,353)
Anti-HBsAb (+)	65% ²⁾ (81/124)	58% ³⁾ (142/244)	22.0% ⁴⁾ (852/3,874)	30.2% ⁵⁾ (1,013/3,353)
Anti-HBc/sAb and/or (+)	79% ²⁾ (98/124)	71% ³⁾ (173/244)	23.2% ⁴⁾ (899/3,874)	—

1) Yeo *et al.* J Med Virol 2000 (62) 2992) Hui *et al.* J Hepatol 2005 (42) 8133) Hui *et al.* Gastroenterology 2006 (131) 594) Kusumoto *et al.* Int J Hematol 2009 (90) 13

5) Kino. S Vox Sang 2009 (97) Suppl. 1

表2 安全対策効果の検証 (NAT)

20 本プール検体検査実施状況

	検査システム	検査対象数	HBV	HCV	HIV
2004.8-2008.7	GT-X システム (AmpliNAT MPX)	19,513,054	334 (1.71)	32 (0.16)	11 (0.06)
2008.8-2012.7	s401 システム (TaqScreen MPX)	20,368,427	376 (1.85)	16 (0.08)	7 (0.03)

() : 10 万検査対象数あたり

HBc 抗体結果別スクリーニング NAT (HBV) 陽性検体

	検査システム	検査対象数	HBc 抗体 (陰性)	HBc 抗体 (陽性)
2004.8-2008.7	GT-X システム (AmpliNAT MPX)	19,513,054	258 (1.32)	76 (0.39)
2008.8-2012.7	s401 システム (TaqScreen MPX)	20,368,427	115 (0.57)	261 (1.28)

() : 10 万検査対象数あたり

⇒ 検査感度の向上により、HBV 感染既往の血液に HBV-DNA 陽性数が約 3 倍増加した。

表3 安全対策の効果の検証(副作用・感染症報告)

輸血後HBV感染症例(検体本数別・検査システム別・原因血液感染状況別)

検体本数	NAT(検査システム)	TT-HBV 症例	Window (HBc 抗体陰性)	HBV 感染既往 (HBc 抗体陽性)
50 本	GT-X システム (AmpliNAT MPX : 4.5 年間)	50 【46】	33 【30】	17 (34%) 【16】
20 本	GT-X システム (AmpliNAT MPX : 4 年間) 2004/8/1 ~ 2008/7/31 採血	31 【31】	18 【18】	13 (42%) 【13】
	s401 システム (TaqScreen MPX : 2 年間) 2008/8/1 ~ 2010/7/31 採血	23 【21】	7 【7】	16 (70%) 【14】

【 】 : 献血血液数(同時製造製品による感染症例除く)

輸血後HCV・HIV感染症例(検体本数別・検査システム別)

	50 本導入前	50 本	20 本 (GT-X システム)	20 本 (s401 システム)	計
TT-HCV	1	2 (0.4)	2 (0.5)	0	5
TT-HIV	0	1 (0.2)	0	0	1
試薬		AmpliNAT MPX		TaqScreen MPX	

() : 1 年間あたり

【まとめ】

近年、生体部分肝移植例の詳細な経過観察結果等から、HBV 感染既往(HBs 抗原「陰性」、HBc 抗体・HBs 抗体 (and/or) 「陽性」) の人は、本人の健康上問題はないものの、肝臓の中にはほとんど例外なくごく微量のHBV が持続して感染しており、血液中でも極微量のHBV が存在することが明らかとなった。

このような背景の中、新システム下でTT-HBV23 例中16 例(70%) がHBc 抗体1.0 以上12.0 未満・HBs 抗体200mIU/mL(感染既往)の血液が原因となる感染事例であり、更なる安全対策を検討することとなった。

対象となる感染既往の献血者は1 年間で約45,000 人(献血血液67,000)であり、平成23 年4 月からの献血の可能年齢等(採血基準)の変更、複数回クラブの有効な活用により充分対応可能であり、輸血用血液製剤の安定供給に支障をきたさないと結論に至り、HBc 抗体検査の判定基準を強化することとなった。

今回の安全対策については、日赤のヘモビジランスシステムを基礎としPDCA サイクルが機能したことにより成し得た成果であった。今後も引き続き、多方面からの情報を収集・解析し、次期の更なる安全対策に繋げていく必要がある。

シンポジウム5

輸血副作用への対応

—医療機関の立場から—

藤井康彦(山口大学医学部附属病院輸血部)

【はじめに】

米国Food and Drug Administration (FDA) の報告では輸血に関連した死亡の第一位は輸血関連急性肺障害 (TRALI) であり, ABO 以外の溶血性副作用, ABO 不適合輸血, 細菌感染症, 輸血関連循環過負荷 (TACO), アレルギー反応が続いている。我が国では麻酔科学会により手術部門への血液供給の遅れによる失血死の発生が報告されている。

【目 的】

輸血療法の安全性向上のために医療機関が取り得る輸血副作用への対応を検討する。

【方 法】

輸血療法の管理体制の改善, 輸血副作用の予防対策, 発生時の対応に区分し対策案を検討した。

【結 果】

1. 輸血療法の管理体制の改善

実際に輸血副作用の予防対策・発生時の対応を立案・実行する輸血部門・輸血療法委員会の体制を確立することは最も重要である。輸血管理料の算定要件の施設基準で, 輸血管理体制に必要な組織・人員が「輸血療法の実施に関する指針」に準拠して規定され, 保険医療の面からも輸血管理体制の整備が図られている。しかし, 自施設で, 輸血医療の専門知識を持った人員を確保することが困難な施設が多数存在しており, 輸血療法の管理体制改善のためには, 合同輸血療法委員会の活性化, 輸血・細胞治療学会 I&A の促進, 輸血管理料の算定の改善などの方策が必要と思われる。

2. 輸血副作用の予防対策

輸血副作用の予防対策は「安全な輸血療法ガイド」¹⁾(図1)に詳細が記載されている。

予防対策が最も有効であるのはABO 不適合輸血であるが, ABO 以外の溶血性副作用も予防対策が

重要である。輸血部門の適切な輸血検査レベルを維持することが肝要であり, 認定輸血検査技師制度の活用が望まれる。緊急時の未交差O型赤血球製剤の使用, 不規則抗体陽性患者・RhD陰性患者への緊急輸血の実施体制の整備が必須であり, 赤十字血液センターとの協力体制の構築が不可欠である。緊急時の未交差ABO 同型赤血球製剤の使用の場合に必要な輸血検査を表1に示した。また, 緊急輸血症例での不規則抗体による溶血性副作用のリスク管理について表2に示した。2010年輸血業務に関する総合アンケート調査では相当数の



図1 安全な輸血療法ガイド

表1 緊急輸血時の未交差ABO同型赤血球製剤の使用

対象患者	血液型検査を同一患者の異なる時点での2検体で行った患者
必要な検査	最新の検体で血液型を再確認
輸血開始後の追加検査	不規則抗体スクリーニング，交差適合試験

表2 緊急輸血症例での不規則抗体による溶血性副作用のリスク管理

救命のために緊急輸血が実施された症例では、事後であっても、不規則抗体スクリーニング，交差適合試験，血液型の確定を行う
不規則抗体スクリーニング検査で陽性の場合は抗体同定を行う
検査ができない場合は，赤十字血液センターや検査センターに精査を依頼する
不規則抗体（ABO以外の血液型不適合）による溶血反応の発生が予想される場合には，輸血部門から担当医師に直ちに十分な情報提供を行う

RhD不適合輸血が報告されているが¹⁾，RhD陰性ABO異型適合血を使用することによりRhD不適合輸血を回避する努力が必要と思われる。

輸血実施前には，患者・製剤照合の徹底が必要である。輸血の実施手順と輸血に関連した間違いについては安全な輸血療法ガイドに詳細を記載した。例として病棟での交差試験済血液製剤の保管の問題について図2に示した。病棟に輸血部門と同様の温度管理が可能な保冷庫を設置し，交差試験済の製剤を保存している大規模病院が少なくないが，ABO不適合輸血防止の観点から見直しが必要である。また，輸血後GVHDの予防対策として放射線照射ガイドラインVを遵守することも重要である。

3. 輸血副作用発生時の対応

輸血開始後の患者観察を適切に行うことは，輸血副作用の早期発見に重要である。副作用の症状を正確に記録し，重篤な輸血副作用発生時に対応するために輸血専門医によるコンサルテーション体制を構築することが望まれる。詳細については「輸血副作用対応ガイド」²⁾示されており，本ガイドが輸血副作用知識の普及に活用される事が望まれる。

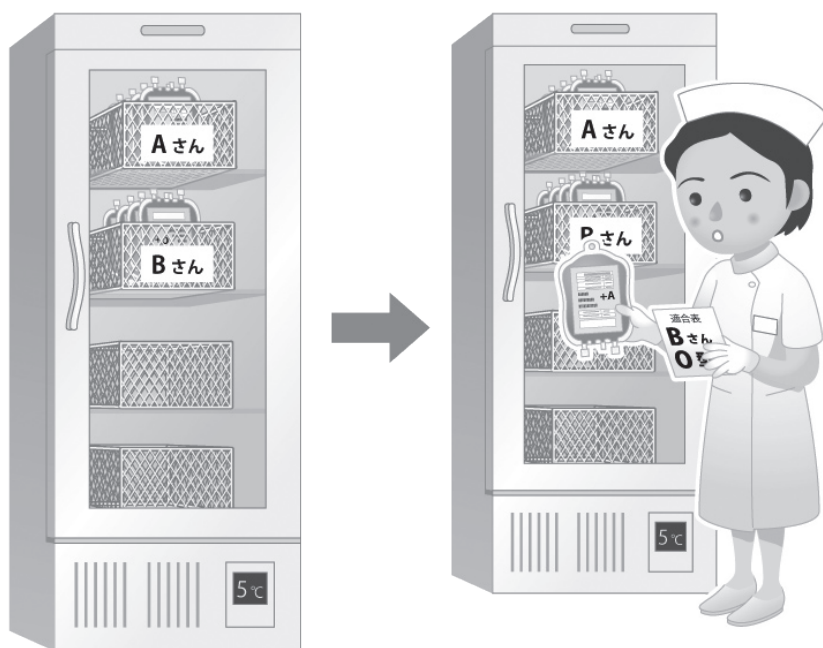
【考察・まとめ】

輸血副作用へのこれらの対策は「輸血療法の実施に関する指針」にすでに示されているが，院内感染対策，医療安全対策と比較すると，具体的な実施方法の標準化が十分ではない。今後これらの標準化が進むことが望まれる。

文 献

- 1) 藤井康彦：安全な輸血療法ガイド，厚生労働省科学研究 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，2012。
<http://www.jstmct.or.jp/jstmct/Document/Guideline/Ref22.pdf>

- 2) 藤井康彦・高本滋他：輸血副作用対応ガイド，厚生労働省科学研究 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，2011。
<http://www.jstmct.or.jp/jstmct/Document/Guideline/Ref19-3.pdf>



交差試験済みの複数名の製剤が病棟冷蔵庫に保管されおり、看護師が間違っって別患者の製剤を取り出している様子が示されている。

血液製剤の温度管理の観点から病棟での保管を行わないことを原則としているが、病棟に輸血部門と同様の温度管理が可能な保冷庫を設置し、交差試験済みの製剤を保存している大規模病院が少なくない。ABO不適合輸血防止の観点から見直しが必要である。
(安全な輸血療法ガイドより転載)

図2 病棟での血液製剤の保管