

シンポジウム 4

非溶血性輸血副作用

シンポジウム4 司会のことば

非溶血性輸血副作用

藤原満博(日本赤十字社北海道ブロック血液センター)

平山文也(日本赤十字社近畿ブロック血液センター)

輸血副作用の大半は非溶血性輸血副作用である。輸血との因果関係の特定や原因解明のために日本赤十字社では残余製剤や患者血液を用いて種々の検査を行っている。しかし、その目的を達成できる事例は少なく、医療機関の満足度も極めて低い。その原因として、3点が考えられる。そのひとつとして、副作用発生の要因としては製剤に由来する要因と患者に由来する要因があり、副作用発症には両者が複雑に絡み合うと考えられているにもかかわらず、血液製剤製造業者である日本赤十字社としては製剤要因へのアプローチは比較的容易であるものの、患者要因へのアプローチは困難なことが多く、これまで十分に行えなかったことが挙げられる。この点を解決するためには、医療機関が主体となり患者要因を解析することが求められる。さらには日本赤十字社と医療機関がより緊密な協力体制構築し原因究明の努力を両者共同で推し進める姿勢も必要であろう。もう一つの原因として挙げられるのは、根拠に基づく医療(EBM: evidence-based medicine)の重要性が叫ばれて久しいにも拘らず、日本赤十字社で行われている副作用検査の中には根拠に乏しいものも多く、検査項目の整理が十分されていないことが挙げられる。3点目は、逆に非常に有用な検査があることも事実であり、また正式な副作用検査としては取り扱われていないものの、その有用性が期待される検査が登場してきていることも事実であるにもかかわらず、それらの評価が十分されていないことである。

非溶血性輸血副作用の中で輸血関連急性肺障害(TRALI: transfusion-related acute lung injury)においては、国により検出される抗体の種類・頻度、さらには原因製剤に大きな相違が認められるから、日本の現状を把握しておくことは重要である。

本シンポジウムでは、上記の点を念頭におきながら、4人の先生方にご講演をお願いした。愛知

医科大学の加藤先生は、医療機関側の解析結果として各血液製剤のバックあたりの副作用種類別発生頻度、初回輸血時とそれ以降の発生頻度の比較データ、実患者当たりの発生頻度等を提示された。今後の患者要因の詳細な解析が期待される。また、副作用発生機序の全体像を理解するためには医療機関と日本赤十字社とのタイアップも重要であることが切実に感じられた。近畿ブロック血液センターの保井先生は、アレルギー性副作用の製剤因子、患者因子、それらを解析するためのツールである「好塩基球活性化試験」の有用性について概説された。同試験は試験運用段階の検査法であるが、同試験も含めてより有用な試験法の開発・導入が期待される場所である。中央血液研究所の鎌田先生は、日本のTRALI症例での製剤中の白血球抗体について詳細なデータを提示された。白血球抗体の種類別検出頻度、抗体力価の重要性、一部の抗体では発症につながる機序の解析結果等を詳細に紹介された。最後に血液事業本部の平先生は、日本赤十字社がこれまで行ってきた副作用検査法を概説され、その問題点を掘り起し、さらには同検査を有意義かつ効率的なものにするための基本的な考え方も示された。ご講演の詳細な内容は、それぞれの先生の論文を参照頂きたい。

血液事業本部の示す血小板製剤の将来像のひとつとして置換血小板が挙げられる。一定割合の血漿を保存液に置換することにより得られた血漿が原料血漿等として生かされることにより財政的に大きなメリットをもたらす。それに加えて、血小板製剤による非溶血性輸血副作用の発生頻度が低下するというメリットも兼ね備えている。しかし、有意な低下は認められるものの、その発生頻度は決してゼロにはならない。したがって、今後も非溶血性輸血副作用は血液事業にとって大きな問題であり続けることとなる。その解決には医療機関との信頼・協力体制の構築、より効果的・効率的

な検査法・検査体制の構築等が重要なポイントと
なってくる。本シンポジウムがそれらに対して少

しでも貢献できたとするならば幸甚である。

シンポジウム4

アレルギー性副作用の原因因子

保井一太(日本赤十字社近畿ブロック血液センター)

1. はじめに

非溶血性輸血副作用は輸血副作用の中で最も多く、アレルギー性副作用(ATR)、発熱反応などのさまざまな症状が報告されている。日本赤十字社に報告されるATRの発生頻度は輸血副作用全体の約60%を占め、製剤別では血小板製剤、血漿製剤、赤血球製剤の順にその頻度が高い。しかし、製剤別の差が製剤の特性に起因するのか、基礎疾患や輸血歴などの患者因子に起因するのかは不明である。ATRを引き起こすアレルゲンとしてIgAやハプトグロビンなどの血漿タンパク質欠損に起因するアナフィラキシー反応の症例が複数報告され、その多くが重篤である。血漿タンパク質欠損および血漿タンパク質抗体はほぼ全数検査されているが、精査された場合でも陽性を示す事例はまれである。すなわち、ATRと輸血との因果関係は多くの場合は不明である。ATRの多くは、自然消失するか治療によく反応するが、生命を危うくする副作用については、再発防止のためにその原因を究明する必要がある。本稿では、ATR検査法、ATRの製剤因子および患者因子についてまとめたので報告する。

2. ATRの検査方法

現在、血液事業において有効性が認められている3種類のATR検査方法を紹介する。

1) 血漿タンパク質の欠損の確認および血漿タンパク質抗体検査

受血者がIgAやハプトグロビンなどの血漿タンパク質を欠損し、かつ同タンパク質に対する抗体を保有している場合、血漿タンパク質そのものが副作用の原因となる¹⁾。患者が血漿タンパク質を欠損かつ血漿タンパク質抗体を保有するATR症例では、アナフィラキシー反応などの重篤例が多いが、これに該当するATR症例はまれである。

2) トリプターゼ検査

トリプターゼは肥満細胞が分泌する顆粒由来の

セリンプロテアーゼである。血清(血漿)中におけるトリプターゼ濃度の上昇は、全身アナフィラキシーや他の即時型アレルギー反応における肥満細胞の活性化レベルとよく相関する^{2), 3)}。日赤ではATRが疑われかつ患者血清が利用可能な場合、患者血清中のトリプターゼ値を測定している。同検査方法はATR診断に有用であるが、いくつかの欠点もある。まず、トリプターゼの血中半減期が2時間と短く、ATR発生直後のサンプリングが必要となり、患者検体が入手できず検査不成立となる場合がしばしばある⁴⁾。また、ATRのもう一つのメディエーター細胞である好塩基球はトリプターゼ産生が低く、同細胞を介したATRを正確に評価できないことが挙げられる^{5), 6)}。トリプターゼ検査は一部のアレルギー反応の発生をするが、そのアレルギー反応と輸血との因果関係までは特定できない。

3) 好塩基球活性化試験

好塩基球活性化試験はアレルギー疾患領域にて開発され、最近、輸血領域でも応用されてきている。この試験方法は、患者全血をアレルゲン(原因製剤の上清)と培養し、その後起こる好塩基球の活性化を脱顆粒・活性化マーカーであるCD63やCD203cの発現上昇を指標としてフローサイトメーターを用いて測定する。我々も、本試験がATR検査に有用であることを、後方視的研究によって示した⁷⁾。また、ATRの発症機序としてアレルゲン依存的経路、アレルゲン非依存的経路の2種類が存在するが(図1)、これまで本試験では両者の判別は困難であった。しかし、我々はアレルゲン依存的経路を介した好塩基球の活性化を選択的に阻害する薬剤(ダサチニブ)を用いることで両者の判別に成功した⁸⁾。本試験は、ATRと輸血との因果関係の検証に有用であろうと考えられるが、感度、特異性などいくつかの問題があり、現在のところ研究レベルの検査方法である。また、同方法の最も大きな問題は、好塩基球のソースとして用

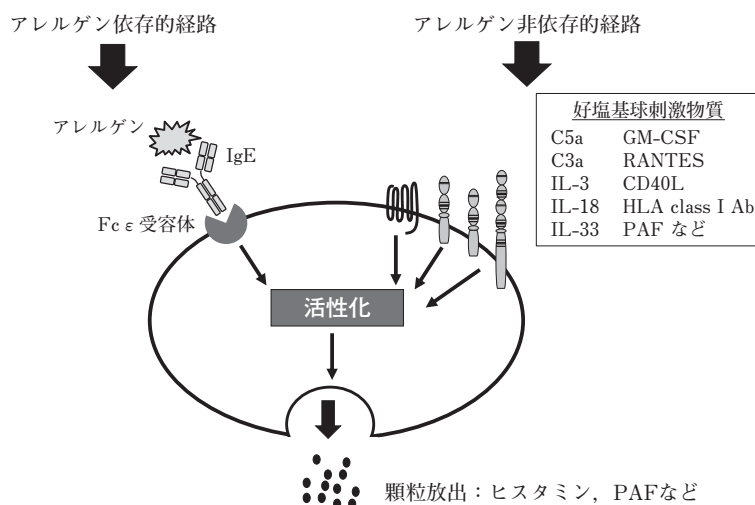


図1 アレルギー依存的経路と非依存的経路

いる新鮮患者全血を容易に入手できないことにある。とりわけ、血小板輸血を必要とする患者の約半数は白血病を含む血液疾患であり、検査に必要な白血球数を入手することは困難である。

3. 製剤中の原因因子

血液製剤中のATR原因因子は1) アレルゲン（血漿タンパク質，食物アレルゲンなど），2) FcεR1を直接クロスリンクする分子（抗IgE抗体，IgEオリゴマーなど），3) 非アレルゲン刺激（炎症性サイトカイン，血小板由来の顆粒，DAMPsなど）に大別される。我々は，前述の好塩基球活性化試験の反応パターンから，これら3種類の原因因子の判別を試みた（図2）。1) アレルゲン刺激の場合，患者との特異的反応であるので，第3者健康人好塩基球は活性化させず，患者好塩基球のみを活性化させる。また，その活性化はFcεRを介して起こるので，ダサチニブ添加によって阻害される。2) FcεR1を直接クロスリンクする分子の場合，患者特異性がないため，患者および第3者健康人の好塩基球を活性化させる。また，その活性化はダサチニブ添加によって阻害される。3) 非アレルゲン刺激の場合，患者特異性がなくFcεR1も介さない活性化であるので，患者および第3者健康人の好塩基球をダサチニブ処理の有無に関わらず活性化させる。実際，ATR症例のいくつかはアレルゲ

ン刺激の反応パターンを示した⁸⁾。また，患者好塩基球が入手できず，代用の健康人好塩基球での活性化実験からの推測であるが，ATR製剤に含まれる食物アレルゲン（鯖アレルゲン）が原因と考えられる症例も見出した⁸⁾。最近，患者の保有するある種食物抗原に対する抗体が，アレルギー性副作用を誘発する可能性があることが示唆され始めており，本研究結果もそれに含まれるものとなる。また，使用した好塩基球に対する特異性を示さない症例も存在したが⁷⁾，その原因因子がFcεR1を直接クロスリンクする分子か，非アレルゲン刺激かの判別までには至っていない。

4. 患者由来の原因因子

多くの場合，ATRと輸血との因果関係の特定はもとよりその発生機序の解明や予防方法の開発については充分なされていないのが現状である。その理由として，非溶血性輸血副作用には製剤因子や患者因子などの多くの要素が複雑に関わり合うからである。患者因子については血漿タンパク質欠損患者が有する血漿タンパク質抗体以外にそれらは同定されていない。患者因子の一部は，血球細胞へのCa²⁺ influxを上昇させる分子という報告⁹⁾があるが，原因因子の特定には至っていない。患者のアレルギー体質がATRの原因因子の一つという報告¹⁰⁾もある。我々も，ATR患者好塩基球に

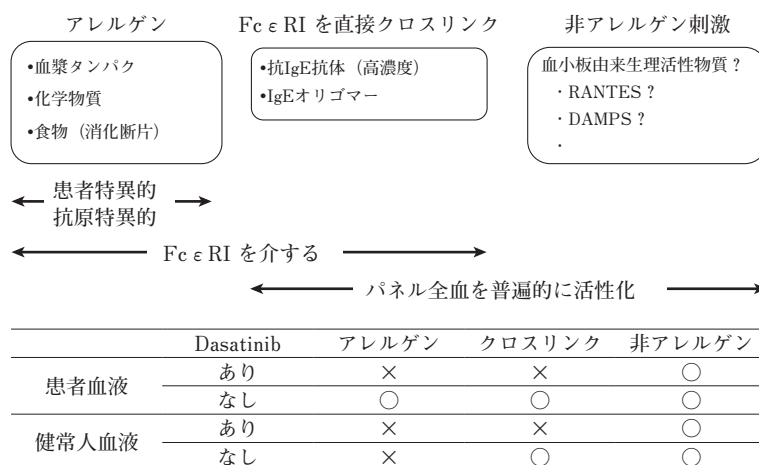


図2 製剤中のATR原因因子の分類

副作用製剤 (ATR 以外の非溶血性輸血副作用製剤) 上清を添加した場合, 11 例中 4 例で好塩基球の活性化が見られ, その活性化はダサチニブ処理によって抑制されるという結果を得ている。この結果は“患者のアレルギー体質”という原因因子を示唆するものであるが, 症例数が少ないため, さらなる検討が必要である。

5. まとめ

好塩基球活性化試験は, 感度, 特異性, 検査に必要な患者白血球数などいくつかの問題があり, 現在のところ研究レベルの検査方法である。しか

し, ATR と輸血との因果関係の検証に有用と考えられ, 今後の研究開発が期待される。また, これまで ATR の研究は主に製剤側の原因因子を中心に研究されてきたが, 患者因子もこれと同様に重要である。ATR と輸血との因果関係は, とくに重症例では個々の事例で個別に特定, 評価しなければならない。これまでに特定されていない患者因子の同定が可能になれば, ATR 発生機序の解明に大きく寄与する。発生機序が明らかになれば, 診断のための検査が確立され, さらにその予防法への道も開ける。

参考文献

- 1) Hirayama F. Current understanding of allergic transfusion reactions: incidence, pathogenesis, laboratory tests, prevention and treatment. *Br. J. Haematol* 2013; 160: 434-444
- 2) Schwartz LB, Metcalfe DD, Miller JS, *et al.* Tryptase levels as an indicator of mast cell activation in systemic anaphylaxis and mastocytosis. *New England Journal of Medicine* 1987; 316: 1622-1626
- 3) Schwartz LB, Sakai K, Bradford TR, *et al.* The alpha form of human tryptase is the predominant type present in blood at baseline in normal subjects and is elevated in those with systemic mastocytosis. *Journal of Clinical Investigation* 1995; 96: 2702-2710
- 4) Schwartz LB. Tryptase from human mast cells: biochemistry and clinical utility. *Monographs in Allergy* 1990; 27: 90-113
- 5) Castells MC, Irani AM, Schwartz LB. Evaluation of human peripheral blood leukocytes for mast cell tryptase. *Journal of immunology* 1987; 138: 2184-2189
- 6) Foster B, Schwartz LB, Devouassoux G, *et al.* Characterization of mast-cell tryptase-expressing peripheral blood cells as basophils. *Journal of*

- Allergy and Clinical Immunology 2002; 109: 287-293
- 7) Matsuyama N, Hirayama F, Wakamoto S, *et al.* Application of the basophil activation test in the analysis of allergic transfusion reactions. Transfusion Medicine 2009; 19:274-277
- 8) Matsuyama N, Yasui K, Amakishi E, *et al.* The IgE-dependent pathway in allergic transfusion reactions: involvement of donor blood allergens other than plasma proteins. Int J Hematol 2015; 102: 93-100
- 9) Azuma H, Yamaguchi M, Takahashi D, *et al.* Elevated Ca²⁺ influx-inducing activity toward mast cells in pretransfusion sera from patients who developed transfusion-related adverse reactions. Transfusion 2009; 49: 1754-61
- 10) Savage WJ, Tobian AA, Savage JH *et al.* Transfusion and component characteristics are not associated with allergic transfusion reactions to apheresis. Transfusion 2015; 55: 296-300s

シンポジウム4

TRALI症例における白血球抗体

鎌田裕美(日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)

はじめに

輸血関連急性肺障害 (Transfusion-related acute lung injury: TRALI) は重篤な非溶血性輸血副作用 (nonhemolytic transfusion reactions: NHTRs) であり、米国における輸血関連死亡報告症例で最も多い死亡原因となっている。TRALIは、白血球抗体が関与する免疫学的機序によるものと、輸血製剤の保存に伴い蓄積された生理活性物質が関与する非免疫学的機序によるものに分けられる。非免疫学的機序の原因物質には活性脂質やsCD40Lなどが挙げられているが、不明な点が多い。日本赤十字社では安全な輸血を目的とし副作用発生調査と原因解明のために、TRALIが疑われるNHTRs症例について白血球抗体検査を行ってきた。今回、検査を開始した1997年～2015年6月までに調査されたTRALI確定症例の患者258検体、輸血製剤268症例(665検体)について報告する。

白血球抗体検出状況

TRALI関連白血球抗体検査は、HLAクラスI, クラスII, 顆粒球抗体であるHNA-1, 2, 3a, および血小板に対する抗体であるNak^a (CD36) 抗体を対象とした。TRALI症例の患者の30.2%, 輸血製剤の43.7%から抗体が検出されている (図1a)。輸血製剤から抗体が検出された症例のうち73症例についてクロスマッチを実施し、HLAクロスマッチでは45症例(66.2%), HNAクロスマッチでは8症例(57.1%)が陽性、計48症例(5例重複, 65.6%)で輸血製剤中の抗体と患者の白血球抗原との一致が確認されている。輸血製剤の種類別にみるとTRALI症例は赤血球製剤が最も多く使用されるが、抗体検出率は27.2%と低い (図1b)。赤血球製剤は、血漿成分が置換されていることから抗体が関与することは考え難く、抗体が関与しない非免疫学的機序によるTRALIであるかは現在のところ調査されていない。

TRALI症例から検出されるHLA抗体

TRALI症例の輸血製剤からは39.6%のHLA抗体が検出されている。クラス別陽性率は12.3% (クラスI), 7.8% (クラスII), 19.4% (クラスI+II) であり、その他のNHTRsのHLA抗体陽性率16.7%, クラス別陽性率9.9% (クラスI), 2.9% (クラスII), 3.9% (クラスI+II) との比較では有意差が認められ、TRALI症例から検出される抗体はクラスIIの割合が高い。HLA抗体の強度に着目すると、患者のHLA抗原と輸血製剤の抗体特異性が一致したHLA抗体の蛍光値の和は、その他のNHTRsのものと比較すると有意に高くHLA抗体の強度とTRALIの発症の間に相関が見られる。また、ここで検出されている輸血製剤中のHLA抗体は、複数のHLA抗原に対する抗体を保有しており、反応性の高いHLA抗体ほどTRALIを起こす危険性が高いことが示唆される¹⁾。

TRALI症例から検出されるHNA(顆粒球)抗体

HNA抗体は、TRALI症例の輸血製剤から9.0%検出されている。諸外国から報告されている重篤なTRALIと関連するHNA-3a抗体が4例(2例は同一献血者)3名の献血者から検出されている。HNA-3抗原の発現は顆粒球に限らずリンパ球、単球、血小板、血管内皮細胞などその他さまざまな組織に発現しており、日本人のHNA-3aの発現頻度は9割弱である。この3名の献血者は複数回献血者で、当該症例以外の献血による副作用の報告はない。この事実は、輸血製剤中の抗体だけでなく、患者の疾患や状態やその他の条件がTRALIの発症に大きく関与していることを示唆する。また、TRALI症例から検出されたHNA-3a抗体は、TRALIと関連のない献血者が保有するHNA-3a抗体と比較すると明らかに力価が高く、少なくともHLA抗体同様HNA-3a抗体の力価もTRALIの発症に関与している可能性が考えられる。

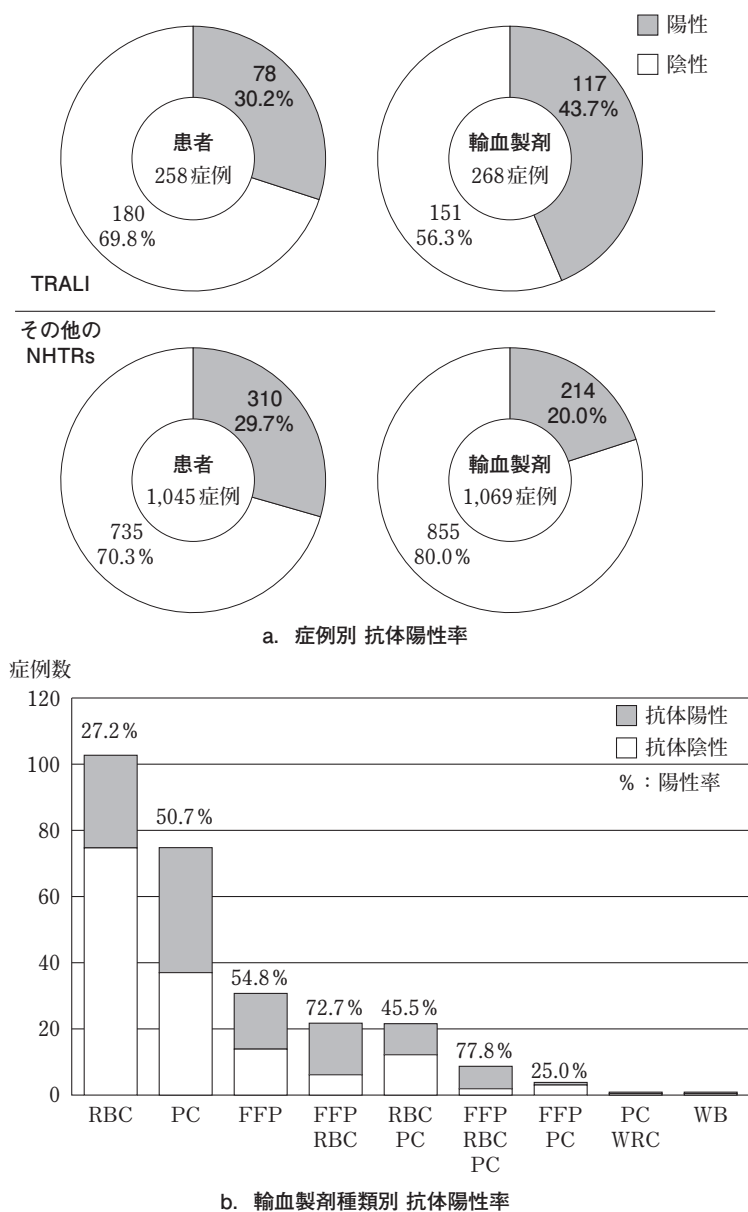


図1 白血球抗体陽性率

TRALI症例から検出される Nak^a (CD36) 抗体

Nak^a抗体は、血小板や単球、血管内皮細胞などに発現しているCD36分子に対する抗体である。CD36分子には、完全に分子が欠損しているタイプI欠損と、血小板のみに欠損がみられるタイプII欠損があり、日本人は白人に比べ高い頻度で欠損

者が存在する。そのため本邦においては、欠損者が保有するNak^a抗体により3例のTRALI発症が判明している。そのNak^a抗体が関与したTRALI症例の献血者は、2例が同一の女性、3例目が男性であった。これまでNak^a抗体は妊娠により免疫を受けた女性が産生すると思われていたが、CD36

欠損者の場合、男性欠損者も抗体を保有し TRALI に関与することが明らかとなった。これらの TRALI に関与した抗体と、経産婦献血者のスクリーニングよりみつかった Nak^a 抗体を比較すると、TRALI 症例に関与した抗体は高力価を示した。このことより TRALI の発症には力価が影響している可能性があり、Nak^a 抗体を保有する血液製剤すべてが TRALI を引起すとは限らないと考えられる。また、TRALI 発症を裏付けする実験として、単球がこれらの抗体と反応して血管透過性を亢進する生理活性物質ロイコトリエン B₄、TNF- α を放出

し、さらに肺血管内皮細胞との共培養系では、その反応が増強することを確認した²⁾。

まとめ

以上のことより HLA、HNA、Nak^a (CD36) 抗体は TRALI を発症させる危険性があることが示唆される。しかし、本邦での抗体陽性例は TRALI 症例の 4 割に過ぎない。原因が不明となっている半数以上の症例においては未知の抗体の関与によるものか、抗体が関与しない非免疫学的機序によるものであるかの解明は今後の課題である。

参考文献

1) S. Hashimoto *et al.*: Relationship of donor HLA antibody strength to the development of transfusion-related acute lung injury. *Transfusion*. 50: 2582-2591, 2010

2) F. Nakajima *et al.*: Role of anti-Nak^a antibody, monocytes and platelets in the development of transfusion-related acute lung injury. *Vox Sanguinis*. 95: 318-323, 2008