

報告

第95回北海道医学大会総会

常任理事・学術部長 櫻井 晃洋

今年度は、旭川医科大学吉田学長を会頭とし、39の分科会が参加して第95回北海道医学大会が開催された。

10月3日（土）の総会では、北海道医師会賞ならびに北海道知事賞贈呈式、各科トピックス、特別講演などがあった。

今回は、各科トピックス、特別講演の講師の諸先生にお願いし、寄稿していただいた。

◆各科トピックス

1. 「輸血副作用の原因解明の現状とその予防法をめぐって」
旭川医科大学
小児科学講座 教授 東 寛
座長 北海道大学大学院医学研究科
小児科学 教授 有賀 正
2. 「覚醒下で行う脳神経外科手術の意義」
札幌医科大学医学部
脳神経外科学講座 教授 三國 信啓
座長 旭川医科大学
脳神経外科学講座 教授 鎌田 恭輔
3. 「生活習慣と健康—人を対象とした研究から—」
北海道大学大学院医学研究科
公衆衛生学 教授 玉腰 暁子
座長 札幌医科大学医学部
公衆衛生学講座 教授 森 満
4. 「高齢者の貧血-その新展開」
勇気会医療法人北央病院
院長 坂牧 純夫
座長 北海道医師会
常任理事 櫻井 晃洋

◆特別講演

「日本医療研究開発機構（AMED）のミッションと課題」

講師 日本医療研究開発機構理事長 末松 誠
座長 第95回北海道医学大会 会頭 吉田 晃敏

輸血副作用の原因解明の現状と その予防法をめぐって

旭川医科大学 小児科学講座

教授 東 寛



東教授

はじめに

「血液製剤による副作用の多くは、生命に危険を及ぼすものではないが、患者と主治医にとっては、解決すべき問題であり続けている。輸血が必要な患者は、重症な場合がおおく、すでにさまざまな医学的処置を受けたり薬を投与されている。従って、些細な副作用であっても、本人にとっては大きな負担になっている。」¹⁾

輸血を介して発症する感染症を除くと、輸血による副作用は、溶血性副作用と非溶血性副作用に大別される。溶血性副作用は、血液型不適合輸血で発生する事が分っているので、患者と同じ血液型のドナーから輸血を行えば、理論的には予防可能である。しかし、それ以外の原因で起こる副作用は、非溶血性輸血副作用と総称され、その原因は、ごく一部を除いて、現在でも不明のままである。非溶血性輸血副作用を症状別に分類すると（表1）のようになる。最も重篤で致死率の高い副作用が、輸血関連急性肺障害（TRALI：Transfusion-related acute lung injury）である。

（表1）非溶血性輸血副作用-----その兆候と症状

・アレルギー反応	: かゆみ, 掻痒感, 発赤, 発疹, 蕁麻疹, 呼吸困難(チアノーゼ, 喘鳴)
・FNHTR (febrile/chill type reaction) (inflammatory reaction)	: 発熱, 寒気, 熱感
・TRALI	
・その他	: 吐き気, 嘔吐, 腹痛, 低血圧, 意識低下, 心悸亢進, 頻脈, 頭重感, 頭痛,

愛知医科大学 輸血部 より

A) TRALIについて

TRALIは、「輸血後6時間以内に発症する非心源性の急激な肺水腫による呼吸困難を呈する重篤な非溶血性副作用」である。従って、胸部X線写真上は、両側肺のすりガラス様陰影を認め、呼吸困難に伴う低酸素血症、血圧低下、発熱等が認められる。繰り返すが、決してvolume overloadによる肺水腫ではないとされている。これらの項目は成人にみられるacute lung injury (ALI)の所見と同一である。組織学的にも、TRALIはALIと同じく、肺毛細血管に顆粒球が集積しているのが観察される。ALIは、肺胞構造の破壊がつよく、急性期を乗り切っても、呼吸機能が完全に回復しない場合が多いとされる。一方、TRALIは、組織破壊がほとんどなく、急性期を凌げば、急速にかつ完全に回復するとされている。これがALIとTRALIとの大きな違いでもある。輸血副作用としてのTRALIは、一端発症すると、重篤でかつ適切な対応がなされなければ、死亡する例もある事から、その原因の究明が盛んに行われてきた。

TRALIの報告は、1966年のE. Phillippsの報告²⁾が最初であるが、症例を集めて、その存在を広く世の中に認知させたのはMA Popovskyである³⁾。

彼は、36例のTRALI症例を解析しその臨床像を明らかにした。また、TRALIを誘発したと考えられる血液製剤のドナーの89%に、顆粒球あるいはリンパ球に対する抗体が検出されたと報告している。この報告を元にして、TRALIの原因検索が精力的に行われた。その結果、血液製剤中に存在しているアロ抗体が、TRALIを引き起こす因子の一つである可能性が示された。一方で、動物モデルを用いたTRALIの発症機序の解明も精力的に行われた。

抗HLA class I抗体や抗顆粒球抗体により誘発されるTRALI

ヒトの主要組織適合抗原であるHLA抗原系は、マウスではH-2抗原系と呼ばれる。Balb/cマウスはH-2dでありBALB/kマウスではH-2kである。この両者に、H-2dに対する単クローン抗体を投与すると、H-2dを発現しているBALB/cにのみ、TRALIが誘発される。この時、あらかじめ顆粒球を除去しておくこと、TRALIを引き起こさない事も示されている⁴⁾。

HLA抗原系とは別に、ヒトのアロ抗原系として顆粒球抗原系 (Human neutrophil antigen system; HNA) が知られている。ラットの肺を摘出して、ヒトのHNA-2a抗原陽性顆粒球とHNA-2a抗体を加えた灌流液で灌流すると、肺水腫を誘発できることも示されている⁵⁾。

これらの結果から、細胞表面のHLA class I抗原やHNA抗原にアロ抗体が結合し、それが刺激となって、血管透過性を亢進する種々のメディエーターが放出されることが、TRALI

の発症につながると考えられている。いずれの実験モデルにおいても、TRALIの発症には顆粒球の存在が必要である。

一方、臨床データからは、HLA class II抗体もTRALIの発症に関与していると結論できた。しかし、class II抗原は通常顆粒球表面には発現していない。それでは、class IIに対する抗体によるTRALIは如何なる機序で発症するのだろうかという疑問が残った。

Class II抗体によるTRALI

Class II抗原は、単球に発現している事から、ラットの灌流肺モデルにおいて、灌流液にヒトHLA class II抗原に対する抗体、抗体の認識するclass II抗原陽性の単球および顆粒球を加えた灌流液で灌流すると肺水腫が誘導されること、3つのどれか一つが欠けると肺水腫は誘導されない事が示された⁶⁾。この場合、class II抗体は単球表面のclass II抗原とのみ結合する。それでは、抗体が結合した単球には、どのような事が起こるのであろうか？

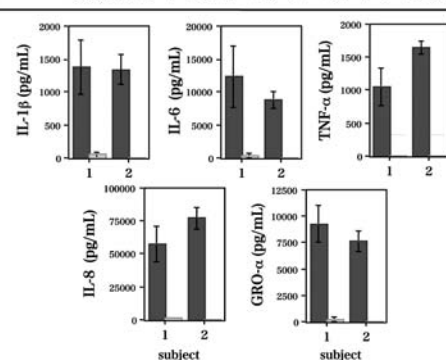
Class II抗体による単球の活性化について

輸血後に重篤な呼吸困難を発症した患者に輸血された原因血(新鮮凍結ヒト血漿; FFP)中に主としてDR13に対するclass II抗体が認められた。この血漿を用い、DR13抗体が末梢血単核球中にある単球/マクロファージに結合する事により如何なる遺伝子の発現増強が起こるかを検討した。その結果、表2に示したサイトカイン、ケモカインのメッセージが増加すること、およびその分泌も誘導される事が確認された⁷⁾ (表2、図1)。これらの結果は、

(表2) 当該血漿により発現増強がみられたmRNA

mRNA		発現増加率 (AB血漿との比較)
サイトカイン	IL-1 β	2.58倍
	IL-6	7.45倍
	TNF- α	4.62倍
ケモカイン	GRO- α (CXCL1)	3.84倍
	IL-8 (CXCL8)	2.35倍
	IP-10 (CXCL10)	8.01倍
	MCP-1 (CCL2)	5.28倍
	MIP-1 α (CCL3)	4.01倍

(図1) 炎症性サイトカイン/ケモカインの産生



class II 抗体の結合で単球が活性化される事、その結果、血管透過性を亢進する作用のあるサイトカイン (TNF- α 等) や好中球 (顆粒球) を集積する作用を持つケモカイン (IL-8等) が産生されうる事を示している、TRALIの病理像の形成をよく説明できる。実際に、末梢血単核球をclass II抗体存在下で培養した上清中に、血管内皮の透過性を亢進する作用のあることが示されている⁸⁾。

抗体結合後の活性化シグナルの経路

しかしながら、抗体が結合するclass II抗原の下流には、細胞内へシグナルを伝達する機構は存在しないと考えられる。そこで、Fc γ Rの関与についても検討した⁷⁾。DR13に対する抗血清により誘導されるサイトカインの分泌は、CD16、CD32に対する抗体でブロックされる事から、単球へDR13抗体が結合した後の活性化シグナルは、Fc γ RであるCD16あるいはCD32を介して伝達される事が示唆された(図2)。すなわち、抗体が抗原と結合したのち、そのFc部分がFc γ Rと結合する事によりシグナルが伝達されると考えられる(図3)。

ところで、Fc γ Rの細胞内には、ITAM (Immunotyrosin activating motif) が存在している事から、Fc γ Rは、ITAM レセプターの仲間であると考えられる。ITAMレセプターはspleen tyrosin kinase (SYK) およびCARD9そしてNF κ Bを介してシグナルを核内に伝達すると同時にNLRP3 inflammasomeを活性化してIL-1 β の分泌を促進する。一方、自然免疫系のPattern recognition receptor (PRR) の一つであるDectin-1、2も細胞質内にITAMを有する

ITAMレセプターである。単球・マクロファージは、Dectin-1あるいはDectin-2 receptorを発現している、これらはそれぞれ、真菌の成分であるGlucanやMannanのpathogen associated molecular pattern (PAMP)を認識し、そのシグナルがITAM-SYK-CARD9-NF κ Bの経路を介して核内に伝達され、種々のサイトカイン・ケモカインの産生が誘導される事が明らかになっている(図4)。

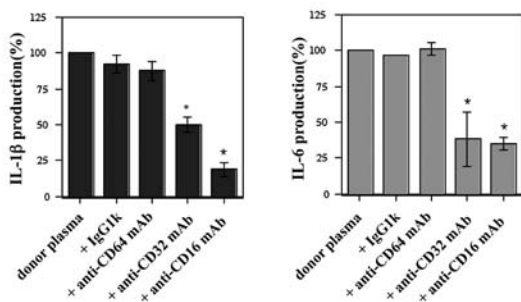
すなわち、class II抗体のclass II抗原への結合につづくFc γ Rを介した単球・マクロファージの活性化も病原体の持つGlucanやMannanのPAMPによるPRR (Dectin1、2等)を介した単球・マクロファージの活性化も、同じシグナル伝達経路が使われている事になる。以上の事から、病原体が存在する事により誘発される反応が、抗体でも誘発されうるという事がわかる。

Peumocystis jirovecci肺炎は、ALIの原因の一つとして知られている。TRALIはそのALIと類似の病態を取るが、その理由は同様の活性化経路が働くからとも考えられる。そして、TRALIで組織破壊が少ない事理由は、病原体そのものが炎症場に存在していないからである、との説明も可能のように思われる。

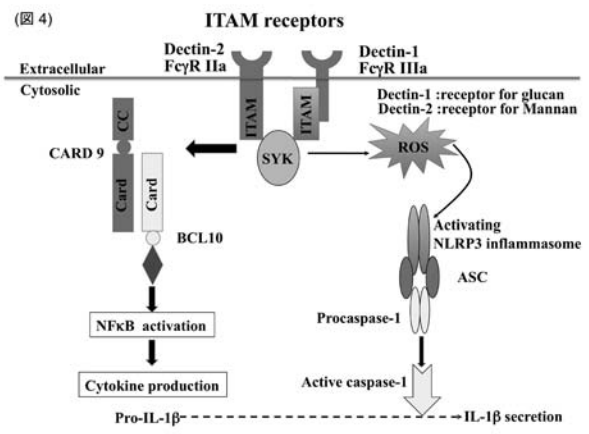
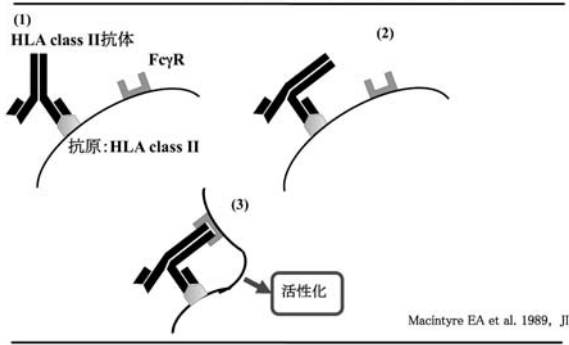
TRALIの予防について

TRALIの原因の一つが製剤中のアロ抗体である事が、臨床および動物モデルからも示された事から、アメリカやヨーロッパでは、FFPにより誘発されるTRALIを予防するための対策が、我が国に先行して取られた。それは、男性由来のFFPのみを使用す

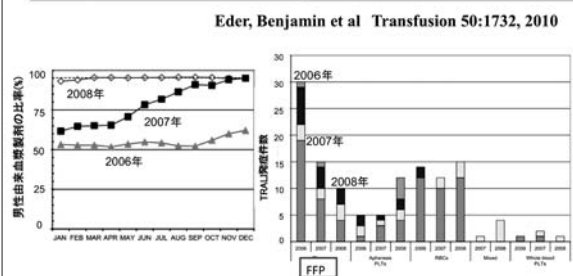
(図2) 炎症性サイトカイン産生に対するFc γ R中和抗体の影響



(図3) HLA class II抗体による単球の活性化



(図5) ARCにおけるmale-predominant plasmaのTRALI発症に対する効果について



る事であった。理論的に、アロ抗体は妊娠を契機に妊婦の体内で産生される事から、男性由来FFPを使用する事で、アロ抗体陽性のFFPを排除する事が可能である。American Red Cross(ARC)のデータを図5に示したが、医療機関に供給される男性由来FFPの占める割合が100%に近づくにつれてTRALIの発症件数が減少している事が分る。我が国のFFPも現在はほぼ100% male only plasmaとなっている。

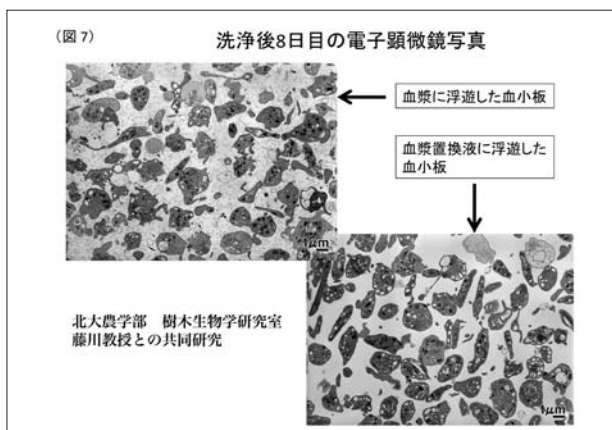
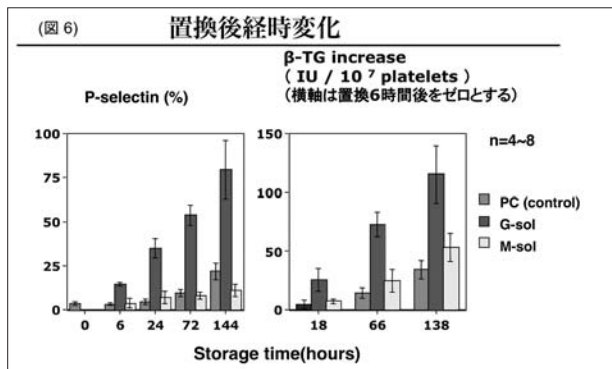
しかしながら、抗体以外が原因と考えられるTRALIの発症は、この様な対策を講じても予防できない。また、血小板製剤に関しては、男性由来のみとする事は現実的ではない。つまり、女性ドナーを排除すると供給不足に陥る。こうした背景から、将来的には、血小板製剤に関しては、抗体陽性製剤(あるいは抗体陽性ドナー)のスクリーニングシステムを確立する事になると思われる。あるいは、以下に述べる、血漿成分を除去した洗浄血小板を使用する事がもう一つの選択肢となるかも知れない。

B) 洗浄血小板の話

輸血用血液製剤は赤血球、血小板、新鮮凍結ヒト血漿 (FFP)であるが、輸血バッグ数で見た副作用の発生頻度が最も高いのは血小板製剤である。日本赤十字社からの報告ではおおよそ1,000バッグに1回の頻度で発生している(日本赤十字社のホームページ参照)。日赤に報告されない軽微な副作用まで含めると、この数十倍になるという報告もある⁹⁾。血小板製剤は室温で保存するため、バッグ内に残存する白血球から、さまざまな生理活性物質が分泌される。過去に、血小板製剤による副作用の原因は、

製剤保存中に、製剤の中に含まれる白血球から分泌されるさまざまな生理活性物質であろうと考えられていた。そこで、2004年から、保存前白血球除去が開始された。しかし、期待したほど明確な予防効果は得られなかった。この事から、副作用の原因は、もともと製剤中に存在している物質(物質X)であると考えなければならない。この物質Xを血小板製剤から除去する簡便な方法として、血漿成分を、適当な置換液(電解質液)と入れ替える(つまり洗浄する)事が考えられた。実際、血漿成分を生理食塩水やG-solと呼ばれていた電解質液で置換すると、副作用が軽減する事が、経験的に知られていた。しかし、十分なevidenceがなく、学会で広く認められたものではなかった。その理由の一つは、臨床現場で、洗浄操作をする事が容易ではないこと、置換液に浮遊した場合には、短時間の間での血小板の機能低下が懸念されるので、ごく限られた施設でしか、対応できないことなどが挙げられる。この事の解決には、まず、血漿と同等あるいはそれ以上の血小板保存能をもつ、置換液の開発が必要であった。近年、そうした血漿置換液(M-sol)が開発された。その主成分は酢酸リンゲルであり、それに重炭酸を十分量加え、主たるバッファーを重炭酸バッファーとしたものである^{10, 11)}。M-solを用いて、調製した血小板製剤(洗浄血小板)は、残存血漿量がわずか5%以下(絶対量として血漿20ml以下)の状態、調製後数日間は血小板の機能や形態を損なう事なく保存可能である。P-selectinは血小板の活性化の指標の一つであるが、洗浄後においても、G-solに浮遊した血小板では、時間の経過とともにP-selectinの陽性率が急増するが、M-solに浮遊した血小板では、血漿に浮遊したものと同等にP-selectinの陽性率は、低値を保っていることが分る(図6)。また洗浄後6日後の形態も血漿に浮遊したものと同等であることが分る(図7)。

この事により、血液センターで洗浄し調製した血小板製剤(洗浄血小板)を、医療機関に供給するというシステムが、実現可能となった。



Patient	Disease	Adverse reaction	Plasma-PC		Reaction	Reaction
			Pre medication	Prophylactic effect		
1	MDS	Hives, palpitation	Hydrocortisone+ Anti-histaminics	None	12/12	0/10
2	AML(M2)	Hives	Hydrocortisone+ Anti-histaminics	None	2/2	0/38
3	AML(M4)	Hives	Hydrocortisone+ Anti-histaminics	None	4/4	0/4
4	AML	Hives	Hydrocortisone	None	56/193	0/9
5	AML(M2), Chron disease	Hives, palpitation, respiratory distress	Hydrocortisone	None	4/12	0/14
6*	MDS, splenomegaly exacerbation of hepatitis by steroid	Hives	None	-	11/19	0/10
7	Myelofibrosis	Hives, chills, paleness, hypotension, respiratory distress	None	-	5/7	0/18
8	Aplastic anemia	Wheals, hypotension, respiratory distress, SaO ₂ 83%	Hydrocortisone	None	3/7	0/3
9	AML	Generalized rash, edema, hypotension (anaphylactic shock)	Methylprednisone+ glycyrrhizin	None	9/9	1/15**
10	AML(M2)	Wheals, hypotension, laryngoedema, nausea, respiratory distress, SaO ₂ 90%	Methylprednisone	None	7/7	0/3
11**	MDS	Hives	Hydrocortisone	None	2/2	0/25
12 ^f	AML	Hives, respiratory distress, SaO ₂ 90%	Hydrocortisone	None	2/2	0/7***

こうした血漿除去による副作用予防効果も検討され、血小板輸血をするたびに、重篤な副作用を発生していた患者に、血漿を除去した（おおよそ95%除去）洗浄血小板を輸血することにより、副作用の発生をほぼ完全に回避する事ができる、というevidenceが得られた（図8）。また、輸血後の血小板数の上昇も、既存の血小板製剤と比較して遜色ないことも確認された¹²⁾。

現在、洗浄血小板の病院内での調製は、血小板洗浄術として、保険収載されるに至っている。M-solは、既に市販されている5種類の医薬品を混合することで、調製されるが、より簡便に、M-solと同等の血小板保存能を有する置換液の調製が可能であることも分っている。しかし、院内での洗浄血小板の調製は、設備と人手のある限られた病院でしか行う事ができない。近い将来、洗浄血小板製剤が、血液センターから、血液製剤として供給され、血小板製剤の輸血による副作用で苦しむ患者が、その苦しみと不安から解放される事が期待されている。

C) 患者側の要因について

輸血副作用の多くは、蕁麻疹である。その発症メカニズムとして、輸血を受けた患者が、未知のアロ抗原に感作されて特異的IgE抗体が陽性になると、次回の輸血で、そのアロ抗原陽性の血液が輸血されると蕁麻疹を発生する、という機序が想定されてきた。この事を証明するために、抗原特異的IgEが含まれていると考えられる患者血清を用いて培養肥満細胞を感作し、アレルゲンとして副作用を発生した原因と考えられるドナーの血清を作用させ、培養肥満細胞にヒスタミンの脱顆粒が誘導されるか否かを検討したが、明確な陽性所見を得る事はできなかった。そこで、培養肥満細胞に、副作用を発生した患者血清を直接作用させ、培養肥満細胞が活性化されるか否かを検討してみた。即ち、肥満細胞にCa²⁺濃度依存性に蛍光を発する試薬を作用させておくと、刺激によりそれが活性化した際に、細胞内にCa²⁺がinfluxしてくるので、細胞自体の蛍光強度が増加することにより、活性化した細胞を検出する系を立ち上げた。この系を用いて、血清を作用させた後に陽

性となった肥満細胞の割合をCa²⁺ influx inducing activity (CaIA)として表すこととした。その結果、輸血による副作用を発生した患者血清で、輸血する直近の血清の半数近くが、CaIA陽性、つまり、培養肥満細胞を直接活性化することが判明した（図9）¹³⁾。

興味ある事に、反応系にPertussis toxinを加える事で、この活性化がほぼ完全に消失した事から、活性化はFcεRを介したものではなく、G蛋白結合レセプターを介した反応であると推定された。さらに、実際にCaIA活性の高い血清を肥満細胞に作用させると、ヒスタミンの遊離が起こることも確認できた。この事から、副作用を発生する（あるいは発症しやすい状態にある）患者の血中には、培養肥満細胞を活性化する（言い換えるとprimingする）物質が存在していて、そのため、輸血を介して、第二の刺激が入ると、あらかじめprimingされていた肥満細胞が容易にヒスタミンの脱顆粒を引き起こすものと推定される。こういった物質が、肥満細胞だけではなく、好中球の活性化（あるいはpriming）にも影響を与えている可能性もある。今後の研究の進展で、それが特定できれば、副作用予防のための新たな戦略をたてる事が可能となるかも知れない。

以上、輸血副作用の原因解明の現状とその予防法をめぐる最近のトピックスを紹介した。冒頭にも記載したが、たとえ些細な副作用であっても、患者にとって大きな負担となるという認識のもと、輸血による副作用のさらなる軽減を目指した挑戦がこれからも続いてゆく事と思われる。

謝辞：寄稿した内容の多くは、北海道赤十字血液センター（現北海道ブロック血液センター）の研究部、製剤部、献血部等のスタッフの協力により得られたものであり、誌面をかりてスタッフ一同に改めて感謝いたします。

文 献

1. Tobian AAR, Savage WJ, Tisch DJ, et al. Prevention of allergic transfusion reaction to platelets and red blood cells through plasma reduction. *Transfusion* 51:1676-1683, 2011
2. Phillips E, Fleischner FG. Pulmonary edema in the course of a blood transfusion without overloading the circulation. *Chest* 1996; 50:619-623.
3. Popovsky MA, More SB. Diagnostic and pathogenic considerations in transfusion-related acute lung injury. *Transfusion* 1985;25:573-577
4. Loony MR, Su X, Van Ziffle JA et al. Neutrophils and their Fc gamma receptors are essential in a mouse model of

