X線照射によるリンパ球の不活化について —輸血後GVHDの発症を防止するために—

田中 成憲 杉本 昭子 福森 泰雄
大軒 子郎 山口 英夫

大阪府赤十字血液センター

(平成2年5月7日受付)

INACTIVATION OF LYMPHOCYTES BY IRRADIATING BLOOD PRODUCTS WITH X-RAY —To Prevent Post-Transfusion GVHD—

Shigenori Tanaka, Akiko Sugimoto, Yasuo Fukumori, Shiro Ohnoki and Hideo Yamaguchi
Osaka Red Cross Blood Center

Irradiation of blood products can minimize the induction of graft-versus-host disease (GVHD) in recipients by eliminating the mitotic capacity from lymphocytes. We investigated the mitotic activity of lymphocytes with the aid of ^3H -thymidine uptake after irradiation with various doses of X-ray in the range of 0 to 50 Gy. This study showed that the mitotic activity of lymphocytes assessed by Mixed Lymphocyte Culture (MLC response) was completely inhibited by irradiation with 5 Gy to each of blood products derived from 400 ml of whole blood, including whole blood (WB), concentrated red cells (CRC) and platelet concentrates (PC). Irradiation of these blood products with 15 Gy resulted in a 68-85% reduction in mitogen-stimulated ^3H -thymidine uptake (mitogen response), and irradiation with 50 Gy decreased the mitogen response by 96-99%. No differences were found in both morphology and viability between lymphocytes derived from 50 Gy-irradiated and unirradiated CRC.

Since MLC response of lymphocytes seems to reflect closely the capability of lymphocytes to induce GVHD in patients, the risk of GVHD following transfusion of blood products would be eliminated by irradiation with X-ray of 15 Gy, which is three times minimal dose sufficient to abolish MLC response of lymphocytes.

緒 言

近年、輸血後に発症する移植片対宿主病(Graft Versus Host Disease, 以下GVHD)は、重篤な輸血副作用として問題視され、早急に予防対策が必要とされている。GVHDとは、組織適合性抗原の異なる宿主(Host)に移入された移植片(Graft)中のリンパ球が宿主内に生着して、宿主の組織を非自己と認識し、その組織を攻撃、破壊する症状と定義されている。従来より、GVHDは骨髄移植後あるいは免疫不全および免疫抑制患者の輸血後に発症すると報告されてきた^{1)~3)}。しかし、最近の報告によると、免疫機能の正常な患者においても

輸血後にGVHDの発症することが明らかになった^{3)~8)}。輸血後GVHDは、輸血後1~2週間に発熱、紅斑ではじまり、続いて肝障害、下痢、下血などの症状を呈し、90%以上の症例に汎血球減少、骨髓無形成、敗血症を認め、一旦発症すると治療法も無く、致死的な経過(死亡率90%以上)をたどると報告されている³⁾⁴⁾。

輸血後GVHDを防止するためには、予め血液製剤中に混入しているリンパ球を除去するか、またはリンパ球を不活化させる必要がある。後者のリンパ球の不活化については、輸血用血液製剤への放射線照射が有効であるとされている⁸⁾。放射

線照射によるリンパ球の不活化については、既に今までにいくつかの報告があるが^{9)~11)}、いずれも線源として¹³⁷Csまたは⁶⁰Coを用いたγ線によるものであり、X線照射については未だ不明な点が多い。リンパ球の不活化を行なう際の最適照射条件は、放射線の種類、バッグの材質および試料の種類などの諸要因により異なる可能性があり、そのため前述の報告での照射条件をそのまま今回の血液製剤へのX線照射に適用することはできない。放射線量については一般に15~50Gyが適当であるとされているが、至適線量については15Gyで十分であるのか、あるいは50Gyが必要であるのかについては不明であり、また前述の諸要因により変動する可能性もある。このような点から、血液製剤にX線を照射した場合のリンパ球不活化効果における最適照射条件について検討することは不可欠であると思われる。そこで、今回われわれは全血（以下WB）、濃厚赤血球（以下CRC）および濃厚血小板（以下PC）に種々の照射線量でX線照射を行ない、リンパ球不活化を目的とした最適照射条件について検討を加えた。また同時に、走査型電子顕微鏡によりリンパ球の形態変化やTrypan blue dye exclusion testによりリンパ球の生存率についても検討した。

材料および方法

1. X線照射に用いた血液製剤

今回の実験には血液製剤としてWB(400ml)、CRC(400ml 由来)およびPC(400ml 由来)の三製剤を用いた。CRCおよびPCを採血当日に常法によりWBより調製し、WBおよびCRCを4℃にて静置保存後、PCを22℃にて往復水平振盪器を用いて保存した後、翌日X線照射を行ない、実験に供した。

2. X線照射

X線照射は、輸血用血液製剤に対してX線照射を行なうための専用照射装置として開発された日立X線照射装置MBR-1520R-B(株式会社日立メディコ)を使用した。本装置内の試料台に前述の血液バッグを載せ、アルミニウム・フィルター(1mm)を用い、X線管電圧150KV、X線管焦点からの距離550mmにて血液バッグの下に線量計の

プローブを置き、血液バッグ下部での累積吸収線量が0~50Gyまでの所定の線量になるまで段階的にX線を照射した。

また、塩化ビニール製(以下PVC)バッグおよびPVCシートによるX線減弱率を算出するために、空バッグ下部とPVCシート下部および試料なしでの線量率を測定し、以下の計算式によりX線減弱率を算出した。

$$\text{X線減弱率(\%)} = (\text{試料なしでの線量率} - \text{試料下部での線量率}) / \text{試料なしでの線量率} \times 100$$

3. リンパ球の分離

X線照射前後の各段階において、血液バッグより10~15mlの血液を抜き取り、Ficoll-Paqueによる比重遠沈法によりリンパ球を分離し、リン酸加生理食塩液(pH 7.4)にて2回洗浄後、20%ヒト血清加RPMI-1640(ペニシリン100u/ml、ストレプトマイシン100u/ml含有、pH 7.2)にて 5×10^5 個/mlおよび 1×10^6 個/mlの2種類のリンパ球浮遊液を調製した。また、以下に示すリンパ球混合培養で用いる刺激細胞として、他のdonorの血液から同様の方法によりリンパ球を分離し、リンパ球浮遊液(1×10^6 個/ml)を調製した後、抗原性を残存させ、かつリンパ球活性を不活化するため、40GyのX線を照射した。

4. リンパ球活性(分裂、増殖能)の測定

リンパ球の分裂、増殖能の指標として、同種抗原に対する反応性(リンパ球混合培養、以下MLC)およびmitogenに対する反応性を測定した。mitogenとしてはPhyto hemagglutinin(以下PHA)およびConcanavalin-A(以下Con-A)を用いた。

MLCでは、まず96穴マイクロプレートの各wellに反応細胞として前述の各照射段階での採取血液より調製した 1×10^6 個/mlのリンパ球浮遊液を100μlずつ分注し、次に40GyのX線照射により予め不活化した刺激細胞(1×10^6 個/ml)を各wellに100μlずつ添加した後、プレートミキサーにて十分に混和した。なお、Blankとして刺激細胞の代わりに40GyのX線照射により不活化した自己リンパ球浮遊液(1×10^6 個/ml)を各wellに100μlずつ添加し、十分に混和した。その

表1 X線照射条件の検討

血液製剤*		バッグ下部 線量率	15Gy 照射に 要する時間	空バッグのみに よるX線減弱率** (ラベル貼付)	PVCシート1枚に よるX線減弱率** (ラベルなし)	PVCシート1枚に よるX線減弱率** (ラベル貼付)
200ml	WB	76 R/min	20分	11.5%	6.6%	6.6%
	CRC	89	17			
	PC	127	12			
400ml	WB	59	25	11.5	6.0	6.6
	CRC	86	17			
	PC	128	12			

n=5-12, *いずれも200ml用バッグはカワシミ製を, 400ml用バッグはテルモ製を用いた.

**X線減弱率=(試料なしでの線量率-試料下部での線量率)/試料なしでの線量率×100(%)

後, 炭酸ガス培養器(5%CO₂存在下, 37℃)内にて6日間培養した後, ³H-thymidineを終濃度37KBq/mlになるように添加し, 十分に混和してから更に24時間培養を続けた. その後, オートセルハーベスターにて各wellのリンパ球をフィルター上に集め, 液体シンチレーションカウンターにて放射活性を測定した.

mitogen 反応においては, 前述の各照射段階での採取血液より調製したリンパ球浮遊液(5×10⁵個/ml)をマイクロプレートの各wellに200μlずつ分注した後, mitogenとしてPHAを終濃度10μg/mlに, Con-Aを終濃度50μg/mlになるように添加した後, 炭酸ガス培養器内で2日間培養した. その後, ³H-thymidineを終濃度37KBq/mlになるように添加し, 更に24時間培養した後, オートセルハーベスターにてリンパ球をフィルター上に回収し, 液体シンチレーションカウンターにて放射活性を測定した.

MLCおよびmitogen反応の両法とも quadruplicateで行ない, X線未照射の試料での放射活性を100%とし, 各照射段階での試料の放射活性より相対値(%)を算出し, これを残存リンパ球活性(%)とした.

5. 走査型電子顕微鏡による形態観察

前日採血のCRC(400ml由来)よりX線未照射の試料として20mlの血液を採取した後, この血液バッグに50GyのX線を照射し, 照射後の試料として20mlの血液を採取した. これらの照射前後の血液からFicoll-Paqueによる比重遠沈法によりリンパ球を分離し, 2.5%グルタルアルデヒ

ドを用いて前固定(1.5時間)を行なった後, 0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4)にて2回洗浄した. 次に, 2%オスミウムにて後固定(1時間)を行なった後, 常法により脱水, 臨界点乾燥および金蒸着を行ない, 走査型電子顕微鏡(JEOL JEM-1200EX)にてリンパ球の形態観察を行なった.

6. リンパ球生存率の測定

前日採血のCRC(400ml由来)を二等分し, 一方にX線を50Gy照射した後, 両者を4℃にて保存した. その後, X線照射の1日後および5日後にFicoll-Paqueを用いてリンパ球を分離した後, trypan blue dye exclusion test (trypan blue終濃度0.016%)により¹²⁾, リンパ球の生存率を測定した.

結 果

1. 血液製剤へのX線照射

各血液製剤にX線照射を行なった時のバッグ下部での線量率(R/min), 15Gy照射に要する時間(分)および空バッグとPVCシートによるX線減弱率などを, 表1に示す. このようにバッグ下部での線量率については, 血液製剤の種類により相当な差が認められたが, これは主に各血液製剤の厚さが異なるためであると思われる. 15Gy照射に要する時間は, 12~25分であった. また, 空バッグにより全照射線量の約12%が減弱され, PVCシート1枚により約6~7%のX線が減弱されることが明らかになったが, ラベルの影響はほとんど認められなかった.

2. X線照射によるリンパ球の不活化

WBでの結果を図1に示すが, MLCでは5Gy

図1 全血中のリンパ球活性に及ぼすX線照射の影響

照射後に残存リンパ球活性(%)は約2%となり、リンパ球活性はほぼ完全に不活化された。一方、mitogen反応においては残存リンパ球活性(%)は15Gy照射後にPHA系では約32%であり、Con-A系では約23%であったが、50Gy照射後にはPHAおよびCon-A系では各々約1%および約2%となり、両系ともほぼ完全に不活化された。

CRCにおいても図2に示すように、MLCでは5Gy照射後に残存リンパ球活性(%)は約1%となり、ほぼ完全に不活化された。mitogen反応における残存リンパ球活性(%)は15Gy照射後にPHA系では約24%であり、Con-A系では約18%であったが、50Gy照射後にはPHAおよびCon-A系で各々約4%および約3%となり、ほぼ完全に不活化された。

PCにおいても図3に示すように、MLCでの残存リンパ球活性(%)は5Gy照射後に約1%となり、mitogen反応においては15Gy照射後にPHA系で約30%、Con-A系で約15%であったが、50Gy照射後には両系とも約2%となり、ほぼ完全に不活化された。

3. 走査型電子顕微鏡によるリンパ球の形態観察

図2 CRC中のリンパ球活性に及ぼすX線照射の影響

図3 PC中のリンパ球活性に及ぼすX線照射の影響

図4にX線照射前後(X線量は50Gy)のCRCより分離したリンパ球の走査型電顕像を示すが、50GyのX線照射後も特に形態変化は認められなかった。

4. リンパ球の生存率について

未照射CRCと50Gy照射CRCより、照射翌日および5日後に前述の方法にてリンパ球を分離

図4 走査型電子顕微鏡により観察したX線照射前後のリンパ球像
A：未照射，B：50Gy照射後，倍率×2,500倍

表2 リンパ球生存率に及ぼすX線照射の影響

Storage time Dose Sample No.	1 day		5 days	
	0 Gy	50 Gy	0 Gy	50 Gy
(1)	95.7%	95.6%	94.3%	95.0%
(2)	96.2	95.5	94.1	94.6
(3)	95.1	96.2	93.6	93.5
(4)	94.5	95.2	91.3	91.7
av. ±1SD	95.4 ± 0.6	95.6 ± 0.4	93.3 ± 1.2	93.7 ± 1.3

し、Trypan blue dye exclusion testを行なったところ、表2に示すように生存率(%)は未照射群および50Gy照射群の両者ともほぼ同値を示した。この結果から、50Gy以下のX線照射はリンパ球の生存率には影響を及ぼさないことが明らかになった。

考 察

輸血後GVHDについては、1965年Hathawayら¹⁾が免疫不全症の小児に発症したとの報告以来、Holland¹³⁾によると58例の輸血後GVHDが報告されている。従来より、輸血後GVHDは免疫機能の低下した免疫不全あるいは免疫抑制患者において輸血後に発症すると考えられてきた^{1)~3)}。即ち、このような患者では輸血された血液中のリンパ球が拒絶されず、組織適合性抗原の差異を認識

し、患者の体内で分裂、増殖し、患者の組織や臓器を攻撃するために、輸血後GVHDが発症すると考えられてきた。しかし、近年免疫機能の正常な患者にも輸血後GVHDの発症することが報告され^{3)~8)}、注目を集めている。十字、高橋ら³⁾⁷⁾⁸⁾によると日本胸部外科学会・日本輸血学会の調査結果より昭和56年から61年までの6年間に行われた全国137施設での63,257例の開心術の手術後に96例の輸血後GVHDが発症したことが報告されている。即ち、このように免疫機能の正常な症例においても約660例の開心手術症例に1例の割合で輸血後GVHDが発症していることになる。この理由としては、心臓手術症例では出血を止めるために新鮮血や血小板輸血などが好んで用いられること、および人工心肺装置によるリンパ球の障害やステロイド剤の投与によるリンパ球機能の抑制などが考えられている。更に、高橋、十字ら⁸⁾¹⁴⁾が指摘しているように日本人はよく似たHLAを有しており、患者がもつHLA抗原とhomozygousな抗原をもつdonorの血液が輸血された場合に、donorのHLA抗原が患者には非自己と認識されないため、donorのリンパ球は拒絶されずに患者の体内に生着するため、GVHDがおこりやすいこともその理由として考えられるとされている。このように輸血後GVHDは免疫不全や免疫抑制患

者以外に、免疫機能の正常な患者にも発症しうることから予防対策が早急に必要となってきた。予防対策としては、1) 可能な限り新鮮血を使用しないこと、2) 自己血輸血、3) 白血球を除去すること、4) 放射線照射によってリンパ球を不活化すること、などの方法がある。今回の中より、最近注目を集めており、かつ簡便で効率的な手法である放射線照射によるリンパ球の不活化について検討を加えた。放射線照射によるリンパ球の不活化については既にいくつかの報告があるが、各施設により放射線の種類、照射条件（試料がリンパ球浮遊液か、あるいは血液バッグかなど）などが異なることから、それらの差異による影響を考慮する必要がある。Valerius ら⁹⁾は γ 線源である ^{137}Cs を用いてリンパ球浮遊液に γ 線照射を行ない、PHA, Con-A などの mitogen 反応での残存リンパ球活性 (%) は、15Gy 照射後に10%に、50 Gy 照射後には3%に低下したと報告している。また、Button ら¹⁰⁾も ^{137}Cs を用いてリンパ球浮遊液に γ 線照射を行ない、PHA, Con-A などの mitogen 反応での残存リンパ球活性 (%) は、15 Gy 照射後に15%に、50Gy 照射後には3%に低下したと報告している。しかし、これらの報告はいずれも全血より分離したリンパ球浮遊液を試料として用いていること、および γ 線放射性核種である ^{137}Cs を線源として用いているなどの点で血液製剤への X 線照射とは状況を異にしているが、結果としては今回われわれが行なった実験結果とほぼ同様であった。また、Fagiolo ら¹¹⁾は全血 (150 ml) に対して ^{60}Co を線源とする γ 線照射を行ない、リンパ球不活化について報告しているが、その結果は今回のわれわれの実験結果とほぼ同様であった。今回われわれは、本 X 線照射装置が放射線管理区域の設定適用を受けない、即ち設置場所に特別の制約を受けず、また輸血用血液製剤に対する専用 X 線照射装置であることから本 X 線照射装置を用いて、WB, CRC および PC (いずれも 400ml 由来) の三血液製剤に X 線を照射し、リンパ球活性などの測定を行なった。その結果、三製剤とも5Gy の X 線照射を行なうことにより、MLC 反応をほぼ完全に抑制することができた。

一方、三製剤におけるリンパ球の mitogen 反応は15Gy 照射後に PHA 系では24~32%が、Con-A 系では15~23%が残存していたが、50Gy 照射後には両系ともほぼ完全に抑制された。Leitman ら¹⁵⁾も指摘しているように、MLC 反応は、その反応機序から、輸血後 GVHD における生体内でのリンパ球の反応性をより反映していると考えられることから、輸血後 GVHD を防止するためには5 Gy (MLC 反応を完全に防止するために必要な最小線量) の3倍量である15Gy の X 線量で十分であると思われる。実際に、米国では一般に15Gy の放射線量で行われているケースが多いようである。

また、走査型電子顕微鏡によるリンパ球の形態観察および trypan blue dye exclusion test によるリンパ球生存率の測定結果より、50Gy 照射後もリンパ球は形態変化をおこさず、また死滅していないことが認められた。即ち、50Gy 以下の X 線照射によりリンパ球はその照射線量に相反して分裂、増殖能を消失するが、形態変化をおこさず、また死滅していないことが明らかになった。このことから、X 線照射後もリンパ球の破壊による各種プロテアーゼなどの不必要な物質の細胞外への流出はおこらず、血液製剤の品質をより良く保つことができると言えるだろう。

更に、血液中に存在する赤血球、血小板および顆粒球に対する X 線照射の影響に関しては、今までにいくつかの報告がある。Button ら¹⁰⁾によれば WB あるいは CRC における血漿ヘモグロビン濃度、ATP, 2,3-DPG および pH などについて検討したところ、50, 100あるいは200Gy の放射線照射後も有意な影響は見られなかったと報告されている。また、当施設の福森ら¹⁶⁾もわれわれが今回用いたのと同型の X 線照射装置にて WB あるいは CRC に0~50Gy の X 線照射を行なった後、溶血度、ATP, 2,3-DPG および膜抵抗性について検討した結果、50Gy 以下の X 線照射前後ではほとんど品質に差がないこと、および1週間までは保存しても血液製剤としては十分に使用できるとの結論を得ている。血小板については、われわれは¹⁷⁾、PC に0~50Gy の X 線照射を行なった後、5日間

PCを22℃にて振盪保存し、0、3および5日後にpH、血小板濃度、凝集能、変形能、低浸等圧ショック回復率および血漿LDH量の測定を行なったが、50Gy以下のX線照射では特に影響は認められなかった。更に、われわれは¹⁷⁾、PCに100Gy以下のX線照射を行なった後、血小板膜タンパクおよび血漿を調製し、5~20%および10~20%グラディエントゲルを用いたポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)を行なったが、電気泳動パターンに変化は認められず、また血漿中の過酸化脂質量についても50Gy以下のX線照射前後で差異を認めなかった。また、Buttonら¹⁰⁾も50Gyの放射線照射後も血小板の生体内寿命は不変であり、輸血後の血小板増加の点でも照射血小板は十分有効であったと報告している。顆粒球については50~100Gyの照射後も、食食能、殺菌能および活性酸素産生能などの顆粒球機能に特に変化しなかったと報告されている⁹⁾。このようにリンパ球以外の血液細胞および血漿は、50Gy以下のX線照射により影響を受けないと考えられることから、前述のようにリンパ球を不活化するために15GyのX線照射を行なうことについては特に問題はないものと思われる。しかし、*in vivo*で実際に輸血後GVHDを防止するために、15Gyの照射量が適切であるかどうかについて確認するとともに、今までに報告された放射線照射血液製剤に関する臨床データを収集し、解析することが今後の課題であると思われる。

結 語

(1) WB、CRCおよびPC(いずれも400m/由来)に5GyのX線照射を行なうことにより、MLC反応をほぼ完全に抑制することができた。

(2) 上記三製剤におけるmitogen反応では15Gy照射後にPHA系では21~32%、Con-A系では15~23%のリンパ球活性が残存していた。しかし、50Gy照射後にはmitogen反応は、両系ともほぼ0%となった。

(3) 50Gy以下のX線照射は、リンパ球の形態および生存率に影響を及ぼさなかった。

(4) PVCシート1枚により照射X線量の約6~7%が、PVC血液バッグ1個(空バッグ)によ

りその約12%が減弱された。

(5) 本実験結果およびMLC反応が輸血後GVHDにおける生体内でのリンパ球の反応性をより反映していると考えられることから、血液製剤に15GyのX線照射を行なうことにより輸血後GVHDの発症を防止することができるとと思われる。しかし、最終的に判断するには臨床的検討および過去の臨床データの収集、解析が必要であり、これらが今後の課題である。

文 献

- 1) Hathaway, W.E., Githens, J.H., Blackburn, W. R., Fulginiti, V. and Kempe, C.H.: Aplastic anemia, histiocytosis and erythrodermia in immunologically deficient children. *N. Engl. J. Med.*, 273: 953-958, 1965.
- 2) 柴田洋一: 免疫不全におけるGVHD. *医学のあゆみ*, 143: 615-616, 1987.
- 3) 十字猛夫: 輸血とGVHD. *医学のあゆみ*, 143: 613-614, 1987.
- 4) 井野隆史: 輸血によるGVHD反応の実態、とくに手術時輸血によるGVHD様症候群. *外科*, 49: 875-883, 1987.
- 5) Sakakibara, T. and Juji, T.: Post-transfusion graft-versus-host disease after open heart surgery. *Lancet*, 2: 1099, 1986.
- 6) 松下 央: 輸血後GVHDにおけるリンパ球の性染色体分析. *医学のあゆみ*, 143: 625-626, 1987.
- 7) 高橋孝喜, 十字猛夫: 輸血によるGVHD. *臨床医*, 14: 210-212, 1988.
- 8) 高橋孝喜, 十字猛夫: 血液製剤に対する放射線照射について. *Immunohaematology*, 10: 382-388, 1988.
- 9) Valerius, N.H., Johansen, K.S., Nielsen, O.S., Platz, P., Rosenkvist, J. and Sorensen, H.: Effect of *in vitro* X-irradiation on lymphocyte and granulocyte function. *Scand. J. Haematol.*, 27: 9-18, 1981.
- 10) Button, L.N., Dewolf, W.C., Newburger, P.E., Jacobson, M.S. and Kevy, S.V.: The effects of irradiation on blood components. *Transfusion*, 21: 419-426, 1981.
- 11) Fagiolo, E., Pozzetto, A., Cellini, N. and Valentini, V.: Determination of the radiation dose on blood components to prevent posttransfusional graft-vs-host reaction. *Haematologica*, 68: 573-580, 1983.
- 12) Kruse, P.F. Jr. and Patterson, M.K. Jr., et al.: *Tissue Culture: Methods and Applications*. Academic Press, New York, 1973.

- 13) Holland, P.V.: Transfusion—Associated Graft-Versus-host Disease Prevention Using Irradiated Blood Products. Current Concepts in Transfusion Therapy, Garratty, G., ed., Arlington, V.A., American Association of Blood Bank, p. 295—315, 1985.
 - 14) 高橋孝喜, 十字猛夫, 田所憲治: 輸血後 GVHD について. モダンメディア, 34: 469—476, 1988.
 - 15) Leitman, S.F. and Holland, P.V.: Irradiation of blood products, indications and guidelines, Transfusion, 25: 293—303, 1985.
 - 16) 福森泰雄, 田中成憲, 杉本昭子, 大軒子郎, 山口英夫: X 線照射が赤血球製剤に及ぼす影響について. 第13回日本血液事業学会総会抄録集, p. 89 (No. 105), 1989.
 - 17) 田中成憲, 杉本昭子, 福森泰雄, 大軒子郎, 山口英夫: 血小板製剤に及ぼす X 線照射の影響. 日血会誌, 53: 299, 1990.
-