同種抗体産生予防における白血球除去フィルターの効果について

安田 広康 大戸 斉 遠山ゆり子
阿部 力哉¹⁾ 菊田 敦²⁾ 丸山 幸夫³⁾
大河原千恵⁴⁾ 神林 裕行 松田 信⁵⁾

¹⁾福島県立医科大学附属病院輸血部, ²⁾同 小児科, ³⁾同 第1内科

⁴⁾太田西の内病院輸血管理室, ⁵⁾同 血液疾患センター

(平成3年2月12日受付)

EFFECTIVE PROPHYLAXIS AGAINST THE DEVELOPMENT OF ALLOANTIBODIES WITH LEUKOCYTE-DEPLETED BLOOD COMPONENTS BY FILTRATION

Hiroyasu Yasuda, Hitoshi Ohto, Yuriko Tohyama, Rikiya Abe¹⁾, Atushi Kikuta²⁾,
Maruyama Yukio³⁾, Chie Ohkawara⁴⁾, Hiroyuki Kanbayashi and Shin Matsuda⁵⁾
Blood Transfusion Service¹⁾, Department of Pediatrics²⁾, First Department of Internal Medicine³⁾,
Fukushima Medical College
Blood Transfusion Service⁴⁾, Center For Hematopoietic Diseases⁵⁾, Ohta-Nishinouchi Hospital

In a retrospective study we investigated the development and the course of alloimmunization after leukocyte-depleted blood component transfusion using leukocyte filters in 89 patients. These 89 patients who had negative lymphocytotoxic antibodies screening on admission were classified into four groups. In the 1st group (I) without transfusion history, who received leukocyte-depleted blood components, three (12.5%) of 24 patients developed lymphocytotoxic antibodies, compared with twelve (46.2%) of 26 patients in the 2nd group (II) receiving one or more units of blood components with leukocytes ($p<0.01$). Further, the 3rd (III) and the 4th group (IV) with previous transfusions showed a significantly higher incidence of antibodies of 44.4% and 42.8%, respectively, despite continuation of leukocyte-depleted transfusion, compared to that of the group (I).

We observed a marked decrease in alloimmunization rate in patients who were transfused with leukocyte-depleted blood components. These results indicate that we can expect the effective prophylaxis against alloimmunization by using leukocyte-poor blood components with filtration in patients without previous transfusion and pregnancies.

緒 言

輸血は、再生不良性貧血や白血病などの血液疾患において、貧血及び出血傾向の改善のために欠くことのできない補充療法のひとつである。しかし、ランダムドナー由来の血液製剤の使用によりしばしば非溶血性発熱反応や血小板輸血不応状態などを起こし、結果として輸血が治療をより困難にする場合もある。これらの副作用には、抗 HLA 抗体や抗顆粒球抗体が主に関与し¹⁾²⁾、製剤中に混入する白血球分画が輸注されることにより同種免疫が誘導された結果、これらの抗体が産生される

ものと考えられている^{3)~5)}。

今回私達は、フィルターを用い免疫源となる同種白血球を血液製剤から除去することにより、抗 HLA 抗体産生がどの程度抑制されるかを retrospective に検討したので報告する。

対 象

1987年6月から1990年5月までの3年間に当院および関連病院に入院し、当輸血部に輸血検査依頼のあった血液疾患患者89例を対象とした。内訳は、急性非リンパ性白血病 (ANLL) 39例、急性リンパ性白血病 (ALL) 15例、再生不良性貧血

(AA) 9 例, 慢性骨髄性白血病および急性転化 (CML & CML-BC) 8 例, 骨髓異形成症候群 (MDS) 4 例, 悪性リンパ腫 (ML) 3 例, 慢性リンパ性白血病 (CLL) 1 例, その他10例であった。

なお, 輸血歴及び妊娠歴が不明なもの, またはスクリーニング時にすでに抗 HLA 抗体を保有していた症例は対象から除外した。

方 法

1. 血液製剤からの白血球除去

1) 白血球除去赤血球製剤: フィルター素材に超微細ポリエステル不織布を用いた SEPACELL R-500A (旭メディカル社) 及び cotton wool を用いた Imugard IG-400Y (テルモ社) によりベッドサイドにて調製した。

2) 白血球除去血小板製剤: Imugard IG-400Y (テルモ社) によりベッドサイドにて調製した。

2. 抗 HLA 抗体の検出, 判定法

18人のパネルリンパ球を target cell として, リンパ球細胞毒試験 (LCT) により検出した。LCT は NIH の標準法に準じて行い, score 4以上 (死細胞21%以上) を陽性とした。なお, パネルリンパ球には HLA-A, B, C 各 locus において, 抗原頻度の高いものから順に同一抗原が2つ以上重なるように工夫したものを用意した (表1)。

結 果

対象を初診時における輸血歴および白血球除去製剤の使用の有無から I ~ IV群に分類し比較検討した。

I 群: 輸血歴がなく白血球除去製剤のみ使用した群

II 群: 輸血歴はないが1単位以上の白血球を除去しない製剤を使用した群

III 群: 輸血歴はあるが白血球除去製剤のみ使用

表1 パネルリンパ球

Cell No.	HLA				
	A locus		B locus		C locus
FT 43		A 24	Bw55	Bw59	Cw1
FT188		A 24	Bw54	Bw60	Cw1 Cw10
FT147	A 2	A 24	Bw48	Bw60	Cw9
FT 18	A 2	A 24	B 39	Bw52	Cw7
FT 1	A 2		B 35	B 51	Cw7
FT129	A 2		B 7	Bw61	Cw7 Cw9
FT 80	A 2		B 13	Bw46	Cw10 Cw11
FT 57	A 2	A 11	Bw62		Cw4 Cw10
FT148	A 2	A 11	B 35	Bw54	Cw1 Cw9
FT189	A 2	A 11	Bw46	Bw48	Cw11
FT 35		A 11	Bw52	Bw62	Cw4
FT 79	A 24	A 11	Bw52	Bw67	Cw7
FT113	A 26	A 11	Bw61	Bw62	Cw9
FT 27	A 26	A 24	B 7	B 35	Cw7 Cw9
FT 65	A 26	Aw33	B 44	Bw59	Cw1
FT 15	A 24	Aw33	B 44	Bw55	Cw1
FT 34	A 2	A 31	B 39	B 51	Cw7
FT146	A 2	A 26	B 13	Bw56	Cw7 Cw10

した群

IV群: 輸血歴があり1単位以上の白血球を除去しない製剤を使用した群

各群の抗 HLA 抗体陽性率を表2に示した。輸血歴のない群で, かつ白血球除去製剤のみを使用した I 群の抗体陽性率は24症例中3例 (12.5%) と, 1単位以上の白血球を除去しない製剤を使用した II 群の26症例中12例 (46.2%) に比し, 有意 ($p<0.01$) の低値を認めた。これに対し, 輸血歴のあった III, IV 群ではそれぞれ18症例中8例 (44.4%), 21症例中9例 (42.8%) と白血球除去の有無にかかわらず抗体陽性率に差は認められなかった。また, III群は44.4%と白血球除去製剤のみを使用した I 群に比し, 有意 ($p<0.025$) に高い陽性率を認めた。

表2 対象群および抗体陽性率

分 類	症例数	陽性数	陽性率
I 群 輸血歴 (-) 白血球除去製剤のみを使用	24	3	12.5%
II 群 輸血歴 (-) 1 u 以上の白血球除去しない製剤を使用	26	12	46.2%
III 群 輸血歴 (+) 白血球除去製剤のみを使用	18	8	44.4%
IV 群 輸血歴 (+) 1 u 以上の白血球除去しない製剤を使用	21	9	42.8%

* $P<0.01$ ** $P<0.025$

表3 各群における対象の比較

	I	II	III	IV
性別				
男	12	15	6	11
女	12(8)	11(9)	12(9)	10(7)
年齢				
中央値	52	53	59	52
範囲	3-86	4-87	21-77	23-70
急性非リンパ性白血病	9	12	10	8
急性リンパ性白血病	5	4	1	5
再生不良性白血病	2	1	2	4
慢性骨髄性白血病・急性転化	0	4	3	1
骨髄異形成症候群	2	0	1	1
悪性リンパ腫	1	2	0	0
慢性リンパ性白血病	0	0	1	0
その他	5	3	0	2

() は妊娠歴を有する症例数

表4 輸血製剤使用期間及び輸血総白血球数

	輸血用血液製剤使用期間(月)		輸血総白血球数($\times 10^9$)	
	中央値	範囲	中央値	範囲
I 群	4.4	1.5-10.7	1.1	0.1- 5.0
II 群	6.4	1.7-21.0	5.8	0.9-44.6
III 群	3.0	1.0-10.0	1.2	0.1- 7.0
IV 群	4.0	1.4-22.7	5.1	0.9-24.7

表5 各製剤1単位あたりの平均白血球数($\times 10^9$)

製 剤	白血球数の平均
濃厚赤血球	1.24
洗浄赤血球	0.48
白血球除去赤血球 R-500A	0.012
IG-400Y	0.074
濃厚血小板	0.014
白血球除去血小板 IG-400Y	0.001

対象の各群における男女比、年齢及び妊娠歴のある症例は同程度に存在し、また各種血液疾患もほぼ同率に分散していた(表3)。輸血用血液製剤の使用期間は、II群で6.4カ月と他の群の3.0~4.4カ月に比してやや長かったものの、輸血総白血球数についてはフィルター使用群(IとIII群)、未使用群(IIとIV群)との間に差を認めなかった(表4)。なお、輸血総白血球数は、既報の製剤別の平均白血球数を用いて換算した⁶⁾⁷⁾(表5)。

考 察

同種免疫応答に主要組織適合抗原である HLA が密接に関与していることは周知の事実である。また、輸血が一種の臓器移植と考えられているのも膜抗原の1つとして HLA を有する白血球が多少なりとも成分製剤中に混入しているからである。例えば、濃厚赤血球1単位中には 10^6 個オーダーの白血球(主に顆粒球)が、またランダムドナー由来濃厚血小板10単位中には 10^8 個のオーダーの白血球(主にリンパ球)が残存している⁴⁾⁸⁾。

Claas⁹⁾や Minami⁹⁾らは、血小板製剤の頻回輸血により産生される抗 HLA 抗体産生には、輸血される血小板そのものよりも血小板浮遊液中に混入している白血球、特に Class II 抗原陽性細胞に依存することを、マウスにおける抗 LCT 抗体産生及び混合リンパ球反応(MLR)などの実験から証明した。さらに、一次免疫応答には抗原特異的 helper-T 細胞による同種抗体産生、抗原特異的 T 細胞増殖に伴う細胞障害性の誘導が不可欠であり、これには class II 抗原陽性細胞の存在が有効かつ重要であるという⁹⁾¹⁰⁾。従って、混入する白血球、特に B 細胞や単球が様々な同種免疫応答の引き金と成り、輸血に伴う様々な非溶血性輸血副作用をもたらしているものと考ええる。中でも、同種抗体、特に抗 HLA 抗体は混入して輸血される白血球や血小板と反応し、発熱反応や血小板輸血不応状態などの主な原因の1つであり、これらの細胞を効率よく除去することにより同種免疫は抑制されるものと思われる。Vakkila と Myllylä¹¹⁾は、赤血球製剤や血小板製剤を Imugard IG-500 で処理したる過血液中の細胞分画を各種表面マーカーを用いた Flow-cytometry 法により検討している。それによると、白血球除去赤血球製剤中の白血球の60~70%は顆粒球であり、残りの30~50%は T 細胞であったのに対し、単球及び B 細胞は2%以下であった。また白血球除去血小板製剤中の85~98%は T 細胞であり、B 細胞及び単球はそれぞれ3%以下、0%であったという。

今回、我々は、白血球除去フィルターを用いた血液製剤の使用により、抗体産生能がどの程度抑制されるかを、抗 HLA 抗体陽性率から検討した。

輸血歴がなく白血球除去製剤のみを使用した I 群において 12.5% と、対照である II 群の 46.2% に比し抗体陽性率に有意の低値を認めた。この結果は、Murphy (1986) ら¹²⁾の対照群 15/31 (48%) に対して白血球除去群での 3/19 (16%)、Sniecinski (1986) ら¹³⁾の 10/20 (50%) に対し 3/20 (15%)、Andreu (1988) ら¹⁴⁾も 11/35 (31.4%)、4/34 (11.7%) と、白血球除去にフィルターを用いた諸家らの報告に一致するものであった。このことは、白血球の混入する血液製剤から白血球のみを一定レベルまで除去することにより、HLA 抗原に対する同種免疫誘導を抑制し得ることを意味している。これまでの報告では、 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 以下のレベルまで除去すれば、非溶血性発熱反応や抗 HLA 抗体による血小板輸血不応状態はほぼ認められなくなるという^{13)15)~17)}。

次に、輸血歴のあった III 群で、I 群同様に白血球除去製剤のみを使用したにもかかわらず高い抗体陽性率を認めたことは、過去に輸血や妊娠など同種抗原により感作された症例にはもはや白血球除去製剤の効果は期待できない可能性がある。一方、Sniecinski らは、同種抗原で暴露された群でも白血球除去製剤の使用によりコントロール群と同程度に陽性率が低下し、フィルターによる免疫抑制効果を認めたとしている¹³⁾。これに対し、感作後に引き起こされる二次免疫応答にはもはや混入している class II 抗原陽性細胞の存在は必須ではなく、pure な血小板のみでも十分に同種抗体 (抗 class I 抗体) 産生を誘導するという報告もあり^{3)~5)}、我々の結果もこれを支持する。とはいえ、既に同種抗体が産生されている症例に対しても非溶血性発熱反応を防止する目的から、依然としてフィルター使用の意義は大きいと言える。

以上、同種免疫予防の観点から、今後頻回輸血、特に血小板輸血によりサポートすることが予測される症例においては、輸血開始時から積極的にフィルターを使用することが望まれる。

結 語

1) 輸血歴がなく白血球除去製剤のみを使用した群の抗 HLA 抗体陽性率は他の群に比し、有意に低頻度であることを認めた。

2) 輸血歴のある症例には、白血球除去フィルターの効果は低くなるので、頻回輸血が必要とされる症例への輸血に際しては、同種抗体産生予防の観点から当初より白血球除去製剤の使用が有用である。

文 献

- 1) 大戸 斉, 遠山 博, 鈴木征子: 二種類の血小板輸血による抗 HLA 抗体産生の検討. 埼玉医大誌, 15: 139-143, 1988.
- 2) 神林裕行, 大戸 斉, 刈米重夫, 田中鉄五郎: 血液疾患患者における LCT 法による抗 HLA 抗体の検討. 臨床血液, 30: 815-822, 1989.
- 3) 池田康夫, 半田 誠: 血液製剤からの白血球の除去. Immunohaematology, 11: 145-152, 1989.
- 4) 天木一太: 輸血による同種免疫を予防する白血球除去—日本輸血学会第 90 回関東支部例会より—. Immunohaematology, 12: 150-157, 1990.
- 5) Class, F.H.J., Smeenk, R.J.T., Schmidt, R., et al.: Alloimmunization against the MHC antigens after platelet transfusions is due to contaminating leukocytes in the platelet suspension. Exp. Haematol., 9: 84-89, 1981.
- 6) 高本 滋: 血液製剤の使い使い方. 臨床医, 14: 180-182, 1988.
- 7) 長谷川秀弥, 関口定美: 血液事業, 13: 17-23, 1990.
- 8) Sekiguchi, S. and Takahashi, T.A.: Leukocyte-depleted blood products and their clinical usefulness. In Brozovic, B.E.D.: The role of leukocyte depletion in blood transfusion practice. Proceedings of the International workshop 1988, Blackwell Scientific Publications, Oxford, U.K., 1989.
- 9) Minami, M. and Shreffler, D.C.: Ia-positive stimulator cells are required in primary, but not in secondary mixed leukocyte reactions against H-2k and H-2d differences. J. Immunol., 126: 1774-1779, 1981.
- 10) Frangoulis, B., Besluau, D., Chopin, M., et al.: Immune response to H-2 class I antigens on platelets. I. Immunogenicity of platelet class I antigens. Tissue Antigens, 32: 46-54, 1988.
- 11) Vakkila, J. and Myllylä, G.: Amount and type of leukocytes in 'Leukocyte-free' red cell and platelet concentrates. Vox Sang, 53: 76-82, 1987.
- 12) Murphy, M.F., Metcalfe, P., Thomas, H., et al.: Use of leukocyte-poor blood components and HLA-matched platelet donors to prevent HLA alloimmunization. Br. J. Haematol., 62: 529

- 534, 1986.
 - 13) Sniecinski, I., O'Donnell, M.R., Nowicki, B. and Hill, L.R.: Prevention of refractoriness and HLA-alloimmunization using filtered blood products. *Blood*, 71: 1402—1407, 1988.
 - 14) Andreu, G., Dewailly, J., Leberre, C., et al.: Prevention of HLA immunization with leukocyte-poor packed red cells and plateletes obtained by filtration. *Blood*, 72: 964—969, 1988.
 - 15) Fisher, M., et al.: *Vox Sang*, 49: 331—335, 1985.
 - 16) Snyder, E.L.: Clinical use of white cell-poor blood components. *Transfusion*, 29: 568—571, 1989.
 - 17) Saarinen, U.M., Kenomaki, R., Siimes, M.A. and Myllylla, G.: Effective prophylaxis against platelet refractoriness in multitransfused patients by use of leukocyte-free blood components. *Blood*, 75: 512—517, 1990.
-