保育器内の低出生体重児の赤血球輸血に及ぼす放射線照射と 白血球除去フィルター併用の影響

澤 文博¹⁾²⁾ 岩下 洋一¹⁾ 茂木さおり¹⁾
中島 智子¹⁾ 澤井 清²⁾ 沢田 健²⁾

¹⁾東邦大学医学部附属佐倉病院輸血部

²⁾東邦大学医学部佐倉病院小児科

(平成 10 年 9 月 7 日受付)

(平成 11 年 1 月 5 日受理)

EFFECT OF IRRADIATION AND LEUKOCYTE FILTRATION ON RED CELL TRANSFUSION FOR PREMATURE INFANTS IN AN INCUBATOR

Fumihiro Sawa¹⁾, Yoichi Iwasita¹⁾, Saori Motegi¹⁾, Tomoko Nakajima¹⁾,
Kiyoshi Sawai²⁾ and Ken Sawada²⁾

¹⁾Department of Blood Transfusion, Sakura Hospital, School of Medicine, Toho University

²⁾Department of Pediatrics, Sakura Hospital, School of Medicine, Toho University

We investigated the effect of irradiation and leukocyte filtration on red cells in MAP solution (RC-MAP) for premature infants.

RC-MAPs were stored for 3 or 7 days and pretreated with 15-Gy irradiation and a leukocyte depletion filter, with either the irradiation or filtration performed first. Infusion was performed using an infusion pump for 8 hr at a speed of 2 ml/hr through a 4-ml, 100-cm tube and a 24 G needle passing into an infant incubator warmed to 34°C.

Free hemoglobin concentration in the supernatant of tested RC-MAP stored 7 days and irradiated after filtration was increased to the maximum level of 42.6 mg/dl.

Potassium ion level in the supernatants and ATP and 2,3-DPG concentration in red cells from tested RC-MAP were similar to pretreated values. Maximum potassium ion level was increased to 23.5 mEq/l.

Our results showed that both irradiation and filtration against RC-MAP solutions stored for 3 or 7 days is safe for use with premature infants in warmed incubators. However, further investigation is necessary to clarify the risk of bacterial contamination in such transfusion situations.

Key words : blood irradiation, leukocyte depletion filter, infant incubator, premature infant

はじめに

低出生体重児の輸血は成人と異なり、輸注ポンプを使い、保育器内で細いラインと針を使用して行われる。さらに最近では輸血後の移植片対宿主病予防目的に放射線照射¹⁾や、サイトメガロウイルス感染予防目的に白血球除去フィルター処理²⁾が勧められている。しかし、放射線照射とフィルター

処理を併用して保育器内で輸血操作を行った場合の安全性を調べた報告は無く、今回報告する。

対象と方法

試料は千葉県赤十字血液センターから提供された検査落ちの赤血球 MAP「日赤」2 単位製剤 (RC-MAP) である。3 日と 7 日保存の血液を 5 つに分け、日立メディコ社 MBR-1520 A-2 X 線照射装置

で15 Gy照射(照射), アサヒメディカル社 SEPACELL-RS 200 A 白血球除去フィルター処理(フィルター処理), 照射後フィルター処理, フィルター処理後照射の4種類の前処理を行い, 残りの1つ(照射もフィルター処理もしない)を対照とした。照射に平均7分, フィルター処理に平均10分(使用説明書記載の30 ml/minで処理)要した。その後, 後記の輸血操作を行い開始前, 2時間後, 4時間後, 6時間後, 8時間後に血液を採取し, 赤血球内のadenosine triphosphate (ATP) と2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) の濃度, 上清の遊離ヘモグロビンとカリウム・イオン(K^+)濃度を測定した。

ATPと2,3-DPGの濃度はBöehringer Mannheim社のキット³⁾⁴⁾で, 遊離ヘモグロビン濃度は和光純薬工業株式会社ヘモグロビンテストワコー⁵⁾で, K^+ 濃度は日立自動分析装置7150(電極法)で測定した。

輸血操作は体重1,000 gの低出生体重児を想定し, 当院新生児室で行なわれている方法で行った。すなわち, TERUMO社テルモシリンジ20 mlに前処理後のRC-MAP 20 mlを取り, TOP社トップエクステンションチューブX 2-100(長さ100 cm, 容量4 ml)を接続し, その先にTERUMO社24 G 3/4サーフロー留置針(内径0.47 mm, 長さ19 mm)を付け, TERUMO社テルフュージョンシリンジポンプMODEL STC-525にセットした。ポンプを器内温度34℃, 湿度75%に設定したATOM社INFANT INCUBATOR V-850保育器の上に置き, チューブを器内に引き込み, 2 ml/hrのスピードで注入を行い, 留置針の先端から流出した血液のうち2 mlを検体とした。なお, 保育器内にはチューブが約50 cm入っており, 約1時間保育器内で加温されることになる。

測定値は各検体を3回測定した中央値を採用した。5つの処理群それぞれ5製品について各測定ポイント, ならびに各処理群の輸血操作前と8時間輸血操作後の差(変化量)の平均値と標準偏差を求めた。輸血操作前値と変化量はt検定を行い, 危険率5%以下で対照と差のあるものを有意とした。

Fig. 1 ATP activity in infused red cells stored 3 or 7 days. Control, —◆—; Filtration, —■—; Irradiation, —▲—; Filtration after Irradiation, —×—; Irradiation after Filtration, —*—. No significant difference versus control.

結 果

1. MAP 赤血球内 ATP 濃度 (Fig. 1)

1) 3 日保存血液

輸血操作前値はフィルター処理単独(F)が $3.55 \pm 0.36 \mu\text{mol/gHb}$ ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), 照射単独(R)が 3.70 ± 0.39 , 照射後フィルター処理(RF)が 3.63 ± 0.46 , フィルター処理後照射(FR)が 3.66 ± 0.36 で, いずれも対照の 3.49 ± 0.47 と有意差がなかった。

変化量はFが $0.14 \pm 0.07 \mu\text{mol/gHb/8 h}$ ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), Rが 0.20 ± 0.01 , RFが 0.21 ± 0.05 , FRが 0.10 ± 0.03 で, いずれも対照の 0.05 ± 0.06 と有意差はなかった。

2) 7 日保存血液

輸血操作前値はFが $3.08 \pm 0.32 \mu\text{mol/gHb}$ ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), Rが 3.15 ± 0.27 , RFが 3.18 ± 0.35 , FRが 3.19 ± 0.31 で, いずれも対照の 3.12 ± 0.37 と有意差がなかった。

変化量はFが $0.24 \pm 0.03 \mu\text{mol/gHb/8 h}$ ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), Rが 0.37 ± 0.01 , RFが 0.29 ± 0.06 , FRが 0.24 ± 0.03 で, いずれも対照の 0.37 ± 0.12 と有意差はなかった。

2. MAP 赤血球内 2,3-DPG 濃度 (Fig. 2)

1) 3 日保存血液

輸血操作前値はFが $10.0 \pm 1.8 \mu\text{mol/gHb}$ ($n=5$)

Fig. 2 2,3-DPG activity in infused red cells stored 3 or 7 days. Control, —◆— ; Filtration, —■— ; Irradiation, —▲— ; Filtration after Irradiation, —×— ; Irradiation after Filtration, —*—. Blood stored 3 days : Value on irradiation after filtration is significantly different ($p<0.05$) from the control by the t-test before infusion.

(以下単位と n 数は同じ), R が 9.7 ± 2.2 , RF が 9.7 ± 2.1 , FR が 7.5 ± 1.9 で, FR (フィルター処理後照射したもの) が対照の 10.2 ± 1.9 より有意に低値であった。

変化量は F が $8.6 \pm 1.0 \mu\text{mol/gHb}/8 \text{ h}$ ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), R が 8.5 ± 2.0 , RF が 8.4 ± 1.3 , FR が 6.4 ± 1.5 で, いずれも対照の 8.5 ± 1.1 と有意差はなかった。

2) 7 日保存血液

輸血操作前値は F が $2.6 \pm 1.0 \mu\text{mol/gHb}$ ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), R が 2.6 ± 1.1 , RF が 2.5 ± 1.0 , FR が 2.5 ± 1.0 で, いずれも対照の 2.7 ± 1.1 と有意差がなかった。

変化量は F が $2.4 \pm 0.7 \mu\text{mol/gHb}/8 \text{ h}$ ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), R が 2.4 ± 0.8 , RF が 2.3 ± 0.7 , FR が 2.2 ± 0.7 で, 対照の 2.4 ± 0.7 といずれも有意差はなかった。

3. MAP 上清遊離ヘモグロビン濃度 (Fig. 3)

1) 3 日保存血液

輸血操作前値は F が $29.8 \pm 9.1 \text{ mg/dl}$, ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), R が 16.3 ± 3.5 , RF が 30.6 ± 7.7 , FR が 32.7 ± 8.0 で, フィルター処理を行った F, RF, FR が対照の 12.9 ± 3.9 より有意に

Fig. 3 Concentration of free hemoglobin in the supernatants of infused RC-MAP stored 3 or 7 days. Control, —◆— ; Filtration, —■— ; Irradiation, —▲— ; Filtration after Irradiation, —×— ; Irradiation after Filtration, —*—.

Blood stored 3 days : Values for filtration, filtration after irradiation and irradiation after filtration are significantly different ($p<0.05$) from the control by the t-test before infusion.

Blood stored 7 days : Values for filtration, irradiation, filtration after irradiation and irradiation after filtration are significantly different ($p<0.05$) from the control by the t-test before infusion. Irradiation after filtration group is significantly different ($p<0.05$) from the control values after infusion.

高値であった。

変化量は F が $10.3 \pm 5.4 \text{ mg/dl}/8 \text{ h}$ ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), R が 9.2 ± 2.8 , RF が 12.7 ± 5.8 , FR が 10.7 ± 6.2 で, いずれも対照の 8.0 ± 1.2 と有意差がなかった。

2) 7 日保存血液

輸血操作前値は F が $24.2 \pm 4.6 \text{ mg/dl}$ ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), R が 18.4 ± 2.9 , RF が 25.9 ± 4.0 , FR が 27.5 ± 4.1 で, いずれの前処理を行った検体も対照の 12.2 ± 2.3 より有意に高値であった。

変化量は F が $9.1 \pm 3.8 \text{ mg/dl}/8 \text{ h}$ ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), R が 7.5 ± 1.6 , RF が 10.1 ± 2.1 , FR が 15.1 ± 2.7 で, FR (フィルター処理後照射) が対照の 6.8 ± 1.1 より有意に大きかった。なお, 最高値は FR の 8 時間輸血操作後の 42.6 mg/dl であった。

Fig. 4 Concentration of potassium in the supernatants of infused RC-MAP stored 3 or 7 days. Control, —◆—; Filtration, —■—; Irradiation, —▲—; Filtration after Irradiation —×—; Irradiation after Filtration, —*—. No significant differences from the control were seen.

4. MAP 上清 K^+ 濃度 (Fig. 4)

1) 3 日保存血液

輸血操作前値は F が 8.3 ± 1.1 mEq/l ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), R が 8.5 ± 1.1 , RF が 8.5 ± 1.1 , FR が 8.6 ± 1.1 で, いずれも対照の 8.1 ± 1.2 と有意差がなかった。

変化量は F が 2.3 ± 0.0 mEq/l/8 h ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), R が 3.5 ± 0.0 , RF が 3.0 ± 0.1 , FR が 2.7 ± 0.1 で, いずれも対照の 2.9 ± 0.1 と有意差はなかった。

2) 7 日保存血液

輸血操作前値は F が 20.5 ± 1.9 mEq/l ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), R が 20.8 ± 2.0 , RF が 20.7 ± 2.0 , FR が 20.8 ± 2.0 で, いずれも対照の 20.7 ± 2.0 と有意差がなかった。

変化量は F が 1.3 ± 0.1 mEq/l/8 h ($n=5$) (以下単位と n 数は同じ), R が 2.7 ± 0.1 , RF が 2.3 ± 0.1 , FR が 2.2 ± 0.2 で, いずれも対照の 1.5 ± 0.1 と有意差はなかった。

考 察

低出生体重児への輸血が成人と異なるのは輸血ポンプを使う, ラインが加温した保育器内を通る, 輸血ラインや穿刺針が細いなどである。現在, 頻用されるシリンジを押す型のポンプは溶血を起こ

す危険は少ないと考えられている。また, 加温された保育器内を通過するのに時間がかかり血液に細菌汚染があると輸血中に増殖する危険性はあるが, 器内温は輸血用の加温器より低く, 熱で溶血を起こす危険はないとされている。

針の細さと注入速度について, Macdonald ら⁶⁾ は 24 G の針では 0.3 ml/秒以上で, 22 G の針では 1.5 ml/秒以上で輸血操作を行なうと溶血が起ると報告している。手でシリンジを押す場合は一時的に高压になる可能性がある。しかし, 注入ポンプの速度は今回の検討のように通常 0.0006~0.003 ml/秒で, 針が 24 G であっても溶血を起こす可能性はないと考えられる。以上のことから, 現在保育器内で行われる輸血は, 感染に注意すれば, 安全と考えられている。

照射の影響について福森ら⁷⁾は RC-MAP に照射すると上清 K^+ 濃度が増加し, Brugnara ら⁸⁾はその原因を赤血球膜が影響を受けるためとしている。また, フィルター処理の影響について清水ら⁹⁾, 小本ら¹⁰⁾は第3世代の白血球除去フィルター使用後上清遊離ヘモグロビン濃度が 20 mg/dl 前後上昇したと報告している。一方, 照射とフィルターを併用した場合について長橋ら¹¹⁾は上清の K^+ 濃度, pH ならびに赤血球内 ATP 濃度は照射やフィルター処理単独と有意差がなかったが, 上清遊離ヘモグロビン濃度はフィルター処理の併用により有意に増加したと報告している。大戸ら¹²⁾も上清 K^+ 濃度に有意差がなかったと報告している。いずれも, 今回の我々の輸血操作前の検討と同じ結果であり, 上清遊離ヘモグロビンは上昇するものの, 問題のない範囲と結論される。

保育器内での輸血操作と照射やフィルター処理の影響を検討した報告は我々が調べ得た範囲では見つからなかった。今回の検討では照射とフィルター処理を併用した血液を保育器内で輸血操作した前後の赤血球内の ATP と 2,3-DPG の濃度, 上清 K^+ 濃度の変化量は対照と有意差がなかった。しかし, 7 日保存血液にフィルター処理後照射を行なうと対照より上清遊離ヘモグロビン濃度の増加が大きかった。操作手順を逆にするとなぜ差が出るのかは今回の検討からは結論は得られなかつ

た。保存期間が関係するの可否を含め、今後の検討が必要である。ただ、検討した保存期間の RC-MAP では、輸血操作後の上清遊離ヘモグロビン濃度の最高値は 42.6 mg/dl で、この値は後記のように臨床的には問題の起こらない範囲であった。すなわち、Ht が 25%、循環血液量が体重の 8.5% と仮定し、RC-MAP (Ht 66%、上清遊離ヘモグロビン濃度 50 mg/dl) を急速に輸血した場合の児の血漿遊離ヘモグロビン濃度推定値を

$$\text{血漿遊離ヘモグロビン濃度} = (\text{RC-MAP 上清の遊離ヘモグロビン量}) \div (\text{血漿量} + \text{RC-MAP 上清量})$$

の式から推計すると、その結果は体重 1,000 g の児に 15 ml (体重の 1.5% 量) の輸血で血漿遊離ヘモグロビン濃度は 3.7 mg/dl となる。出生体重 1~1.5 kg 児の輸血の必要性が始める生後 4 週目の haptoglobin は 2 ± 7 mg/dl¹³⁾ で、haptoglobin 1.3 mg は 1 mg のヘモグロビンと結合することから、haptoglobin のみでは処理できない場合もある値である。しかし、ヘモグロビン尿が見られ始める 25 mg/dl¹⁴⁾ 以下であり、臨床的には問題にならない値である。

上清 K⁺濃度は、今回の検討では照射とフィルター処理を併用して輸血操作を行っても対照より有意に上昇することはなかった。しかし、3 日より 7 日保存血液の輸血操作後の K⁺濃度は約 2 倍高値であった。血液は保存期間が長くなるにつれ上清 K⁺濃度が上昇する。長橋ら³⁾は 10 日保存後 15 G 照射しフィルター処理した RC-MAP 上清 K⁺濃度は 49.9 ± 4.1 mEq/l と報告している。上清 K⁺濃度が 50 mEq/l の RC-MAP (Ht 66%) を急速輸血した場合の血漿 K⁺濃度を循環血液量が体重の 8.5%、Ht が 25%、血漿 K⁺濃度が 4 mEq/L と仮定し Hall ら¹⁵⁾の

$$\text{血漿 K}^+ \text{量} = (\text{輸血前体内 K}^+ \text{量} + \text{輸血 K}^+ \text{量}) \div (\text{血漿量} + \text{輸血 RC-MAP 上清量})$$

の式でより推計してみた。体重 1,000 g の児に 15 ml (15 ml/kg) 輸血した場合は 7.4 mEq/l となる。この値は Shortland ら¹⁶⁾が体重 1,500 g 未満の児では 60% が不整脈を来すと報告している 7.5 mEq/l に相当する。生後間もない児の K⁺排泄能

は年長児の約 1/4¹⁷⁾と低いが、それでも今回の様な緩徐な輸血では輸血中も尿に K⁺が排泄され、急速輸血ほど血漿 K⁺濃度は上昇しないと考えられる。

今回の検討から、採血後 3~7 日の RC-MAP に使用直前に照射とフィルター処理を併用して保育器内で輸血操作を行った後も上清 K⁺濃度が 50 mEq/l を越す製剤はなく、低出生体重児に急速輸血が行われても高 K⁺血漿を招来する危険性は少ないと考えられる。

まとめ

3 日および 7 日保存 RC-MAP に使用直前に放射線照射とフィルター処理を併用し、保育器内で輸血操作を行った場合の安全性を検討した。

7 日保存しフィルター処理後照射したもので上清遊離ヘモグロビン濃度が未処理のものより有意に増加したが、最高値は 42.6 mg/dl で臨床的に問題となる値ではなかった。

上清 K⁺や赤血球内の ATP と 2,3-DPG の濃度は照射とフィルター処理を併用して輸血操作を行っても対照より有意に変化することはなかった。

今回の検討から、細菌汚染に注意すれば、採血後 3~7 日の RC-MAP に使用直前に照射とフィルター処理を併用して保育器内で低出生体重児に輸血しても安全と考えられた。

本論文の要旨は、第 8 回国際輸血学会、1997 年 3 月、東京、で発表した。

謝辞：試料を御提供頂いた千葉県赤十字血液センター、ならびに御校閲頂いた東邦大学医学部第 1 小児科学講座 月本一郎教授に深謝します。

文 献

- 1) 日本輸血学会輸血後 GVHD 対策小委員会：会告 VII. 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 III. 日本輸血学会雑誌 42：1—6, 1996.
- 2) Gilbert, G.L., Hayers, K., Hundson, I.L., James, J., and the Neonatal Cytomegalovirus Infection Study Group：Prevention of transfusion-acquired cytomegalovirus infection in infant by blood filtration to remove leukocytes. Lancet, 1：1228, 1989.
- 3) Bucher, T.：Über ein phosphatübertragendes Garungsferment. Biochem. biophys. Acta (Am-

- st.), 1 : 292—314, 1947.
- 4) Ericson, A. and de Verdier, C.H. : A modified method for the determination of 2, 3-diphosphoglycerate in erythrocytes. *Scand. J. Clin. Lab. Inv.*, 29 : 85—90, 1972.
- 5) International Committee for Standardization in Haematology : Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood and specifications for international haemoglobin cyanide reference preparation. *J. Clin. Pathol.*, 31 : 139—143, 1978.
- 6) Macdonald, W. B. and Berg R. B. : Hemolysis of transfused cells during use of the injection (push) technique for blood transfusion. *Pediatrics.*, 23 : 8—11, 1959.
- 7) 福森泰雄, 石見昭子, 田中成憲, 大軒子郎, 柴田弘俊 : X線照射がRCMAP中の赤血球に与える影響. *日本輸血学会雑誌*, 39 : 979—983, 1993.
- 8) Brugnara, C. and Churchill, W. H. : Effect of irradiation on red cell cation content and transport. *Transfusion*, 32 : 246—252, 1992.
- 9) 清水 勝, 藤井寿一, 岡本好雄, 溝口秀昭, 和田真紀夫, 高本 滋, 比留間潔, 山本恵美, 池田康夫, 半田 誠, 平野武道 : 白血球除去フィルターZ-386の臨床評価. *新しい医療機器研究*, 3 : 95—108, 1996.
- 10) 小本美奈, 栗野文剛, 富永誠一 : ベッドサイド白血球除去フィルターの性能評価, 及び製剤のpH値に及ぼす影響. *日本輸血学会雑誌*, 41 : 596—604, 1995.
- 11) 長橋久方, 森山 哲, 坪倉兌雄, 田所憲治, 中島一格, 十字猛夫 : γ 線照射RC-MAPのフィルター濾過による影響. *日本輸血学会雑誌*, 44 : 322—327, 1998.
- 12) 大戸 齊, 斉野猛司, 元木良一, 小島健一 : 白血球除去フィルターは放射線血のK⁺上昇を起こさない. *日本輸血学会雑誌*, 43 : 287, 1997.
- 13) 後藤玄夫 : APR-Scの新生児感染症に対する信憑性とNICUにおける臨床応用. *小児科臨床*, 41 : 1709—1717, 1988.
- 14) Crsby, W.H., Dameshek, W. : The significance of hemoglobinuria and associated hemosiderinuria, with particular reference to various type of hemolytic anemia. *J. Lab. Clin. Med.*, 38 : 829—841, 1951.
- 15) Hall, T.L., Barnes, A., Miller, J.R., Bethencourt, D. M. and Nestor, L. : Neonatal mortality following transfusion of red cells with high plasma potassium levels. *Transfusion*, 33 : 606—609, 1993.
- 16) Shortland, D., Trounce, J.Q., Levene, M.I. : Hyperkalemia, cardiac arrhythmias, and cerebral lesions in high risk neonates. *Arch. Dis. Child.*, 56 : 1139—1143, 1987.
- 17) Sulyok, E., Nemeth, M., Tenyi, I., Csaba, I.F., Varga, F., Gyory, E., Thurzo, V. : Relationship between maturity, electrolyte balance and the function of the renin-angiotensin-aldosterone system in newborn infants. *Biol. Neonat.*, 35 : 60—65, 1979.