

総 説

顆粒球輸血

小原 明

東邦大学小児科学第一講座 大森病院輸血部

GRANULOCYTE TRANSFUSION

Akira Ohara

Toho University Faculty of Medicine, the First Department of Pediatrics
and Blood Transfusion Service, Omori Hospital

Key words : Granulocyte transfusion, Granulocyte Colony Stimulating factor (G-CSF), Neutropenia

白血病がん化学療法および造血細胞移植施行時の長期間の高度好中球減少は、重症細菌感染症・深部真菌感染症発症の危険が極めて高い。最近の抗菌療法や抗真菌療法の進歩にもかかわらず、高度好中球減少期の感染症治療は困難で、予後を大きく左右している。1980年代末に顆粒球コロニー刺激因子 G-CSF の臨床投与が始まり、化学療法後の好中球減少期間を短縮させることが可能になったが、依然好中球減少期の重症感染症治療の問題は解決されていない。

好中球減少期の重症感染症に対して1970年代初頭から顆粒球輸血 Granulocyte transfusion (GTX) が行われ始めた。しかし当時のナイロンウールカラムを用いた吸着ろ過法による顆粒球の採取効率は悪く、明瞭な臨床効果も得られなかったために、1980年代末に G-CSF の臨床投与が開始されると次第に行われなくなった。一方その後 G-CSF は自家末梢血幹細胞移植 auto PBST で造血幹細胞の動員を目的に投与されるようになり、現在では同種末梢血幹細胞移植 allo PBST で正常人ドナーに G-CSF が投与されるようになっている。

PBST の発展は細胞採取装置の改良を促した。正常人ドナーに G-CSF を投与して動員された顆粒球を、この効率の良い細胞採取装置を用いて採取し、これを用いて GTX を行おうとする試み

が1990年代初期から始められた¹⁾⁻⁴⁾。現在米国では G-CSF を投与された地域の献血ドナーから病院輸血部が顆粒球採取を行っている施設もある⁵⁾。この様に充分量の顆粒球が技術的に採取可能となった現在、日本でもこの2~3年の間に小児の GTX 実施調査結果⁶⁾や有効例⁷⁾⁸⁾が報告されるようになり、2003年第51回日本輸血学会にも関連した演題が発表された⁹⁾¹⁰⁾。

顆粒球輸血の目的・適応

GTX は感染症治療に際して、好中球減少症では好中球の数を補うこと、好中球機能異常症では正常機能細胞を補うことの2つ目的を持っている。現在示されている GTX 輸血適応基準には AABB Circular of information¹¹⁾による顆粒球輸血の適応(表1)と、新生児幼児を対象にした顆粒球輸血監査基準¹²⁾がある。

がん白血病化学療法後の G-CSF 投与は、治療後の顆粒球減少期間を短縮し、化学療法の治療強度強化に貢献している。さらに新しい抗菌薬の開発や簡易無菌ベッドの使用と相まって、現在では化学療法後に GTX が必要になることは少ない。しかし膿瘍を形成した細菌感染症や、深部真菌感染症に対して、無顆粒球症時の抗菌薬・抗真菌薬の効果は限定的で、その感染症は容易に長期化、重症化する。また白血病や再生不良性貧血の診断時に既に重症感染症に罹患している症例では、原病

表1 A ABB circular of information, Blood components による顆粒球輸血の適応・投与方法¹¹⁾

| 適応 Clinical use |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> ・原因菌が証明されている(殊にグラム陰性菌・真菌)感染に罹患した, 概ね好中球数 $500/\mu\text{l}$ 未満の患者であり, かつ抗生物質投与に感染症が改善しない者. ・GTX 前には必ず広域スペクトラムの抗菌剤が投与されていなければならない. ・骨髓機能の回復が見込めない患者には GTX の適応はない. ・感染症に罹患していない患者に対する, 予防的な投与は行わない. ・対象患者が CMV 抗体陰性であり, 造血細胞移植後など高度の免疫抑制状態にある時には, CMV 抗体陽性ドナーからの GTX は行うべきではない. |
| 投与方法 Dosage and Administration |
| <ul style="list-style-type: none"> ・顆粒球採取後可及的速やかに通常の輸血フィルターを用いて輸血する. ・混入するドナー赤血球型は ABO 型主試験陰性でなければならない. ・微小凝集塊除去フィルター (Depth 型)・白血球除去フィルターは用いない. ・ひとたび GTX を開始した後は, 感染症が改善するまで, 解熱するまで, 顆粒球絶対数が $500/\mu\text{l}$ を越えるまで, または主治医が中止を判断するまで, 連日投与する. ・投与前に必ず放射線照射を行う. |

の治療が行われて正常造血が回復するまでは顆粒球の回復は望めず, また原病の治療そのものも十分行えずに難渋する. この様に頻度は低くとも GTX を必要とする臨床状況と GTX 有効例^{7,8)}は存在し, 最近の日本における多施設アンケート調査^{6,10)}でも必要症例があることが示されている.

A ABB Circular of information¹¹⁾は重症再生不良性貧血や移植後拒絶など回復の望めない造血障害は GTX の適応はないとしている. GTX は開始すれば連日 好中球数が $500/\mu\text{l}$ を越えて感染症がコントロールされるまで続けることが必要である. GTX で改善傾向が認められた後は, 自己(または移植片の)造血の回復によって感染症はコントロールされて治癒する. しかし造血の回復が望めない疾患では GTX のみで感染症が完治することは少なく, 一旦 GTX が開始されれば際限なく輸血が繰り返されることになる. ドナーに限りのある GTX では際限ない輸血は不可能であり, 従ってこのような疾患の重症感染症を GTX で治癒せしめることはできないと冷静に考えるべきであろう.

採取方法

顆粒球の効率の良い採取方法として, G-CSF を用いて顆粒球を動員し, 成分採取装置を用いてアフレーションする方法が一般的である. 採取方法の要点は顆粒球動員方法と細胞採取方法の2点に整理される. 顆粒球動員はデキサメサゾン Dex

前投与による顆粒球壁在プールからの動員と, G-CSF 投与による増殖分化誘導, 骨髓・壁在プールからの動員で行われる. 一般的には採取12時間前に Dex 8mg と rhG-CSF 5~10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ が単回前投与される.

前投与薬剤の組み合わせと顆粒球採取細胞数を検討した Liles らの報告^{13,14)}によれば, Dex 単独, G-CSF 単独, Dex + G-CSF 併用の順に採取細胞数は増加し2者の併用が明らかに多くの顆粒球が得られている. 採取細胞数は G-CSF 投与量増量により増加するが, 5~10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ が最も効率が良い.

成分採取装置で顆粒球層を赤血球層から効率よく分離するために, 赤血球沈降剤として高分子デキストラン hydroxyethylstarch HES が用いられる. HES には分子量 40 万, 7 万の二種類の製剤があり, 高分子であるほど赤血球分離効率は高い. 日本で使用可能な製剤は分子量 7 万の HES (6% デヒドロキシエチルデンプン生理食塩液溶液)であるが, この製剤を用いて得られた製剤の混入赤血球 Ht 値は 20% 前後であり, 赤血球除去分離率は分子量 40 万の製品に比べて悪い. しかし分子量 40 万の製剤を用いても混入赤血球量は輸血後溶血反応を無視できるほどには減少せず¹⁵⁾, 従ってドナーは ABO 型主試験一致である必要があり, 分子量 40 万製品の使用によってドナー選択の幅が広がることには繋がらない.

成分採取装置(Cobe Spectra)を用い, 処理血液

量 7L・採取時間約 3 時間・分子量 7 万の HES を使用, G-CSF/Dex を前投与した子どもの施設の 10 回の顆粒球採取の採取細胞数は $23.6 \pm 11.8 \times 10^9$, 混入赤血球ヘマトクリットは $19.2 \pm 4.6\%$ である。日本の多施設の採取状況をまとめた落合らの報告⁶⁾によれば, 採取細胞数は 0.5 から 8.7×10^{10} (平均 3.56×10^{10}) と幅広い。

小児患者では必要輸注細胞数が少なく済むために, 輸血バック法でも G-CSF を用いることによって効率よく安全・簡便に顆粒球が採取できる。バック法を示した菊田らの報告¹⁶⁾に拠れば, 平均採取細胞数は 400ml 採血あたり $0.5 - 1.0 \times 10^{10}$ であり, HES を用いることなく通常の輸血用大型遠心器で十分な赤血球除去が可能とされている。

採取した顆粒球製剤は 15~50 Gy の放射線照射を行って輸血後 GVH 病を予防する。顆粒球採取後の製剤は室温で振盪せずに保管し直ちに使用する。顆粒球浮遊液の pH は採取直後から低下し始め 24 時間後には pH 6.0 を下回り細胞機能に影響を及ぼすと予想される。またバック内の IL-1 β と IL-8 濃度の上昇が報告されている¹⁷⁾。

採取副作用

採取に伴う副作用は, 成分採血装置による採血中の血管迷走神経反射やクエン酸中毒による低 Ca 血症等と, G-CSF・Dex 前投与による副作用である。採取は熟練したアフエーシス専属医療者が, 安全を確保して行うことが望ましい。通常の顆粒球採取前投与で用いられる 10 μ g/Kg の G-CSF 1 回投与によりドナーに生じる急性副反応は, 骨痛 68%, 頭痛 25%, 倦怠感 9%, 吐気 6%, その他不眠, 発熱, 悪寒などが報告されており, 72% のドナーが鎮痛剤を必要としている¹⁸⁾。Seattle の Phase I/II 研究⁵⁾では成分献血ドナーの約 60% が顆粒球採取に同意し, のべ 165 回の採取が行われて 72% に副作用が出現したものの, 2 回目も献血してもよいと 98% のドナーが答えており, 副作用があっても十分受容できる採取方法であると報告されている。

G-CSF 投与により最も危惧されるのは造血器腫瘍の発生リスクである。健康ドナーに投与された G-CSF が長期観察の後にどのような危険因子と

なるのか, 未だ解明されていない。造血器腫瘍発生リスクの問題を解決することは, 非血縁の献血ドナーを GTX にリクルートする必須条件であろう。最近の米国の報告では造血器腫瘍の発生リスクの有意な上昇はないとされている¹⁹⁾。しかし日本造血細胞移植学会は G-CSF 投与を受けた同種末梢血移植ドナー全例の追跡観察を続けている。G-CSF 投与を受けた GTX ドナーも同様の長期観察が計画的に行われる必要がある。

Dex 前投与でも副作用報告がある²⁰⁾。これはドナー 11 人 (のべ採取回数 17~46 回) のうち 4 人に白内障が診断されたというもので, 予想以上に高頻度であり, より多くのドナーで追試する必要性を示唆している。

赤血球沈降剤としてドナーに投与した HES はドナー・レシピエント双方の体内組織に残留する。HES は高分子であるほど赤血球分離効率が高いが, 肝臓・腎臓組織残留も多くなり, 尿糖出現などの長期副作用が危惧される。

ドナーの選定

健康人に G-CSF 等を投与し, 成分採血装置を用いて採取するのであるから, 現状では ABO 型主試験一致成人家族からの提供を原則とすべきであろう。しかしながら連日輸血を必要とする GTX では家族ドナーでは限度があり, 現実には日本でも非血縁ドナーからの提供が既に行われている⁶⁾。また米国からは家族ドナーと地域献血ドナーを比較した研究の報告²¹⁾もされるようになってきている。この様な現実の流れを考えれば GTX ガイドラインの作成とドナーの長期追跡調査システムを早急に構築し, また G-CSF と成分採血装置を用いた顆粒球採取が安全に行いうる手技であるか否か検証する必要がある。

臨床効果・必要細胞数

臨床効果をあげる必要輸注顆粒球細胞数(単回)は患者体重あたりおよそ 10^9 個とされている。輸注後の患者末梢血顆粒球増加量は, 臨床効果の一つの指標であるが, 10^9 個を輸注しても, 単回輸血では末梢血に十分量の顆粒球が出現することは少なく, 連続輸血を行うことにより, 輸注後顆粒球数は次第に増加することが示されている⁵⁾。また

臨床的な効果（解熱傾向や局所所見の改善）は、末梢血顆粒球数増加量に無関係に得られることも多く、単回の必要輸注細胞数は一つの目安である。

臨床治療研究

3つの臨床治療研究が発表されている^{5, 21, 22}。米国 Seattle, Fred Hutchinson Cancer Research Center で行われた最初の研究⁵は、一般献血ドナーに対して GTX 目的に G-CSF と Dex を投与して顆粒球採取を行うことの安全性を明らかにする Phase I 研究であった。20例の7歳から58歳の患者（ALL 5例, AML 6例, CML 3例, MDS 2例, NHL 3例, 重症再生不良性貧血 2例）移植前4例, 移植後16例）に対して、のべ175回（内10回は血縁ドナー）の GTX 採取と輸血を行っている。G-CSF 600 $\mu\text{g}/\text{dose}$ と Dex 8mg の前投与で採取処理血液量 10L, Dupont 社の 6% hetastarch を用い、採取好中球数は $81.9 \pm 2.3 \times 10^9/\text{回}$ であった。ドナーの副作用出現率は 72%（骨痛 41%, 頭痛 30%, 不眠 30%）と高率であったが、98% のドナーが次の献血にも応じると答えている。1症例あたり GTX 輸血回数 8.6（1~25）回が行われ、18例が好中球増加の反応を示し（輸血1時間後の好中球増加 $2,600 \pm 1,600/\mu\text{l}$, およそ $2,000/\mu\text{l}$ の増加を得るために必要な輸注細胞数 $2 \times 10^9/\text{Kg}$ ）、8例で感染症が改善している。5例の重症 Aspergillus 患者には無効であった。患者に生じた輸血副反応は悪寒（7症例 12輸血）、1.5 以上の発熱（6症例 12輸血）、痒みなど（2症例 3輸血）、3% 以上の血中酸素飽和度低下（11輸血）であった。

米国 St Louis, Washington 大学で行われた研究²²は、自家末梢血幹細胞移植 auto PBSTC を行う患者に対して、単独の血縁者をドナーにした GTX 輸血を移植後に計画的に4回行い、auto PBSTC への白血球型の影響（好中球増加・血小板増加）を HLA クラス I, screening lymphocytotoxicity assay (s-LCA), lymphocytotoxicity cross-match assay (c-LCA), leukoagglutination cross-match の陽性例・陰性例別に検討するものであった。23症例の内19例は HLA haplo-identical, s-LCA 陽性例 8例, c-LCA 陽性例 1例,

leukoagglutination cross-match 陽性例 0例であった。この8例の s-LCA 陽性例は、連続4回（day 1, 4, 6, 8）の GTX 輸血の内、後半3, 4回目で、好中球数・血小板数ともに増加が悪くなる傾向を認めている。輸血後副作用発現（5.7%）には s-LCA は無関係であった。しかし s-LCA 陽性例は陰性例に比して auto PBSTC 後の好中球生着は遅延し、発熱期間は長期であった。GTX 時の白血球型の重要性や GTX 後の同種免疫やそれによる移植の影響に関しては依然不明な点が多く、さらなる研究が必要である。

米国 Seattle, Fred Hutchinson Cancer Research Center からは 2002 年に再度 GTX 臨床治療研究の報告がある²¹。これは移植症例に対して家族内ドナー・地域献血ドナーによる GTX を移植後に施行した症例と、施行しなかった matched pair 症例とを比較した outcome 研究である。この研究では地域献血ドナーが家族内ドナーよりも早期に GTX が実施可能であることが示され（3日対5日）、また輸血後細胞増加数も地域献血ドナーの方が良好であった。しかしながら最終的な予後（移植後生存）は、移植後の GVHD の grade や移植ドナーの違いを調整しても、家族内ドナー・地域献血ドナー・GTX 実施なしの3群に差は見いだせなかった。

以上に述べたように、米国での臨床治療研究によって顆粒球は安全に採取可能で、GTX 輸血は臨床実施可能であることが示されているものの、GTX の有効性は明確には示されていない。最近 Fred Hutchinson のグループは、GTX 輸血後 30 日の生存率を endpoint にして GTX の有効性を評価する研究を米国血液学会（2003 年 San Diego 市）で発表している。個々の症例の GTX 直後の解熱効果や炎症反応の改善を endpoint にした臨床研究では、GTX の有効性を客観的に示すことが困難なためと思われる。

本稿の最初に、日本でも既に多くの症例に対して GTX が施行されていることを述べた。顆粒球が採取可能で輸血実施可能であることが米国で示され、日本でも臨床効果を期待して、医療施設がそれぞれ独自に行っている。またそれだけの必要

性が有ることも無視はできない。しかしながら GTX は有効性の効果判定が難しい輸血治療であること、ドナーに負担が大きく危険も予想されること等を考えると、安全な GTX 輸血のために十分に議論され実証されたガイドラインが是非とも必要である。

本稿は第 49 回日本輸血学会総会(東京)教育プログラムにおいて発表した内容に、顆粒球輸血研究会(星順隆代表)においてその後討議された内容を加筆した。ご助言を頂いた顆粒球輸血研究会世話人(石田明, 大坂顯通, 大戸斉, 長田広司, 菊田敦, 前川平, 星順隆)の諸先生に感謝致します。

文 献

- 1) Strauss, R.G. : Therapeutic granulocyte transfusions in 1993. *Blood*, 81 (7) : 1675-1678, 1993.
- 2) Strauss, R.G. : Granulocyte transfusion therapy. *Hematol Oncol Clin North Am.*, 8 (6) : 1159-1166, 1994.
- 3) Hester, J.P., Dignani, M.C., Anaissie, E.J., Kantarjian, H.M., O'Brien, S., Freireich, E.J. : Collection and transfusion of granulocyte concentrates from donors primed with granulocyte stimulating factor and response of myelosuppressed patients with established infection. *J Clin Apheresis*, 10 (4) : 188-193, 1995.
- 4) 迫 正廣, 中西康詞, 中川喜美子 : 顆粒球輸血における donor への granulocyte colony stimulating factor 前投与の有効性. *日本小児血液学会雑誌*, 8 (3) : 200-204, 1994.
- 5) Price, T.H., Bowden, R.A., Boeckh, M., Bux, J., Nelson, K., Liles, W.C., Dale, D.C. : Phase I/II trial of neutrophil transfusions from donors stimulated with G-CSF and dexamethasone for treatment of patients with infections in hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 95 (11) : 3302-3309, 2000.
- 6) 落合秀匡, 沖本由理, 犬飼岳史, 小池和俊, 土田昌宏, 小原 明, 矢部みはる, 菊池 陽 : 過去五年間に行われた顆粒球輸血の検討 東京小児がん研究グループの経験から. *日本小児血液学会雑誌*, 16 (4) : 268, 2002.
- 7) 根本健二, 菊田 敦, 伊藤正樹, 佐野秀樹, 大戸斉, 鈴木 仁 : 寛解導入療法後に合併した頸部蜂窩織炎に対して顆粒球輸血が有効であった AML の 1 例. *日本小児血液学会雑誌*, 15 (13) : 197-201, 2001.
- 8) 石田 明, 上村知恵, 松橋博子, 持田範之, 工藤祐美子, 五十嵐靖浩, 太田香保里, 米沢有希, 藤野 馨, 高崎佳苗, 鳥海綾子, 塚田唯子, 佐藤範英, 長山人三, 高山信之, 岡本真一郎, 渡邊直英, 中島秀明, 半田 誠 : 同種骨髄移植後に合併した重症細菌感染症に対する顆粒球輸血の試み. *日本輸血学会雑誌*, 48 (2) : 148, 2002.
- 9) 大坂顯通, 大戸 斉, 菊田 敦, 小原 明, 前川平, 長田広司, 月本一郎, 星 順隆 : 安全な顆粒球輸血を目指したガイドライン案の作成. *日本輸血学会雑誌*, 49 (2) : 253, 2003.
- 10) 星 順隆, 大坂顯通, 大戸 斉, 菊田 敦, 小原明, 前川 平, 長田広司, 月本一郎 : 顆粒球輸血の実態調査. *日本輸血学会雑誌*, 49 (2) : 253, 2003.
- 11) American Association of Blood Banks : AABB circular of information Granulocyte components. www.aabb.org/All_About_Blood/COI/coi0702.pdf, 2002.
- 12) Blanchette, V.S., Hume, H.A., Levy, G.J., Luban, N.L., Strauss R.G. : Guidelines for auditing pediatric blood transfusion practices. *Am.J. Dis. Child.*, 145 (7) : 787-796, 1991.
- 13) Liles, W.C., Huang, J.E., Llewellyn, C., SenGupta, D., Price, T.H., Dale, D.C. : A comparative trial of granulocyte-colony-stimulating factor and dexamethasone, separately and in combination, for the mobilization of neutrophils in the peripheral blood of normal volunteers. *Transfusion*, 37 (2) : 182-187, 1997.
- 14) Liles, W.C., Rodger, E., Dale, D.C. : Combined administration of G-CSF and dexamethasone for the mobilization of granulocytes in normal donors : optimization of dosing. *Transfusion*, 40 (6) : 642-644, 2000.
- 15) Adkins, D., Johnston, M., Walsh, J., Spitzer, G., Goodnough, T. : Hydroxyethylstarch sedimentation by gravity ex vivo for red cell reduction of granulocyte apheresis components. *J. Clin. Apheresis*, 13 (2) : 56-61, 1998.
- 16) 根本健二, 菊田 敦, 伊藤正樹, 佐野秀樹, 鈴木仁, 大戸 斉 : G-CSF 併用血液バック採血による顆粒球採取法の開発. *日本輸血学会雑誌*, 49 (2) : 254, 2003.
- 17) Lightfoot, T., Leitman, S.F., Stroncek, D.F. : Storage of G-CSF-mobilized granulocyte concentrates. *Transfusion*, 40 (9) : 1104-1110, 2000.
- 18) McCullough, J., Clay, M., Herr, G., Smith, J., Stroncek D. : Effects of granulocyte-colony-stimulating factor on potential normal granulocyte donors. *Transfusion*, 39 (10) : 1136-1140, 1999.
- 19) Shapira, M.Y., Kaspler, P., Samuel, S., Shoshan, S., Or, R. : Granulocyte colony stimulating factor does not induce long-term DNA instability in

- healthy peripheral blood stem cell donors. *Am.J. Hematol.*, 73 (1): 33 - 36, 2003.
- 20) Ghodsi, Z., Strauss, R.G. : Cataracts in neutrophil donors stimulated with adrenal corticosteroids. *Transfusion*, 41 (12): 1464 - 1468, 2001.
- 21) Hubel, K., Carter, R.A., Liles, W.C., Dale, D.C., Price, T.H., Bowden, R.A., Rowley, S.D., Chauncey, T.R., Bensinger, W.I., Boeckh, M. : Granulocyte transfusion therapy for infections in candidates and recipients of HPC transplantation : a comparative analysis of feasibility and outcome for community donors versus related donors. *Transfusion*, 42 (11): 1414 - 1421, 2002.
- 22) Adkins, D.R., Goodnough, L.T., Shenoy, S., Brown, R., Moellering, J., Khoury, H., Vij, R., DiPersio, J. : Effect of leukocyte compatibility on neutrophil increment after transfusion of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized prophylactic granulocyte transfusions and on clinical outcomes after stem cell transplantation. *Blood*, 95 (11) : 3605 - 3612, 2000.
-