

原 著

## 自己血輸血における貯血前白血球除去の臨床的意義

猪狩 次雄<sup>1)</sup> 大戸 齊<sup>1)</sup> 尾形 隆<sup>1)</sup>  
池田 和彦<sup>1)</sup> 佐藤 馨<sup>1)</sup> 高木 忠之<sup>1)</sup>  
竹山 邦彦<sup>1)</sup> 青田 恵郎<sup>2)</sup> 菊地 臣一<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>福島県立医科大学輸血・移植免疫部

<sup>2)</sup>同 整形外科

(平成 16 年 2 月 17 日受付)

(平成 16 年 5 月 28 日受理)

### CLINICAL TRIAL OF PRESTORAGE LEUKOCYTE REDUCTION FOR AUTOLOGOUS BLOOD TRANSFUSION

Tsuguo Igari<sup>1)</sup>, Hitoshi Ohto<sup>1)</sup>, Takashi Ogata<sup>1)</sup>, Kazuhiko Ikeda<sup>1)</sup>,  
Kaoru Sato<sup>1)</sup>, Tadayuki Takagi<sup>1)</sup>, Kunihiro Takeyama<sup>1)</sup>,  
Shigeo Aota<sup>2)</sup> and Shinichi Kikuchi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Blood Transfusion and Transplantation Immunology and

<sup>2)</sup>Department of Orthopaedic Surgery, Fukushima Medical University

The goal of the present study was to determine the efficacy of reducing the number of leukocytes in autologous blood before storage. The study sample consisted of 121 patients undergoing orthopedic surgery and scheduled to receive up to 1,200 mL autologous blood. They were divided into prestorage leukocyte reduction and no-reduction groups. Body temperature, white blood cell counts, red blood cell counts, and C reactive protein (CRP) levels were compared after operation. Thirteen of 121 patients were excluded from comparison due to rheumatic etiology. Results showed no significant difference in efficiency between the leukocyte-reduced (n = 46) and non-reduced (n = 62) groups. The leukocyte reduction group showed slightly lower CRP levels for 48 h after surgery than the no-reduction group. The benefits of prestorage leukocyte reduction of autologous blood remains to be elucidated.

**Key words :** 白血球除去, 貯血前, 整形外科手術, 自己血輸血

各種抗体スクリーニング検査によりかなり安全なものになってきたとされる同種血輸血であるが, 感染症や免疫などの問題から自己血輸血の安全性に優れるものではない。しかしながら自己血輸血も決してすべて安全なものではなく, その安全性をさらに高める必要がある。自己血の白血球除去は同種血の白血球除去と異なり, 免疫学的効果ではなく, 非免疫学的副作用の防止, 保存に伴

う障害の減少を企図するものになると考えられこれを検討した。

#### 対象と方法

総貯血量が 1,200mL 以下の整形外科患者を対象とし, 誕生日が偶数である患者を白血球除去群 (白除群), 奇数を非白血球除去群 (非白除群) とした。2002 年 10 月 1 日から 2004 年 1 月 26 日の間に, インフォームドコンセントが得られた 130

人がエントリーした . 9 例 (手術中止 5 例 , 延期 3 例 , 血小板数減少のための自己血採血中止 1 例) が脱落し , 121 例を検討した . Table 1 にリウマチ性疾患と非リウマチ性疾患に分けて患者背景を示す .

白血球除去フィルター , 貯血保存液含有血液バックシステム (セパセルインテグラ<sup>®</sup>CA : 川澄社製造元/旭メディカル社発売元) を用い , 白血球除去は採血後 1~2 時間 4 保存後に行った . 自己血は手術当日から翌日までに輸血 , 術後の抗生剤はセファゾリンナトリウム 2g/日 を手術当日および翌日の 2 日間使用した . 回収式自己血輸血は併用しなかった . 術当日 , 1 日 , 2 日 , 3 日 , 7 日 , 14 日 , 21 日の最高体温 , 白血球数 , 赤血球数 , ヘモグロビン値 , CRP , 輸血副作用を検討した . 統計値は平均値 ± 標準偏差値で示し , student t 及び  $\chi^2$  検定を行い ,  $p < 0.05$  を有意 (表示のないものは有意の差なし) とした . なお , この研究は当大学倫理委員会の承認が得られている .

## 成 績

### フィルターの除去能

54 例で 77 回の自己血貯血時に自動血球カウンター (Sysmex KX-21) を用いて , 白除前は患者の採血直後血液の測定値を白除後は濾過後のバックからの採血の測定値を用い , 白除前後での除去能を調べた . 白血球数は白除前  $5,441.6 \pm 1,717.2/\mu\text{L}$  が白除後  $71.2 \pm 69.7/\mu\text{L}$  (98.8% 除去) , 赤血球数は白除前  $416.9 \pm 42.1 \times 10^4/\mu\text{L}$  が白除後  $397.1 \pm 80.9 \times 10^4/\mu\text{L}$  (4.7% ) , 血小板数は白除前  $239.1 \pm 61.6 \times 10^3/\mu\text{L}$  が  $6.93 \pm 1.8 \times 10^3/\mu\text{L}$  (97.1% ) であった . 白除後の数値は貯血保存液による希釈を補正した .

リウマチ性疾患は症例数も少なく , 且つ慢性炎症状態が続いていると考えられるので , 非リウマチ性疾患 108 例について検討した .

### 患者背景

白除群の性別構成が非白群に比し , 有意に女性に多かった . 数値上は白除群の年齢の中央値が 57 歳と非白除群に比し若く , 麻酔時間 , 手術時間が白除群で各々  $244.0 \pm 157.9$  分 ,  $185.5 \pm 137.1$  分と長かった . 貯血回数や総貯血量などにも有意の差は

なかった (Table 1) .

### 術後の指標

術後体温の推移 (Fig. 1) では術 1 日にピークがあり , その後は解熱したが両群に有意の差のある推移はなかった . 白血球数の推移 (Fig. 2) では , 術直後が高値で , 以後漸減したが , 白血球除去は術後の白除群の数値に影響を与えなかった . 赤血球数の推移 (Fig. 3) , 術後は低値であるが漸増し回復したが , 両群に差異はなかった . ヘモグロビン値の推移 (Fig. 4) は赤血球数の推移と同様に術後漸増し回復した . 血小板数の推移 (Fig. 5) は白除群では血小板も除去されたが術後の推移には差異がなく , 術 1 , 2 日と漸減し , 以後漸増し回復した . CRP の推移 (Fig. 6) は術直後から術 2 日間 , 白除群が低値で推移したが統計学的には有意ではなかった .

次に , 麻酔時間 200 分以上の症例を抽出して , 術後の体温と CRP 値の推移を検討した結果を Fig. 7 および Fig. 8 に示す . 白除群 ( $n = 18$  , 麻酔時間  $377.8 \pm 178.4$  分) と非白除群 ( $n = 19$  , 麻酔時間  $341.1 \pm 161.7$  分) 間に体温の推移には差異はないが , CRP 値は術 1 日 (白除群  $5.61 \pm 3.06\text{mg/dL}$  : 非白除群  $8.32 \pm 3.89\text{mg/dL}$ ) , 2 日 (白除群  $17.75 \pm 2.70\text{mg/dL}$  : 非白除群  $21.30 \pm 5.66\text{mg/dL}$ ) で有意の差をもって白除群が低値の推移を示した .

### 合併症

凝集塊により輸血に供せない製剤はなく , また自己血輸血によると考えられる合併症もなかった .

## 考 案

白血球が残存したままの血液保存は , 白血球からの種々の生理活性物質<sup>1,2)</sup>が遊離し赤血球や血小板機能低下が生じ , 凝血塊の発生<sup>3,4)</sup>や溶血の亢進が起こり , 遊離ヘモグロビンやカリウムの上昇が起こるとされる保存障害の予防<sup>5)</sup>と , 同種血よりも細菌汚染のリスクの高い自己血貯血において白血球を除去することが , 白血球に貪食されているエルシニア菌 (Yersinia enterocolitica) などの細菌汚染の軽減効果に自己血貯血における白血球除去の意義があるとされる<sup>6,7)</sup> . 更には , 白血球に由来する活性リン脂質が輸血関連急性肺障害 (TRALI :

Table 1 Patients characteristics

	leukocyte reduction		non-leukocyte reduction		
	rheumatic	non-rheumatic	rheumatic	non-rheumatic	
case	8	46	5	62	
age *	50.0 ( 6.5 )	57.0 ( 22.0 )	63.0 ( 7.25 )	62.0 ( 25.0 )	
sex ( m/f )	1/7	8/38	3/2	19/43	#
height ( cm )	150.9 ± 5.4	152.5 ± 7.2	172.6 ± 33.3	154.3 ± 9.3	
body weight ( kg )	54.9 ± 17.1	54.8 ± 9.1	84.4 ± 61.3	56.5 ± 10.9	
autologous blood donation times	3.4 ± 1.3	2.8 ± 1.0	2.8 ± 0.5	3.0 ± 1.2	
amount ( mL )	736.3 ± 201.9	796.4 ± 204.1	710.0 ± 201.3	805.7 ± 312.3	
procedure	AJR 7 fixation 1	AJR 31 fixation 5 plasty 5 extirpation 2 others 3	AJR 5	AJR 46 fixation 5 plasty 1 extirpation 3 others 7	
anesthesia ( min. )	216.3 ± 123.4	244.0 ± 157.9	188.6 ± 32.2	211.9 ± 125.2	
operation ( min. )	164.9 ± 111.6	185.5 ± 137.1	137.2 ± 39.1	157.1 ± 118.8	
bleeding ( mL )	247.5 ± 318.7	440.5 ± 466.8	322.0 ± 297.3	418.9 ± 450.6	
unused autologous blood( U )	0	0	0.2 ± 0.5	0.1 ± 0.4	
used allogenic blood ( U )	0	0	0	0	

\* median ( interquartile range ) others : mean ± standard deviation

#  $p < 0.05$   $\chi^2$  between non-rheumatic diseases in leukocyte reduction and non-reduction

AJR : artificial joint replacement

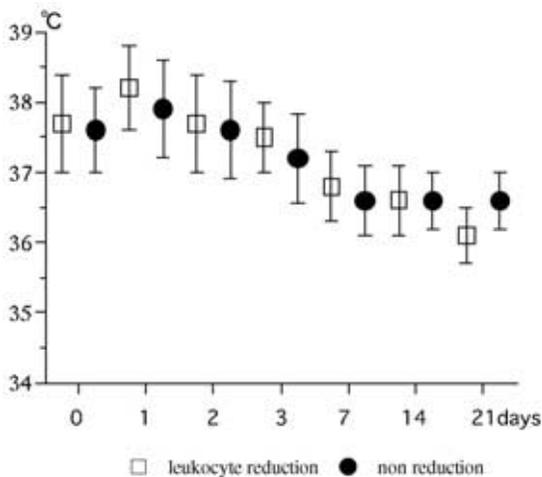


Fig. 1 Body temperature after operation. A peak is seen on the 1<sup>st</sup> postoperative day.

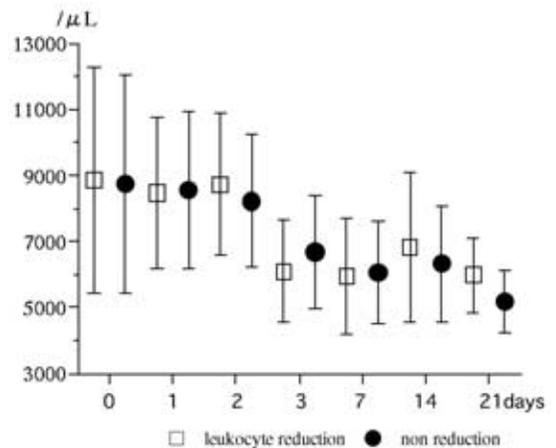


Fig. 2 White blood cell count after operation. Values increased just after operation and decreased gradually thereafter.

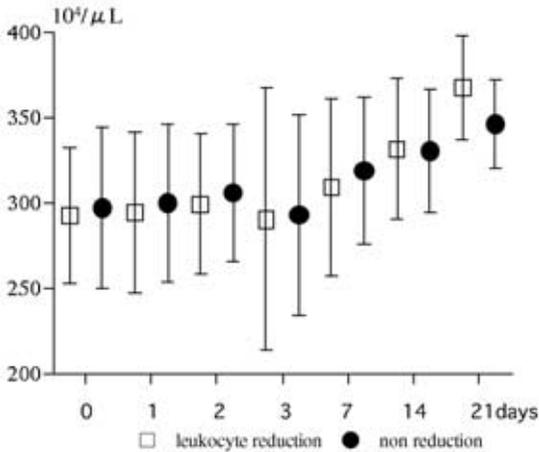


Fig. 3 Red blood cell count after operation. Values decreased just after operation and increased gradually thereafter.

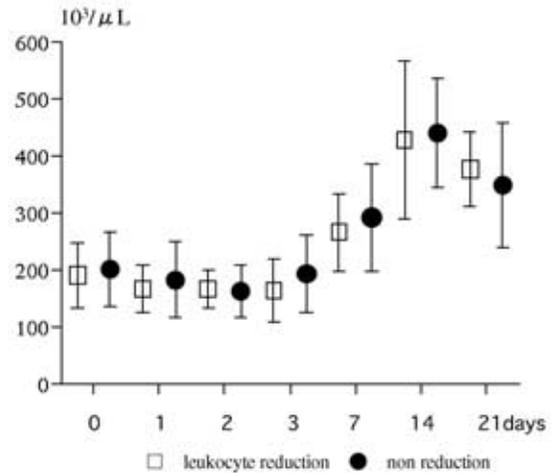


Fig. 5 Platelet count after operation. Values decreased after operation and increased gradually thereafter.

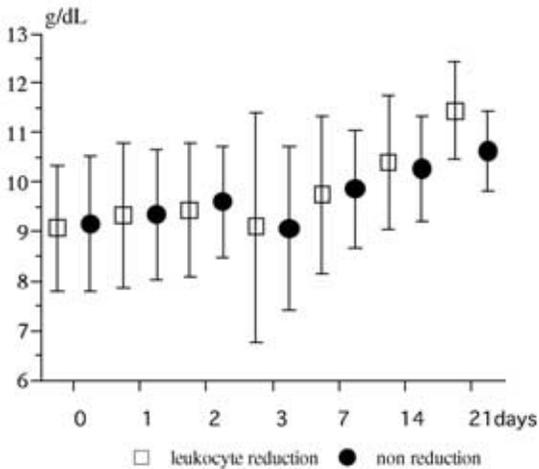


Fig. 4 Hemoglobin after operation. Changes were the same as those for red blood cell count.

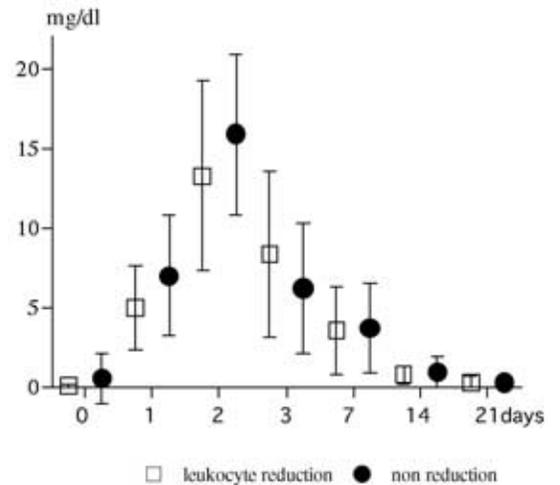


Fig. 6 C reactive protein after operation. Values peaked on the 2<sup>nd</sup> postoperative day. The leukocyte reduction group showed lower values on the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> postoperative day.

transfusion-related acute lung injury) を起こすメカニズムを遮断できる可能性なども考えられている<sup>8)</sup>。自己血では同種免疫反応は起こらないが、保存中に可溶性 FAS ligand<sup>9)</sup>やその他の同種免疫反応に起因しない非特異的な免疫抑制物質が遊離する可能性もあり、その除去の効果も考えられている<sup>10)</sup>。今回の検討は体温、白血球数、CRP など保存障害や細菌汚染を検討したものである。

凝集塊の発生予防については効果ありとの報告<sup>10)-12)</sup>があるが、最近の報告<sup>12)</sup>に自己血の湿重量を測定し  $450 \pm 500\text{mg}$  を、貯血前白血球除去を行うことで  $6.0 \pm 6.3\text{mg}$  としえ、凝集塊の発生をほぼ完全に予防できたともある<sup>12)</sup>。本検討では両群に凝集塊のため使用できなかった製剤はなかった。

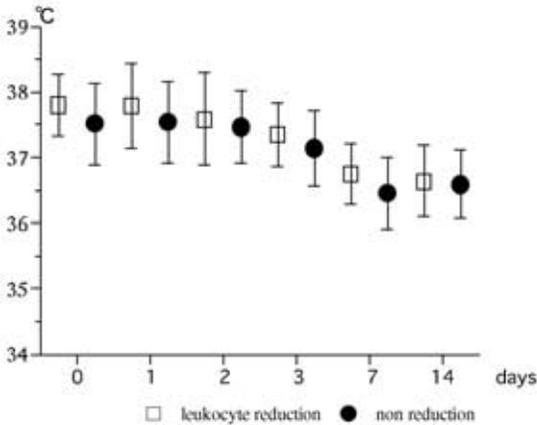


Fig. 7 Body temperature after operations of more than 200 min time under anesthesia. No significant difference between the groups is seen.

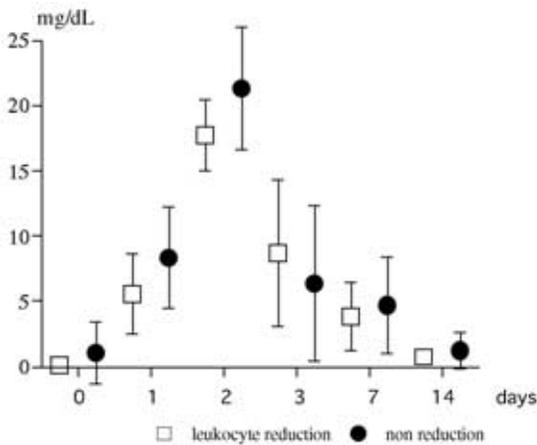


Fig. 8 C reactive protein after operations of more than 200 min time under anesthesia. A significant difference is seen on the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> postoperative days.

貯血前白血球除去における本フィルターは、白血球 98.8%、血小板 97.1% の除去能を示した。本フィルターの性能の 4log 台に比較すれば低値であるが、自動血算機を用いた臨床での計測値であること、使用した Sysmex 社製 KX-21 の最小値 0 の次は  $1 \times 10^2 / \mu\text{L}$  であることから過大に計測されたこと、数人の医師が処理を行っていることに問題があったものと考えられる。

使用したフィルターは 400mL の採血、室温 3 時間静置した後、濾過した 5 バックによる検討で、白血球数は検出限界が  $0.01 / \mu\text{L}$  の方法で除去率が  $99.998 \pm 0.001\%$ 、 $4.76 \pm 0.23 \log$  と報告されている<sup>13)</sup>のものであり、今回の自動血算機による数値は前述の評価<sup>13)</sup>との比較に耐えうるものではないし、本研究はフィルターの性能の評価を企図したものでない。

白血球除去フィルターの不確実性は指摘されており、種々の条件で大きく変動するとされ、温度、濾過速度、製剤の保存年齢などの条件でその効率は大きく低下し最大 2log の幅の変動があるとも指摘されている<sup>14)15)</sup>のであるから濾過などの処理は担当者を限定して行い、同一条件とすべきであった。ヘモグロビンの回収率には差がないとされる<sup>16)</sup>が本研究では 4.7% のロスを認めた。この原因も白血球除去に時間を要することや数人の医師が携わっているための手技的な問題もあるかと考える。

無作為に症例を割り当てたが、統計学的には有意の差がないものの白除群が若年で、麻酔時間、手術時間が長い傾向にあったのに、検討項目に差異はなかったことや術当日や術 1 日の CRP が低値であったことは自己血貯血前の白血球除去の意義があることを示唆するのではと考え、麻酔時間が長いもののみ抽出し検討した。麻酔時間を 200 分以上としたのは 2 群の症例数がほぼ均等で、検討しえる数と考えられたこと他には根拠はない。

麻酔時間 200 分以上の 2 群にわたる検討では CRP 値が術 1 日、2 日と有意に白除群で低値であったことも、前述の示唆を支持するものと考えている。一般に自己血輸血では発熱反応が問題になることは少ないが自己血も保存中に白血球からサイトカインが産生され蓄積される<sup>1)2)</sup>ので、白血球除去群で体温が低値となる可能性はあったが、体温に差異はなかった。

勿論、手術侵襲による影響が大きく考えられる体温や CRP 値の変動が白血球除去のみで検討されるものではない。また、白血球除去された自己血が用いられた白除群と非白除群の術後の白血球

数値の推移にも差異がないことは有意の差異を求めるなら術後の白血球数の推移に影響を与えるほどの量の自己血を使用せねばならないのではないかと考える。

自己血輸血の分野における白血球除去は議論の余地がある<sup>17)18)</sup>が、血液長期保存に伴う障害から自己血輸血も、その安全性を高めることは意義があるので今後とも検討が必要である。

### まとめ

白血球除去群で手術侵襲が大である傾向があるのに、術後のCRPは非白血球除去群より術当日～2日間低値を推移したことは自己血における白血球除去に意義がある可能性が示唆されたが、臨床的有用性を明らかにするには至らなかった。

### 文 献

- 1) Shanwell, A., Kristiansson, M., Remberger, M., et al. : Generation of cytokines in red cell concentrates during storage is prevented by prestorage white cell reduction. *Transfusion*, 37 : 678-684, 1997.
- 2) Federowicz, L., Barrett, B.B., Andersen, J.W., et al. : Characterization of reactions after transfusion of cellular blood components that are white cell reduced before storage. *Transfusion*, 36 : 21-28, 1996.
- 3) Lovric, V.A., Schuller, M., Raftos, J., et al. : Filtered micro aggregate-free erythrocyte concentrates with 35-day shelf life. *Vox. Sang.*, 41 : 6-10, 1981.
- 4) Gottschall, J.L., Johnston, V.L., Rzard, L., et al. : Importance of white blood cells in platelet storage. *Vox. Sang.*, 47 : 101-107, 1984.
- 5) 佐竹正博 : 自己血の白血球除去. *日自輸血誌*, 16 : S8, 2003.
- 6) Wagner S.J., Robinette, D., Dodd, R. : Factors affecting *Yersinia enterocolitica* (serotype 0 : 8) viability in deliberately inoculated blood. *Transfusion*, 33 : 713-716, 1993.
- 7) 大谷慎一 : 自己血の白血球除去について 当院における現況. *日自輸血誌*, 16 : 13-16, 2003.
- 8) 佐竹正博 : 自己血白血球除去の新たな効用の可能性について. *日自輸血誌*, 16 : 13-16, 2003.
- 9) Ghio, M., Contini, P., Mazzei, C., et al. : Soluble HLA class I, HLA class II, and Fas ligand in blood components : a possible key to explain the immunomodulatory effects of allogeneic blood transfusions. *Blood*, 93 : 1770-1777, 1999.
- 10) 榊井里美, 永沢雅英, 川村 薫, 他 : 赤血球 M・A・P「日赤」保存中に発生する MACROAGGREGATES. *血液事業*, 18 : 49-56, 1995.
- 11) 矢野真紀, 岡田基文, 豊田 庸, 他 : RC-MAPの微小凝集塊について 構成成分の検討. *日輸血会誌*, 42 : 83-89, 1996.
- 12) 比留間潔 : 同種血および自己血輸血における保存前白血球除去の意義. *日自輸血誌*, 15 : 129-137, 2002.
- 13) 佐藤雅子, 秋野光明, 吉田 桂, 他 : CPDA-1液を保存液とした保存前白血球除去全血の性状. *自己血輸血*, 14 : 137-142, 2001.
- 14) 半田 誠 : 輸血による重篤な合併症・副作用とその対策. 輸血後 GVHD 発症予防対策および治療. 白血球除去フィルターの有用性と限界. *日本臨床*, 55 : 2282-2289, 1997.
- 15) Yomtovian R., Gernsheimer T., Assmann S.F., et al. : WBC reduction in RBC concentrates by prestorage filtration : multicenter experience. *Transfusion*, 41 : 1030-1036, 2001.
- 16) 面川 進, 能登谷 武, 熊谷美香子, 他 : 成分分離保存自己血における保存前白血球除去の影響. *日自輸血誌*, 14 : 119-124, 2001.
- 17) 秋野光明, 佐藤雅子, 栗倉裕美, 他 : 自己血における保存前白血球除去の有用性. *日自輸血誌*, 14 : 132-136, 2001.
- 18) 田崎哲典, 諏訪部章 : 自己血の保存前白血球除去を考える. *日自輸血誌*, 16 : S10, 2003.