

総説

顆粒球輸血療法—ドナーからの顆粒球採取を中心に—

池本純子^{*1}・吉原哲^{*2}・甲斐俊朗^{*1}^{*1} 兵庫医科大学輸血部, ^{*2} 同血液内科

Granulocyte Transfusion Therapy : Focus on Granulocyte Collection from Donors

Junko Ikemoto^{*1}, Satoshi Yoshihara^{*2} and Shunro Kai^{*1}^{*1} Department of Transfusion Medicine, and ^{*2} Division of Hematology, Department of Internal Medicine, Hyogo College of Medicine

Summary Bacterial and fungal infections during the neutropenic period remain one of the most important causes of mortality in patients with hematologic malignancies. Several studies have shown that the transfusion of granulocyte concentrates, which are collected from healthy donors after mobilization with granulocyte colony-stimulating factor, result in a substantial increase in the patient's absolute neutrophil count. The efficacy of granulocyte transfusions in the improvement of clinical outcomes has been suggested in several studies, although large, randomized controlled trials should be conducted to corroborate this. The purpose of this review is to overview granulocyte transfusion therapy with a particular focus on granulocyte collection from healthy donors.

Key words : granulocyte transfusion, apheresis, granulocyte colony-stimulating factor, dexamethasone, hydroxyethyl starch

1. はじめに

好中球を中心とする顆粒球は、細菌、真菌に対する免疫防御のうえで極めて重要な役割を担っている。そのため好中球の減少した患者（特に好中球が500/ μ l未満の患者）は、重症の細菌、真菌感染症を発症する頻度が高い。好中球減少の原因は、再生不良性貧血など疾患そのものにある場合と、強力な化学療法や造血幹細胞移植の前処置（化学療法・放射線療法）など治療に関連したものがある。後者の場合、自己（あるいは移植ドナーの幹細胞由来）の好中球が回復してくるまでの期間に感染症をコントロールできるかどうかの問題となる。

抗生剤、抗真菌剤の進歩により好中球減少に伴う感染症の致死率は低下してきたが、現在も死因の重要なもののひとつである。また、近年、抗生剤の効果を得られない耐性菌が増加していることも大きな問題となっている。

以上より、好中球の減少を背景とした細菌、真菌感染症に対して、健常人から顆粒球を採取して輸血することは合理的な治療であると考えられる。顆粒球輸血療法は、1964年に初めて報告され1970年代には盛ん

に行われていた¹⁾が、臨床効果は報告によって異なり、定まった評価が得られなかったことなどから徐々に行われなくなった。しかしながら、1990年代になってドナーに顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）を投与することにより顆粒球を末梢血に動員する方法が報告され、再び本治療法が注目を集めている^{2,3)}。その理由は、G-CSFにより得られる顆粒球数が大幅に増加し、臨床効果が期待されるためである。実際、顆粒球輸血の効果が否定的とされたG-CSF導入以前の報告における輸注顆粒球数の中央値が 5.0×10^9 であった⁴⁾のに対し、G-CSFとステロイド（デキサメタゾン）を併用して顆粒球を動員した報告における輸血顆粒球数は 8.2×10^{10} と10倍以上になっている⁵⁾。本稿では、ドナーからの顆粒球採取を中心に、顆粒球輸血療法について概説する。なお、日本輸血・細胞治療学会顆粒球輸血小委員会より顆粒球輸血に関するガイドラインが作成されているので、そちらも参照されたい^{6,7)}。また、本治療法は確立されたものではなくG-CSFの使用も保険適応となっていないため、臨床研究として施設倫理委員会等の承認のもとで実施されるべきである。

2. 顆粒球採取

2.1 顆粒球採取の概要

体内に存在している顆粒球のうち、血流によって循環しているものはごくわずかで、多くは骨髓や肺血管等に滞留している。これらを薬剤により末梢血循環に「動員」したうえで「ハーベスト」するというのが採取の概要である。

2.2 ドナー選択

海外からの報告では、通常の献血と同様にボランティア・ドナーから顆粒球が採取されている。しかしながら、本邦では患者の親族あるいは友人から行われることがほとんどである。前述のガイドラインには、親族以外からの採取は積極的には勧められない旨が記載されている。採取された顆粒球製剤には一定の赤血球の混入が避けられないため、顆粒球ドナーはレシピエントに対して血液型適合または副不適合である必要がある。

また、健常人ドナーに対して G-CSF を投与するため、同種末梢血幹細胞移植ドナー（以下、移植ドナー）に準じた適格基準を適用すべきと考えられる。移植ドナーの年齢基準は 18～60 歳であるため、10 歳以上 18 歳未満および 61 歳以上 65 歳以下のドナー候補者については、倫理委員会での審議を経るなど各施設の責任により慎重に適格性を判定する。適格性判断のためには、問診と診察（血圧、脈拍、体温呼吸数などのバイタルサインチェック）、胸部 X 線写真、ECG、腹部エコー（脾腫がないことの確認）、全血球計算値、生化学、感染症検査などの検査を実施する。移植ドナーにおいて G-CSF 投与を避けるケースとして挙げられている基準を表 1 に示す。

2.3 顆粒球動員

顆粒球動員は、G-CSF 皮下注射単独、または G-CSF 皮下注射とステロイド内服併用により行われる。G-CSF の投与量は 5～10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ または 300～600 $\mu\text{g}/\text{body}$ 、ステロイドはデキサメタゾン 8 mg 内服が用いられることが多く、いずれも採取の 12～18 時間前に投与する。ステロイドの併用は顆粒球の採取量を増加させる⁸⁾が、顆粒球を繰り返し提供したドナーにおいては、長期的に白内障の発症リスクを上昇させる可能性もある^{9,10)}。一方、G-CSF 単独投与は末梢血幹細胞ドナーに対して保険適応になっており、安全性に関して多くのデータが蓄積されている。以上より、ドナーの安全性という観点から、特に同一ドナーから反復し

表 1 移植ドナーにおける G-CSF 投与の除外基準

- ・ G-CSF に対するアレルギーのある人
- ・ 妊娠あるいは妊娠している可能性のある人
- ・ 血栓症の既往のある人
- ・ 冠動脈疾患または脳血管障害の既往のある人
- ・ 治療を必要とする心疾患、肺疾患、腎疾患、肝疾患を有する人
- ・ 治療または精密検査が必要な臨床検査値異常を有する人（ただし、軽度で是正可能と考えられる鉄欠乏性貧血は除く）
- ・ 自己免疫疾患を有する人
- ・ 神経疾患を有する人
- ・ コントロール不良の高血圧を有する人（安静時収縮期 >160 mmHg または拡張期 >100 mmHg）
- ・ コントロール不良の高脂血症を有する人（総コレステロール >240 mg/dl）
- ・ 投薬治療が必要な糖尿病（空腹時血糖 >125 mg/dl または随時血糖 \geq 200 mg/dl）を有する人
- ・ 脾腫を認める人
- ・ 白血球増多、血小板増多など骨髓増殖性疾患が疑われる人
- ・ 間質性肺炎を合併あるいは既往として有する人
- ・ 悪性腫瘍の既往

て顆粒球を採取する場合には G-CSF 単独による動員が望ましいと考えられる。当院では、全例において G-CSF（フィルグラスチム）600 $\mu\text{g}/\text{body}$ 単独による動員を行っている。

2.4 顆粒球ハーベスト

2.4.1 アフェレシス法

アフェレシス法では、遠心型血液成分分離装置によってドナー血液中の顆粒球を比重遠心により分離する。体外循環は、末梢の静脈から行うことを原則とし、末梢静脈が確保困難な場合や十分な血流が得られない場合のみ中心静脈より行う。アフェレシス時は、少なくとも 1 名の医療スタッフ（医師、看護師、臨床工学技士など）により常時監視を行う。当院では、採取中は心電図モニターを装着し、定期的に血圧の測定を行っている。

顆粒球層は、比重が 1.087～1.092 とパフィーコートでも一番下層（赤血球の近く）に存在する。これに合わせて血液成分分離装置を設定し、顆粒球層を採取する（COBE SPECTRA には顆粒球採取モードがある）。抗凝固剤としては、クエン酸を用いる。アフェレシス時に赤血球沈降剤として高分子の hydroxyethyl starch (HES) を用いると赤血球と顆粒球の分離が促進され、顆粒球の収量が増加すると同時に、赤血球、他の白血球分画（単球、リンパ球等）の混入が減少する⁸⁾。ただし、本邦では臨床グレードの高分子 HES が市販されておらず、（施設倫理委員会からの承認に

基づいて) 海外から輸入して使用する必要がある。また、HESには、アナフィラキシー・ショック、循環血漿量の増大、腎尿管への沈着といった副作用の懸念がある。低分子HESは本邦でも使用可能であるが、その効果は高分子HESより劣るとされている。当院では、7Lのアフェレシスを行っているが、クエン酸30mlに対して高分子HES 500mlの割合で、アフェレシス中持続的に抗凝固剤注入ルートから投与している。

2.4.2 バッグ法

バッグ法は、全血採血後に遠心分離して顆粒球層を輸血するものであり、アフェレシスに伴うリスクを回避することができる。具体的には、ドナーから全血400mlを採血し、20°C、1,500回転、15分間遠心分離を行う。分離スタンドを用いて血漿成分を1つ目の子バッグに分離し、次にバフィーコート、赤血球層の上部約1/3(全血400mlのうち約80ml)を含む部分を2つ目の子バッグ(=顆粒球製剤)に分離する。1つ目の子バッグ内の血漿は、残った血球成分と再び混和してドナーに返血する。菊田らは、この方法により、 6.2×10^9 の顆粒球が得られたことを報告している¹¹⁾。アフェレシス法に比べると得られる顆粒球数は少ないが、小児等の体重の小さい患者を対象とする場合には有用性が高いと考えられる。

2.5 採取後の処理

顆粒球製剤内に含まれるリンパ球が患者の体内で増幅すると輸血後移植片対宿主病(GVHD)の原因となりうる。そのため、顆粒球製剤には放射線照射(15~30Gy)を行った後に患者に輸血する。顆粒球は時間の経過とともに抗細菌・真菌活性が低下するとともに、バッグ内で炎症性サイトカインが放出されて輸血に伴う合併症リスクを増加させる可能性があることから、可能な限り速やかに患者に輸血すべきであるとされてきた。一方で、10°Cで24時間保存しても活性は十分残存し、サイトカイン産生も大きな問題にならないという報告もある¹²⁾。毎日異なるドナーから顆粒球を採取して患者に輸血する、というのは現実的には困難であるため、特に小児等の体重の小さい患者に対しては、採取した顆粒球を2日に分けて投与するという治療戦略も考えられる。

2.6 顆粒球採取に伴う合併症

2.6.1 顆粒球動員に伴う合併症

顆粒球動員のために投与するG-CSFは1回のみであり、同種末梢血幹細胞ドナーにおける総投与量に比

べるとはるかに少ない。骨痛(腰痛)を認めることがあるが、通常軽度であり数日以内に軽快する(必要に応じて鎮痛剤を投与する)。発熱、頭痛、関節痛といったインフルエンザ様の症状を訴えることもある。その他、顆粒球ドナーにおけるものではないが、G-CSFの投与に伴う合併症として、頻度は少ないがショック、悪心・嘔吐、皮疹、脾破裂等が報告されている。

前述のとおり、ステロイドを含む動員法により顆粒球を繰り返し提供したドナーにおいて長期的な白内障の発症リスクが上昇する可能性が指摘されている^{9,10)}。献血の一種としてボランティア・ドナーから顆粒球採取が行われている海外と異なり、本邦では顆粒球を繰り返し提供するケースは少ないと考えられるが、これらのドナーに対しては定期的な眼科検診を勧める必要がある。

2.6.2 顆粒球ハーベスト(アフェレシス法)に伴う合併症

抗凝固剤としてクエン酸を用いるため、クエン酸中毒症状による口唇・四肢末端のしびれ感がしばしば認められる。そのため、当院では、予防的にグルコン酸カルシウムを返血ルートに加えながらアフェレシスを行っている。また、顆粒球採取以外のアフェレシスと同様に、血管迷走神経反射による血圧低下・気分不良、脱血不良、穿刺部の血腫等を認めることもある。アフェレシスに伴って血小板の低下も認める。

2.7 同種末梢血幹細胞ドナーからの顆粒球採取

同種末梢血幹細胞ドナーは、G-CSFを4~5日連日投与された後にアフェレシスにより単核球分画を採取される。アフェレシスは、十分量の造血幹細胞が得られるまで、1~3日間程度行われる。当院では、末梢血幹細胞の凍結保存を行っておらず、幹細胞採取初日が移植日(day 0)となる。そのため、ドナーから造血幹細胞を採取する時点で患者は好中球減少状態にあり、感染症を併発していることもある。このようなケースで、かつ1日ないし2日のアフェレシスでドナーから十分量の造血幹細胞が得られた場合、幹細胞採取の翌日に顆粒球採取を目的としたアフェレシスを行っている¹³⁾。連日のアフェレシスとなるため、特に血小板数に注意が必要である。

3. 顆粒球輸血

3.1 対象となる症例

顆粒球輸血の対象となるのは、好中球減少期(好中

球 $<500/\mu\text{l}$)における抗生剤, 抗真菌剤不応の難治性重症感染症とされることが多い。しかしながら, 一旦感染症が重症化すると顆粒球輸血を行っても予後は不良であるため, 好中球減少期に重症感染症を起こした既往を持つ症例を対象とした予防的顆粒球輸血(2次予防)の臨床試験も行われている。

3.2 顆粒球輸血の方法

ステロイド等の前投薬投与後に経静脈的に輸血する。1~2時間で輸血するという報告が多いが, 後述する肺障害の懸念から, 当院は6時間以上かけて緩徐に輸血することが多い。また, 顆粒球輸血中または直後にアムホテリシンBを投与した患者に急性肺障害がみられたとの報告があることから¹⁴⁾, 顆粒球輸血とアムホテリシンBないしアムホテリシンBリポソーム製剤投与の間には4時間以上隔てることが望ましい。

3.3 顆粒球輸血に伴う合併症

顆粒球輸血を受けた患者における最も重要な合併症のひとつは, 急性の肺障害である。急性肺障害合併のリスク因子として, 顆粒球輸血時の肺炎の存在, 高窒素血症, 輸血量($>250\text{ ml/day}$)が挙げられている¹⁵⁾。当院でも, 肺炎が存在する症例に顆粒球輸血を行った後, 急激に浸潤影が増悪したケースを経験している。顆粒球が感染部位に到達し, 局所でサイトカインを大量に産生することにより肺障害をきたしている可能性が考えられるため, 当院では, 前投薬の強化, 輸血速度を緩徐にする等の対応を行っている。

3.4 顆粒球輸血の有効性

顆粒球輸血の有効性については, 一施設の比較的小規模な臨床試験や数多くの症例報告において報告されている^{16,17)}。しかしながら, ランダム化第III相試験の報告は1つしかなく, この研究は登録症例数が目標症例数の半分以下で早期終了され, 統計学的に有意な有効性を示すことはできなかった¹⁸⁾。ランダム化試験への登録が進まなかった原因のひとつは, 生命に危険のある患者に対して顆粒球輸血という救命の可能性がある治療法がある状況で, その治療法を行うかどうかのランダム化を行うことに患者, 医師とも抵抗がある, というものであった。

最近, 米国において大規模な第III相ランダム化比較試験(the Resolving Infections in Neutropenia with Granulocyte Study, the RING study)が開始された¹⁹⁾。本試験により顆粒球輸血の有効性が証明されれば, その意義は非常に大きいものと期待される。

4. おわりに

顆粒球輸血は, ドナーに一定の負担およびリスクをもたらす治療法であり, それ以外の方法(抗生剤, 抗真菌剤による治療)に優先されるべき治療法ではない。しかしながら臨床の現場では, もし数日好中球が早く回復していれば救命し得た可能性があると思われる感染症死亡を未だに多数経験する。当院の経験からは, 本治療法は少なくとも一部の症例に対しては極めて有効であり, それ以外の治療法では救命し得ない症例を救命し得るものであると考えている。

顆粒球輸血の安全性および有効性を検証するため, 本邦においても多施設で共通プロトコルにより前方視的試験を行うべきである。そのためには, 顆粒球採取法(動員・ハーベスト)の早急な標準化が望まれる。

文 献

- 1) Graw RG, Jr, Herzig G, Perry S, Henderson ES: Normal granulocyte transfusion therapy: Treatment of septicemia due to gram-negative bacteria. *N Engl J Med* **287**: 367-371, 1972
- 2) Peters C: Granulocyte transfusions in neutropenic patients: Beneficial effects proven? *Vox Sang* **96**: 275-283, 2009
- 3) Price TH: Granulocyte transfusion: Current status. *Semin Hematol* **44**: 15-23, 2007
- 4) Winston DJ, Ho WG, Gale RP: Therapeutic granulocyte transfusions for documented infections. A controlled trial in ninety-five infectious granulocytopenic episodes. *Ann Intern Med* **97**: 509-515, 1982
- 5) Price TH, Bowden RA, Boeckh M, et al: 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**: 3302-3309, 2000
- 6) 大坂顕通, 大戸 齊, 菊田 敦, 他: 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* **50**: 739-745, 2004
- 7) Ohsaka A, Kikuta A, Ohto H, et al: Guidelines for safety management of granulocyte transfusion in Japan. *Int J Hematol* **91**: 201-208, 2010
- 8) Ikemoto J, Yoshihara S, Fujioka T, et al: Impact of the mobilization regimen and the harvesting technique on the granulocyte yield in healthy donors for granulocyte transfusion therapy. *Transfusion* 2012 Apr 23, doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03661.x.
- 9) Clayton JA, Vitale S, Kim J, et al: Prevalence of posterior subcapsular cataracts in volunteer cytapheresis donors. *Transfusion* **51**: 921-928, 2011
- 10) Ghodsi Z, Strauss RG: Cataracts in neutrophil donors stimulated with adrenal corticosteroids. *Transfusion* **41**: 1464-1468, 2001
- 11) Kikuta A, Ohto H, Nemoto K, et al: Therapeutic transfusions of granulocytes collected by simple bag method for

- children with cancer and neutropenic infections: Results of a single-centre pilot study. *Vox Sang* **91**: 70-76, 2006
- 12) Hubel K, Rodger E, Gaviria JM, et al: Effective storage of granulocytes collected by centrifugation leukapheresis from donors stimulated with granulocyte-colony-stimulating factor. *Transfusion* **45**: 1876-1889, 2005
 - 13) Ikemoto J, Yoshihara S, Fujioka T, et al: Impacts of the mobilization regimen and the harvesting technique on the granulocyte yield in healthy donors for granulocyte transfusion therapy (in press)
 - 14) Dutcher JP, Kendall J, Norris D, et al: Granulocyte transfusion therapy and amphotericin B: Adverse reactions? *Am J Hematol* **31**: 102-108, 1989
 - 15) Kim KH, Lim HJ, Kim JS, et al: Therapeutic granulocyte transfusions for the treatment of febrile neutropenia in patients with hematologic diseases: A 10-year experience at a single institute. *Cytotherapy* **13**: 490-498, 2011
 - 16) Kerr JP, Liakopolou E, Brown J, et al: The use of stimulated granulocyte transfusions to prevent recurrence of past severe infections after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* **123**: 114-118, 2003
 - 17) Safdar A, Rodriguez GH, Lichtiger B, et al: Recombinant interferon gamma1b immune enhancement in 20 patients with hematologic malignancies and systemic opportunistic infections treated with donor granulocyte transfusions. *Cancer* **106**: 2664-2671, 2006
 - 18) Safdar A, Hanna HA, Boktour M, et al: Impact of high-dose granulocyte transfusions in patients with cancer with candidemia: Retrospective case-control analysis of 491 episodes of *Candida* species bloodstream infections. *Cancer* **101**: 2859-2865, 2004
 - 19) Dale DC, Price TH: Granulocyte transfusion therapy: A new era? *Curr Opin Hematol* **16**: 1-2, 2009