輸血後 GVHD の基礎と臨床

日本赤十字社中央血液センター
田所　憲治

1. はじめに

輸血後移植片対宿主病 Post-transfusion graft-versus-host disease（輸血後 GVHD）は，通常は異物として認識され速やかに排除される供血者リンパ球が排除されずに生着，増殖し，逆に受血者の主要組織適合抗原 HLA を非自己 not-self として認識し受血者組織を攻撃，傷害することによって起きる致死的な疾患である。

2. 輸血後 GVHD の頻度

1987 年日本輸血学会，日本胸部外科学会が合同で胸部外科医にアンケート調査を行ったところ，658.9 件の心臓手術に 1 件の輸血後 GVHD が発症していた。1991 年から 1992 年にかけて日本赤十所社は 1986 年以降 5 年間に経験した，輸血後 GVHD と考えられる症例について全国の臨床医にアンケート調査を行った。寄せられた 304 例中 171 例が臨床的に本症と診断された。1992 年以降赤十字血液センターでは医薬情報部を設置し，副作用症例の全国的な収集，解析を行っている。1993～96 年の間に輸血後 GVHD を疑われた副作用報告が 171 例あり，その内 41 例が後述する解析法により輸血後 GVHD と判断された。「緊急安全性情報」が 2 度出された後の 1997 年にも報告 67 件中 14 例が輸血後 GVHD と判断された。

3. 輸血後 GVHD の臨床像

典型的な例ではほぼ全例で輸血後 1～2 週間後に 38°C 以上の発熱，紅斑が出現する。紅斑は数日の内に全身に広がり，紅皮症となる。発熱，紅斑に続いて肝障害が，また約 30% の症例では下痢，下血が出現する。次いでほぼ全例で顆粒球減少，白血球減少，血小板減少，網状赤血球低下が現れる。このような時には骨髄は，有核細胞がほとんど無く，骨髄無形成の状態になっている。各種治療にもかかわらず 1 例を除き全例が死亡した。

4. 診　断

輸血後 1～2 週間後に発熱，紅斑（紅皮症）が出現し，続いて肝障害，（下痢・下血），汎血球減少症，骨髄無形成がおおよそこの順に出現したときは，輸血後 GVHD が強く疑われる。確定診断には他人のリンパ球が患者の血液，障害組織に生着し増殖していること，即ち，キメリズムが存在することを証明することが必要である。最近，我々はマイクロサテライト DNA を用いた遺伝子診断法を開発し，検査を行っている[1]。マイクロサテライト DNA は種々の染色体に存在する 2 ないし 4 個のヌクレオチドの繰り返し構造で，その繰り返し数が個人によって異なる（これを多型性があるという）。5 種のマイクロサテライト DNA を用いて比較するとほぼ完全に個人の識別が可能である。四肢の爪（患者本来の型を持つ）と発症時の末梢血白血球から DNA を抽出し，5 種のマイクロサテライト DNA に特異的なプライマーを用いた PCR で増幅後，電気泳動し，繰り返し数（大きさ）の違いを泳動度によって比較する[2]。非 GVHD 患者では爪と発症時血液の泳動パターンは 5 種のマイクロサテライトすべてで一致するが GVHD ではその 1 種以上でパタ泳動パターンが異なる。輸血後 GVHD 発症時には末梢血中では供血者リンパ球が圧倒的に優勢となっている。

5. 輸血後 GVHD のエフェクター細胞

末梢血で優勢となっているドナー由来リンパの大部分が CD 8 陽性の細胞障害性 T 細胞である。紅斑，紅皮症をおこした皮膚を免疫組織染色すると，上皮層にはドナー由来の CD 8 陽性細胞が，好酸性壊死，satellite cell necrosis を起こした表皮

Presented by Medical*Online

細胞の近傍に浸潤しているのが観察される。真皮層にはこれに加えてCD 4 細胞の浸潤が認められる。

最近，Wang ら[3]は輸血後GVHD患者血液のT細胞レセプターの抗原結合部位に用られているVβ遺伝子を解析した。それによると患者血液中のT細胞レセプターには限られたVβファミリーのみが利用されており，限られたクローンが生着，増殖していると考えられた。

一方，西村ら[4,5]は輸血後GVHD患者血液から細胞クローンを樹立した。樹立された細胞クローンは，CD 8 陽性T細胞，CD 4 陽性T細胞，B細胞でいずれのT細胞クローン，産生抗体も供血者リンパ球とは異なる受血者HLAを標的抗原としていた。これらの結果は，輸血後GVHDが受血者のHLAを抗原として認識し，障害する限られたクローンのリンパ球によって起きていることを示している。

6．輸血後発症の機序とその危険因子

従来輸血後GVHD発症の条件としては，マウスの実験を基礎に，①生きたリンパ球が一定数以上輸血されること，②受血者と輸注リンパ球の間にHLAの違いがあること，③受血者側が輸注リンパ球を排除できない免疫不全状態にあることの3つが考えられてきた。41例の確定診断例を解析結果を基にその危険因子について以下に述べる。

1）　原因血液製剤

輸血後GVHDの原因となった血液製剤は全血，赤血球濃厚液，あるいはその組合せが55例中49例と大多数で，それらと濃厚血小板を組み合わせたものが5例であり，濃厚血小板単独によるものは1例であった。赤血球濃厚液，全血で多いのは患者の大多数がこれらを使用する外科系患者であることがその要因と考えられる。新鮮凍結血漿で起きたと言う確かな報告はないが，それ以外の生きたリンパ球を含む輸血用血液では発症の報告が有る。また，これら原因血液の最長保存期間は全血，赤血球-MAPでは各々10，14日であった。保存2週間以内の生きたリンパ球を含む血液が危険と考えられる。また，5例では白血球除去フィルターを用いていたにもかかわらず発症していた。

2）　受血者と供血者のHLAの組み合わせ

重症の細胞性免疫不全の患者では輸注リンパ球のHLAが患者本人の型と異なっていてもこれを排除できない。1例の重症混合性免疫不全の患者ではHLA-A, B, C, DRの内そのほとんど（7/8遺伝子）が異なっていた。

一方，原病に明らかな免疫不全の無い患者の輸血後GVHD例ではHLAホモ接合の血液がそのハプロタイプを一つ持つヘテロ接合の患者に輸血された一方向適合one way-matchの場合が多い。例えばA 24，A 24，B 52，B 52，DR 2，DR 2の血液がA 24，A 33，B 52，B 44，DR 2，DR 13の患者に輸血された場合である。この場合には患者側から見ると輸注リンパ球は自分と共通のHLA型しか持っていないので非自己とは認識されず，排除の対象とはならない。一方輸注リンパ球からみると患者は自分にはないHLAを持っているので攻撃の対象となる。40例は原病に免疫不全の無い患者であったが患者，供血者についてそのHLA-A，B，DRの遺伝子型を調べ得た9例中8例が一方向適合であった。しかも，その内7例がA 24，B 52，DR 2という日本人で最も多いハプロタイプを共有していた。残りの1例ではHLA-Bのみが両方向不適合であったが，他のアリルはやはり一方向適合であった。HLA-DRのみが調べられた8例でも全例が一方向適合であった。こうした組合せになる確率は日本人では330～700回の輸血に1回，血縁者からの輸血では約50回に1回とされており，事実55例中3件が院内採取の血縁者血が原因となっていた。

3）　受血者例の危険因子

今回確定診断された55例の原疾患では，固形癌の手術が22例，心臓血管手術13例，整形外科手術1例，重篤な外傷9例，胃潰瘍/胃癌からの出血4例と前立腺肥大手術時の出血各2例，クモ膜下出血1例（出血量はいずれも1200 ml 以上）と外科系患者が大多数で，内科系では，欧米で多いとされている悪性血液疾患例は無く，慢性貧血2例，SCIDの1例のみであった。NK細胞は同種リンパ球の初期排除に関与するとされているが，外科

Presented by Medical*Online

図1　輸血後 GVHD 背景因子
（1993～1997年）

表　1

輸血用血液の放射線照射の適応

日本輸血学会「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」より

「輸血用血液の放射線照射の適応」

（1）放射線照射が適応となる患者
1. 心臓血管外科手術　2. 癌の外科手術
3. 先天性免疫不全症　4. 造血幹細胞移植
5. 胎児、未熟児　6. 新生児交換輸血
7. 大量出血・重篤な外傷

（2）放射線照射を考慮すべき患者
1. 悪性リンパ腫
2. 白血病およびその他の造血器腫瘍
3. 強力な化学療法、放射線療法を受けている固形腫瘍
4. 臓器移植を受け免疫抑制状態にある患者
5. 高齢者

（3）その他、医師が適応と認めた場合

手術患者では術後に NK 細胞が著明に低下おり，これが一因となって外科系患者に輸血後 GVHD が多いと考えられる。また，年齢別では高齢者で有意に高く，高齢者は危険と考えられる。男性が女性に比して多かったが有意ではなかった。また，約 9 割が初回輸血で発症していた（図 1）。

7.　治療法

発症すると有効な治療法が無くほぼ全例死亡している。胃移植の拒絶反応の治療に用いられている抗 CD 3 抗体とサイクロスポリン，ステロイドによる治療で回復したとする症例があるが，その後同様な治療を行っても回復した例はなく例外的と考えられる。最近，DIC の治療の使われる nafamostat mesylate が細胞傷害性 T 細胞による標的細胞の細胞傷害過程を阻害すること[6]，一時的ではあるが発熱，皮疹，肝障害などの症状の消失，患者顆粒球の回復を見られること[7]が確認された。ドナーリンパ球の障害，排除が可能な他の治療法（抗胸腺グロブリンなど）や免疫抑制療法との組合せにより根治できる希望が生まれてきた。

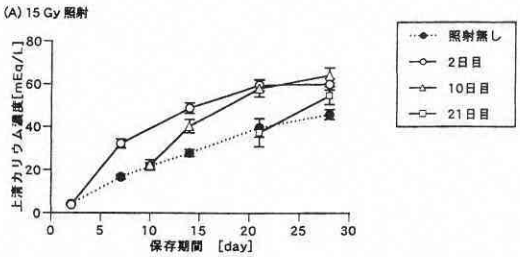

図2　X線照射後の上清カリウム濃度の経時変化

表　2

放射線照射血による高K血症

症例	症状	原疾患・使用理由	輸血方法	血液の種類、量	転機
1	不整脈	―	子宮内胎児輸血	濃厚赤血球	回復
2	心電図異常、無尿	敗血症、DIC	新生児交換輸血	濃厚赤血球 30ml	死亡
3	不整脈	―	小児緊急大量輸血	赤血球MAP	回復
4	徐脈	新生児溶血性	子宮内胎児輸血	濃厚赤血球 20ml	回復
5	心停止	VSD開心術	人工心肺充填液	赤血球MAP	回復
6	心停止	肝切除部出血	急速輸血	赤血球MAP	回復

8.　予防法

有効な治療法が確立されていないため，予防が重要である。具体的には，① 輸血の適応を厳密にし，不必要な輸血を行わない。② 予定された手術では自己血の輸血を行う。③ 輸血用血液に対する放射線照射によりリンパ球を障害する等の方法がある。白血球除去フィルターによる予防は完全ではない。放射線照射の適応については輸血学会の放射線照射のガイドラインⅢを表 1 に示した。照射血液の製造は承認されていないため，照射機器が無い病院に対しては日本赤十字社血液センターが病院との委託契約に基づいて代行照射をしており，ガイドラインに沿った活用がのぞまれる。また，赤十字社は 1997 年暮れ製造承認を得るべく申請を行い 1998 年 4 月に一部の血液について承認を得た。なお，放射線照射血液は保存に伴い赤血球の上清には未照射血液よりも K が増加する（図

Presented by Medical*Online

2)（採血2日目に15Gy照射した21日保存の400 mlの赤血球—MAPには7～8mEqのKが含まれている）ので腎不全，胎児，未熟児，新生児，急速大量輸血では照射後速やかに使うなどの対処が必要である（表2）。また，照射により輸注有核細胞の癌化や混入ウイルスの変異の危険を指摘する報告もある。照射件数は拡大されると予想されるが，その有効性，安全性についても追跡調査が必要であろう。

文　献

1) Wang L, Juji, T, Tokunaga K. et al.: Brief Report: Polymorphic Microsatellite Markers for diagnosis of graft-versus-host disease. New Eng J Med. 330: 398-401, 1994
2) Uchida S, Wang L, Yahagi H. et al.: Utility of fingernail DNA for evaluation of chimerism after bone marrow transpl-antation and for diagnosis testing for transfusion-associated graft-versus-host disease. Blood 87: 4015-6
3) Wang L, Tadokoro K, Tokunaga K. et al.: Restricted Use of T cell receptor Vβ genes in posttransfusion graft-versus-host disease. Transfusion 37: 1184-1189, 1997
4) Nishimura M, Uchida S, Mitsunaga S. et al.: Characterization of T Call Clones derived from peripheral blood lymphoc ytes of apatient with trans fusion-associated graft-versus-host disease: fas-mediated killing by CD 4+ and CD 8+ cytotoxic T cell clones and tumor necrosis factor β production by CD 4+ T cell clones. Blood 89: 1440-1445, 1997
5) Nishimura M, Uchida S, Mitsunaga S. et al.: Evidence of involvement of cytotoxic antibodies directed against patient's HLa class II produced by transfused donor-derived B cells on post-transfustion graft-versus-host disease. Brit J Heamatol 92: 1011-1013, 1996
6) Nishimura M, Akaza T, Tadokoro K. et al.: Potential Usefulness of proteases inbihitor and chloroquine in the treatment of transfusion-associated graft-versus-host disease. Transfusion 37: 769-70, 1997
7) Yahagi H, Uchida S, Takahashi M. et al.: Recovery of patient peripheral blood mononuclear cells after treatment with proteases inhibitor in post-transfusion graft-versus-host disease. Proc. Jap Acad. 73: 79-84, 1997

Presented by Medical*Online