

顆粒球減少症に伴う重症感染症に 対する顆粒球輸注の効果

川崎医科大学 血液内科

武元 良整, 是沢 俊輔, 山田 治
八幡 義人, 柴田 進

同 呼吸器内科

田野 吉彦

(昭和55年5月20日受付)

The Effect of Granulocyte Transfusions to Severe Infections associated Agranulocytosis

Yoshinobu Takemoto, Shunsuke Koresawa
Osamu Yamada, Yoshihito Yawata
and Susumu Shibata

Division of Hematology, Department of
Internal Medicine, Kawasaki Medical School

Yoshihiko Tano

Division of Respiratory Diseases, Department of
Internal Medicine, Kawasaki Medical School

(Accepted on May 20, 1980)

顆粒球減少症では感染症が死亡原因の主因を占める。多くの抗生剤がこのような患者に使用されるが、顆粒球減少時には、ほとんどの薬剤はあまり有効でない。したがって、無顆粒球症で感染症に対しては顆粒球輸注が必要となる。我々は **filtration leukapheresis** を用いて、臨床的に明らかな感染症例で顆粒球数の平均 $102/\mu\text{l}$ 以下の患者に 28 回の顆粒球輸注を行なった。

In vitro での顆粒球機能は採取前・後で比較して有意の差は認められなかった、顆粒球輸注は感染症例 12 例中、8 例に有効であった。

Infection is one of the major causes of mortality in patients with agranulocytosis.

Many kinds of antibiotic drugs have been used for these agranulocytic patients in spite of their unsatisfactory therapeutic effect. Therefore, the transfusion of normal granulocytes is necessary for the management of infection in granulocytopenic patients.

Twenty-eight granulocyte transfusions with filtration leukapheresis were performed at 7 agranulocytic patients with severe infection (peripheral granulocyte counts less than 102 per cubic millimeter). Several side-effects on the procedures were observed at recipients such as fever, chill, and at donors such as discomfort, fever, hematoma and exacerbation of hypertension, respectively. The functions of granulocytes obtained by the procedures appear to be normal, as

examined by chemotaxis, phagocytosis and bacteriocidal activities. Granulocyte transfusions were effective and beneficial in eight of the twelve patients.

はじめに

近年、治療法の長足の進歩によって、従来は絶対不良と考えられていた造血器悪性腫瘍の子後が次第に改善されつつあることは良く知られ

ている。例えば造血器悪性腫瘍のなかでもとくに予後不良である急性白血病においても、5年生存例は着実に増加しつつあり、1978年には本邦において304例に達している¹⁾。その理由の1つは、化学療法剤の進歩によると推定され

Table 1. Results of granulocyte transfusions to severe infections associated agranulocytosis (28 cases)

Donation	Donor	AGE	Sex	Case	Dx.	Infection	Flow (L)	Yield(x10 ¹⁰)	Effect
1	A	45	M	Case 1	APL	1	ND	ND	(-)
2	A	33	M	Case 2	AMoL	1	7.05	ND	(+)
3	B	19	M				5.7	1.27	
4	A	23	F	Case 3	AGL	1	4.35	0.88	(+)
5	B	29	M				1.5	0.15	
6	B	29	M				8.2	2.3	
7	C	28	M				7.0	2.0	
8	D	23	M			3	5.1	1.5	(+)
9	B	29	M				7.5	1.68	
10	D	23	M				5.05	1.2	
11	B	29	M			4	6.89	1.6	?
12	D	23	M				7.1	1.4	
13	E	24	M				5.9	1.56	
14	A	25	M	Case 4	AMoL	1	3.95	6.73	(+)
15	B	28	M				6.1	1.84	
16	C	39	M			2	4.97	0.97	(+)
17	D	30	M				5.85	1.24	
18	A	22	F	Case 5	ALL	1	4.95	0.62	(+)
19	B	21	M				7.1	1.66	
20	A	30	M	Case 6	Malign. Lympho.	1	6.37	1.1	(+)
21	B	33	M				2.55	0.32	
22	A	20	M				7.65	0.96	
23	B	33	M				7.21	ND	
24	A	30	M			2	5.9	1.56	?
25	B	33	M				6.35	1.16	
26	A	30	M	7.30	1.3				
27	A	38	M	Case 7	AGL	1	6.3	1.91	?
28	B	48	F				6.27	1.06	
Average							6.1	1.28 (2.1x10 ⁹ /L)	

るが、その他に経過中の合併症に対する臨床管理の著しい改善も見のがすことができない。すなわち出血に対する血小板輸注、濃厚赤血球輸注、顆粒球減少時の際の無菌室操作、 γ -グロブリン製剤及び抗生剤の投与などがあげられよう。しかし、特筆される点は顆粒球輸注であろう。本法は顆粒球減少症に伴う重症感染症例において、近年その有効性を示す報告が多い^{2)~4)}。

現在、顆粒球の分離法としては、(1) continuous flow centrifugation 法 (以下 CFC と略す)、(2) Haemonetics Model 30 (以下 H-M 30 と略す)、を使用する方法、(3) filtration leukapheresis 法 (以下 FL と略す) の 3 種が知られている⁵⁾。我々は nylon fiber を充填したフィルター内に持続的に血液を通す filtration leukapheresis 法により、続発性顆粒球減少症症例にみられた重症感染症に対して、計 28 回の顆粒球輸注を行ない、その手技、適応、臨床効果について検討を加えたので報告する (Table 1)。

方 法

器具としてはテルモ社製のロイコフェリシスポンプ (ロイカラム TL 2) 及びロイカラムセット (Fig. 1) を用いて、血液循環速度 40~70 ml/分で 2 時間顆粒球採取を施行した。供血者としては血液型適合者であってしかも心・肝・腎の合併症のない健康成人を使用し、可能な限り血縁若年男子を選んだ。顆粒球採取に際し、寒冷時には、循環血液温度 37°C を保つため、ウォーマーコイル (WLB-WP) を使用した。受血者は 38.5°C 以上の発熱を伴う著しい顆粒球減少症 (平均末梢血好中球数 102/ μ l) で、予め使用した抗生剤の無効例に限定した。操作前の供血者の全例に血圧測定を施行し、問診により必要を認めた場合には理学的検査を行なった。操作の概略 (Fig. 1) としては、まず①プライミング液にはヘパリン 5,000 単位を添加した生理的食塩水 500ml を使用し、プライミングポートから本液を注入し、ロイカラムセット内に気泡が残らないように予め十分に脱気を行なっておく。②供血者の肘静脈から 16G 針

を使用して、脱血開始。混注ゴム①からヘパリン 10,000 単位を投与する。流量を 30 ml/分として、装置内のプライミング液を可能な限り除去する。③返血側を静脈穿刺したのち、流量 60 ml/分に変更する。ドリップチェンバーの液面に印をつけ血液循環の状態をチェックする。

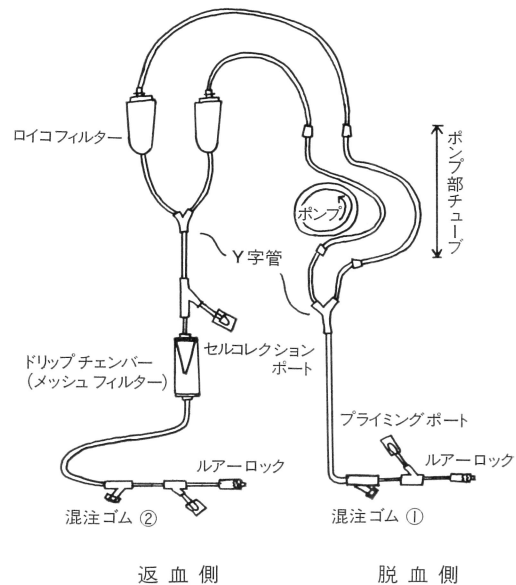


Fig. 1. Filtration leukapheresis system

④ 2 時間後、血液循環を停止し、顆粒球採取を行なう。すなわち、プライミングポートから洗滌液 (生食 500 ml, 供血者と同じ血液型血漿 300 ml, ACD 液 200 ml) を流速 30~60 ml/分で注入し、フィルター内を通過させ、回収装置内に殊存する顆粒球をバッグ (500 ml 容量) 2 個に回収する。この時、顆粒球はフィルターカラムに付着しているのち、このフィルターカラムを棒でたたき、付着した顆粒球を脱落させ、回収する。⑤分離バッグを 1,500 rpm で 15 分間遠心し、(SORVALL RC-3 HG-4L ローター) 約 100~150 ml の顆粒球浮遊液を得る。

成 績

急性白血病 6 例、悪性リンパ腫 1 例について、延 28 回の顆粒球輸注を行なった Table 1 に示すように平均の濾過血液量は 6.1 l/回で、 1.28×10^{10} 個の白血球を得、そのうち好中球の

占める割合は平均 87%であった。また濾過した血液 1 l あたりの白血球数は 2.1×10^9 個であり、濾過血液量の増加に応じて白血球の収量も増加する (Fig. 2)。

対象症例 4 例について上記の方法に応じて顆粒球を採取し、その顆粒球について殺菌能・貪喰能・NBT 還元能を検討した。成績は (Table 2) に表示したが、採取顆粒球の機能はほぼ正常に保たれているようにみえる。

供血者に及ぼす副作用としては、不快感を伴う血圧低下 4 例、高血圧の悪化、発熱、穿刺部位の血腫がそれぞれ 1 例にみられた。

8 例の供血者につきロイコフェリシスポンプ操作中の末梢血白血球数の変動を検討した。上記 8 例のうち 6 例で、操作開始後 15 分~30 分の間で一過性の白血球減少症が認められ (2~30%)、操作終了後には逆に白血球増加症 (2~158%) が認められた (Fig. 3)。

操作前後での供血者末梢血に及ぼす各血液成分の変化を検討した。それぞれ赤血球増加 (平均 20.5 万: +2.1%)、ヘモグロビン増加 (平

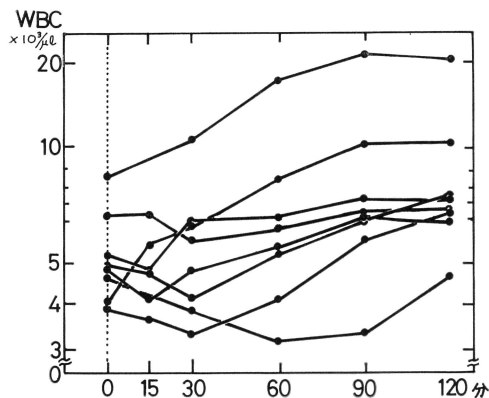


Fig. 3. Changes of leukocyte count under filtration leukapheresis

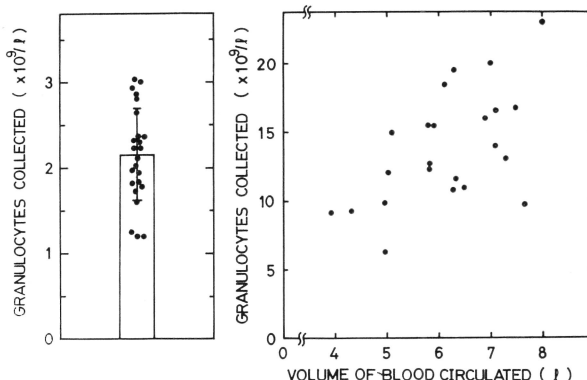


Fig. 2. Yields of granulocytes on leukapheresis

Table 2. Effect of leukapheresis on granulocyte functions

	Bacteria killing		Phagocytosis		NBT Reduction Test	
	% Bacteria killed		% of PMN Phagocytizing Bacteria		OD 515	
	Before	After	Before	After	Before	After
1	94.6	91.3	42	45	0.055	0.142
2	77.6	80.3	40	41	0.094	0.030
3	80.0	71.4	24	31	0.028	0.038
4	90.6	61.4	29	32	0.096	0.022
Mean	88.2	76.1	34	37	0.068	0.058

均 0.28 g/dl: +2.2%)、白血球増加 (平均 $3,410/\mu\text{l}$: +69.2%) であった。

次に、この採取顆粒球の輸注による受血者への影響を検討した。顆粒球輸注後に原疾患によらないと推定される発熱 (38°C 以上) を、施行 28 回中全例に認め、この発熱は約 2~3 時間持続するが、いずれも解熱剤の投与により解熱した。また、施行 28 回中 1 例に輸血が原因

Case	Name	Infection	Effective Case	%
1	A. K.	1	0	0
2	T. K.	1	1	100
3	T. M.	4	3	75
4	T. T.	2	2	100
5	T. M.	1	1	100
6	Y. F.	2	1	50
7	Y. S.	1	0	0
Total		12	8	67

Fig. 4. Effect of leukapheresis

と思われるB型肝炎の発症をみた。

本法による臨床効果について検討した。効果判定の基準としては、解熱効果のあったもの（正常化）、または臨床症状が改善したもの（感染症からの離脱）を有効とした。以上の7症例について有効率を検討したところ、感染発症延12回中8回の発症に有効であり、したがって有効率は67%であった（Fig. 4）。

考 按

顆粒球減少時には重症感染症を併発しやすく、患者はしばしば死の転帰をとる。Herzigら⁶⁾によれば、顆粒球数100/ μ l以下では、53%の患者が感染に罹患し、その死亡率は80%に及ぶことが報告されている。

古くは1934年 Strumia⁷⁾が顆粒球輸注を試みている。顆粒球の比重は赤血球のそれに近いため、遠心法のみでは顆粒球層は赤血球層直上部に重積されるため、赤血球層から顆粒球を分離することは必ずしも十分とはいえない。しかし、Freireich⁸⁾はIBM (International Business Machine Corporation)と共同研究の結果、1964年、持続血球分離装置を開発した。この装置による臨床応用は、わが国では上田ら⁹⁾が実施している。その他、本来は血小板分離装置として開発されたHaemonetics Model 30を使用しても、顆粒球採取が可能であり、とくに副腎皮質ホルモン剤、Hydroxyethyl starchなどの薬剤投与を併用することにより、回収率を改善することができる。一方、nylon fiberを用いて顆粒球を吸着・採取する方法が1964年Djerassiら¹⁰⁾により発表された。本邦では合屋・武ら¹¹⁾が紹介し、原法を一部改良しfiltration leukapheresisとして臨床治験が報告されている。

我々はfiltration leukapheresisを用い、顆粒球減少症7例につき総計28回の顆粒球輸注を実施したが、本法には後述の如く多くの利点があることが判明した。即ち、(1)操作が比較的簡便であり、(2)消毒の必要がない。さらに、(3)本法では顆粒球採取に際してdead space

がほとんどないため、供血者にとっては血液循環操作中に失われる赤血球量が少なくすむ。一方、欠点としては、顆粒球回収時に、nylon fiberに付着している顆粒球を分離するために、フィルターカラムを長時間に亘って叩く必要があり、実施上やや問題がある。

文献上Herzigら⁶⁾はFL, CFC, H-M 30の3者につき各々の白血球回収の収率について報告し、各々 1.20×10^{10} /hour, 0.32×10^{10} /hour, 0.30×10^{10} /hourと、FLの収量が最も高いとした。さらに分離細胞中の顆粒球の占める比率は各々93%, 44%, 17%となっている。CFC, H-M 30では操作時間の延長、または供血者に副腎皮質ホルモン、Hydroxyethyl starchなどの薬剤を投与することにより、顆粒球を採取することができるが、FLは短時間の操作でしかも供血者に上記薬剤投与を行なわなくても十分量の顆粒球を分離できるという利点がある。我々の成績では、薬剤負与を行わず、2個のフィルターカラムの使用と約2時間の操作で、平均 1.28×10^{10} 個の白血球を得、そのうち好中球の占める割合は平均87%であった（Table 1）。Djerassiら¹²⁾によるとフィルターカラム（Fig. 1）を3～4個用いることによって、採取顆粒球数を 6.00×10^{10} 個にまで増加させうるといふ。臨床効果をあげるのに必要な顆粒球数は、計算上 1.40×10^8 /kgとされていることから約 1×10^{10} 個の顆粒球が必要であり、実際、この数の顆粒球輸注で临床上十分であることが判っている。分離された顆粒球の機能については、CFCでほぼ正常であるのに対し、FLではin vitroでの粘着能の増強を除いてin vivoでは従来異常ありとされていた。しかし、FL法の実施に際して、フィルターカラムを通す洗滌液の組成によっては、貪喰能・殺菌能・遊走能などの顆粒球機能には、FLとCFCとの間で有意の差は認められないという報告である¹³⁾。西村ら¹⁴⁾は、得られた顆粒球は光学顕微鏡上、一部に空胞変性などの形態変化が認められることから、これが機能低下の一因かもしれないと報告している。しかし、我々の検討した範囲内では、顆粒球機能（貪喰能・殺菌能・NBT還

元能)は採取前後で有意の差はみられなかった。

臨床効果については、多くの報告でその有効性が論じられてきている。Alaviら³⁾は、急性白血病患者において顆粒球減少症により発熱をきたしたグループを、(1) 抗生剤のみの投与群と、(2) 抗生剤投与に加えて顆粒球輸注を連日施行した群との2群に分けたところ、治療開始21日後の患者生存率は、それぞれ20%と75%であり、明らかに後者の方が有効であったと報告している。最近の総説¹⁵⁾では、もはや controlled studies は必要ではないともいわれる。つまり顆粒球減少症に感染症を伴った場合、抗生剤に顆粒球輸注を併用した群の成績は、明らかに抗生剤投与のみの群と比して生存率が高いことが示されている。

重症感染症を伴った顆粒球減少症の場合、患者の予後は諸種の要因で決定される。例えば、

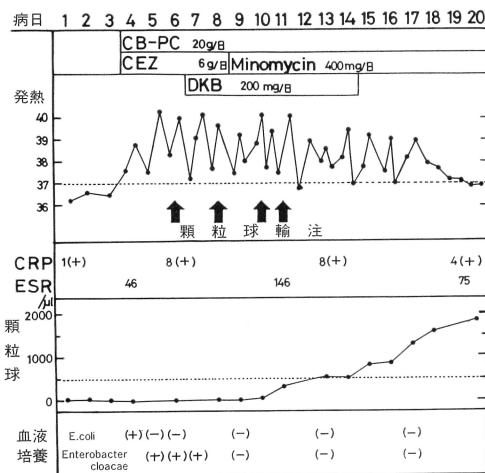


Fig. 5. A case of sepsis associated with lymphosarcoma cell leukemia

敗血症患者であっても、その骨髓機能が回復した場合には、予後は良いと考えられる。そのほか基礎疾患の種類・年齢なども予後を決める重要な因子であると考えられる。Fig. 5に顆粒球輸注が有効であった代表例の臨床経過を示す。本例はリンパ肉腫性白血病患者で、化学療法中に敗血症を併発した症例で、発熱時の顆粒球数は0/ μ lであった。抗生剤投与・顆粒球輸注を施

行したが、骨髓機能の回復と相まって、発熱は消失している。また臨床症状の改善が著しい。我々の総計12回の感染症に対するFL使用経験では、Fig. 4に示すように、有効率は67%であり、顆粒球減少症に合併した難治性感染症に本FL法による顆粒球輸注は有効な治療手段の1つと考えられる。

供血者に及ぼす本法の影響は、不安感を伴う血圧低下が4例にみられた(FL操作開始後5分以内)が、その他は悪感、発熱などであった。不安感は術者の十分な精神指導により回避しうるし、悪感についても体外循環中の血液の保温を行ってから認められていない。井上ら¹⁶⁾によるとH-M 30では、自覚的な副作用として11.2%に口唇周囲のしびれ感、6.2%に四肢のしびれ感が報告されているが、主としてクエン酸によるものと結論されている。我々の施行したFL操作では、これらの副作用は1例もみられなかった。供血者の末梢血検査では、FL操作前後で赤血球数、ヘモグロビン量はほとんど変化しないが、白血球数は69%も増加している。同様の白血球増加はHerzig, Buchholも述べている。いずれにしても、CFC, H-M 30に比較して、FLでは末梢血成分の変動は少なく、繰り返しFLを実施しても、貧血・血小板減少症の発症する可能性は少ないと考えられる。一方、本FL法は供血者体内の末梢血中顆粒球の分布に大きな変化をおこすといわれ¹⁷⁾¹⁸⁾、我々の成績でも(Fig. 3)FL開始早期に一過性の白血球減少症がみられている。Rubinsらは、FLの操作に準じてフィルターのみを除いた状態、または血液でなく生理食塩水のみを循環させた場合には供血者末梢血の白血球減少症が生じないことを観察し、血液とnylon fiberとの相互反応がこの白血球減少症の原因であり、それは血漿中の物質であろうと推察している。同様の白血球減少症は、血液透析中でもみられ、Craddockら¹⁹⁾は補体の活性化により生ずると考え、またTorenら²⁰⁾は実験動物で肺血管内への白血球の集積が認められると報告している。本FL法でも血液透析の場合と同様の機序により、白血球の変動が認めら

れたものと推定される。

顆粒球輸注が受血者に及ぼす影響としては発熱が大多数の症例にみられ、我々の経験では28例中1例にB型肝炎の発症を認めている。この発熱は顆粒球からの発熱物質が関与していると考えられており、その他の重篤な輸血反応の予防のため、副腎皮質ホルモン剤、抗ヒスタミン剤、解熱剤の投与が良いといわれている。今後、本FL法による受血者の顆粒球増多のためには、供血者を慎重に選択し、輸注顆粒球のHLA適合性、顆粒球特異抗原の適合性などの検索に加え、本FL法の手技・採取方法・顆粒球の保存法などの改良を進める必要がある。

ま と め

1. 7例の血液悪性疾患患者に対して、延べ28回の顆粒球輸注を行なった。
2. 顆粒球採取時の副作用としての血圧低下などは、供血者の14%に認められ、それらはとくに操作開始後15分以内に多く、一過性であった。
3. 得られた顆粒球の機能、とくに殺菌能・貪食能・NBT還元能は、in vitro法による検索では操作前のそれに比べ、有意の差は認められなかった。
4. 顆粒球輸注は感染症12例中8例に有効であった。

文 献

- 1) Kawashima, K., Suzuki, H., Yamada, K. et al.: Long-term survival in acute leukemia in Japan. A study of 304 cases. *Cancer* 45: 2181—2187, 1980
- 2) Herzig, R. H., Herzig, G. P., Graw, R. G., Bull, M. I. and Ray, K. K.: Successful granulocyte transfusion therapy for gram-negative septicemia. *N. Engl. J. Med.* 296: 701—705, 1977
- 3) Alavi, J. B., Root, R. K., Djerassi, I. et al.: A randomized clinical trial of granulocyte transfusions for infection in acute leukemia. *N. Engl. J. Med.* 296: 706—711, 1977
- 4) Higby, D. J., Yates, J. W., Henderson, E. S. and Holland, J. F.: Filtration leukapheresis for granulocyte transfusion therapy. *N. Engl. J. Med.* 292: 761—766, 1975
- 5) 八幡義人, 武元良整: 臨床家のための輸血学—顆粒球輸血— *Medicina* 16: 342—343, 1979
- 6) Herzig, G. P. and Graw, R. G.: Granulocyte transfusion for bacterial infections. *Progress in Hematology* 9: 207—228, 1975
- 7) Strumia, M. M.: The effect of leukocyte cream injection in the treatment of the neutropenias. *Am. J. med. Sci.* 187: 527—544, 1934
- 8) Freireich, E. J., Levin, R. M., Whang, J. et al.: The function and fate of transfused leukocytes from donors with chronic myelocytic leukemia in leukopenic recipients. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 113: 1081—1089, 1964
- 9) 上田龍三, 高本 滋, 若山喜久子 ほか: 持続血球分離装置 (Celltrifuge) とその臨床応用について. *最新医学* 29: 527—533, 1974
- 10) Djerassi, I., Kim, J. S. and Mitakul, C.: Filtration leukapheresis for separation and concentration of transfusable amounts of normal human granulocytes. *J. Med. (Basel)* 1: 358—364, 1970
- 11) 合屋長英, 武 弘道: 顆粒白血球の大量輸注療法, *日本医事新報* 2684: 25—29, 1975
- 12) Djerassi, I., Kim, J. S., Suvansri, U. et al.: Continuous flow filtration-leukapheresis. *Transfusion* 12: 75—83, 1972
- 13) Harris, M. B., Djerassi, I. and Schwartz, E.: Polymorpho-nuclear leukocytes prepared by continuous-flow filtration leukapheresis: Viability and function. *Blood* 44: 707—713, 1974
- 14) 西村昂三, 日比 晶, 斎藤有希雄, 中嶋満隆, 細谷亮太, 渡辺昭彦: 持続濾過法 (continuous flow filtration leukapheresis, CFFL) による顆粒球輸血, *臨床血液* 19: 1179—1185, 1978

- 15) Strauss, R. G.: Therapeutic neutrophil transfusions: Are controlled studies no longer appropriate? *Am. J. Med.* 65: 1001—1006, 1978
- 16) 井上雄弘, 下山正徳, 湊 啓輔: 連続血球分離装置 (Celltrifuge, Haemonetics Model 30) を用いた大量白血球, 血小板採取の供血者に及ぼす影響に関する検討, *臨床血液* 20: 25—32, 1979
- 17) Rubins, J. M., MacPherson, J. L., Nusbacher, J. and Wiltbank, T.: Granulocyte kinetics in donors undergoing filtration leukapheresis. *Transfusion* 16: 56—62, 1976
- 18) Schiffer, C. A., Aisner, J. and Wiernik, P. H.: Transient neutropenia induced by transfusion of blood exposed to nylon fiber filters. *Blood* 45: 141—146, 1975
- 19) Craddock, P. R., Fehr, J., Brigham, K. L., Kronenberg, R. S. and Jacob H. S.: Complement and leukocyte-mediated pulmonary dysfunction in hemodialysis, *N. Engl. J. Med.* 296: 769—774, 1977
- 20) Toren, M., Goffinet, J. A. and Kaplow, L. S.: Pulmonary bed sequestration of neutrophils during hemodialysis. *Blood* 36: 337—340, 1970