

HPA-5a 抗体を保有し血小板輸血不応を示した 成人急性骨髄性白血病の 1 症例

李 悦子¹⁾ 篠原紀美代¹⁾ 渡邊 博文¹⁾ 廣瀬 政雄¹⁾
北添 健一²⁾ 福井美代子³⁾ 勝浦 洋一³⁾ 谷上 純子⁴⁾
永尾 暢夫⁴⁾ 黒田 泰弘¹⁾

¹⁾徳島大学医学部附属病院輸血部

²⁾同 第一内科

³⁾徳島県赤十字血液センター

⁴⁾大阪府赤十字血液センター

(平成 10 年 9 月 10 日受付)

(平成 10 年 12 月 4 日受理)

ANTI-HPA-5a ANTIBODY AS A POSSIBLE CAUSE OF PLATELET TRANSFUSION REFRACTORINESS IN A PATIENT WITH ACUTE MYELOGENOUS LEUKEMIA

Etsuko Lee¹⁾, Kimiyo Shinohara¹⁾, Hirofumi Watanabe¹⁾, Masao Hirose¹⁾,
Ken-ichi Kitazoe²⁾, Miyoko Fukui³⁾, Youichi Katsuura³⁾, Atsuko Taniue⁴⁾,
Nobuo Nagao⁴⁾ and Yasuhiro Kuroda¹⁾

¹⁾Division of Transfusion Medicine, Tokushima University School of Medicine

²⁾First Department of Internal Medicine, Tokushima University School of Medicine

³⁾Tokushima Red Cross Blood Center

⁴⁾Osaka Red Cross Blood Center

A 46-year-old female patient who developed acute myelogenous leukemia in October, 1995, required red blood cell transfusion from day 9 and continuous platelet transfusion from day 13 after the beginning of antileukemic chemotherapy. When total transfused platelets reached 130 units, platelet transfusion refractoriness (PTR) occurred. A high anti-HPA-5a antibody titer ($\times 4,096$) was detected using the MPHA method when 300 units were transfused. The antibody titer declined thereafter, but the antibody and PTR lasted throughout the clinical course, whereas anti-HLA antibody was not detected. There were no physical signs that caused the persistent PTR. HPA-matched platelet transfusion was tried once around the terminal stage of the disease, but efficacy was not confirmed because of the presence of severe infection and bleeding tendency. These findings therefore suggest this to be a unique case in that anti-HPA-5a antibody alone caused platelet transfusion refractoriness.

Key words : anti-HPA-5a, PTR, MPHA, CCI

緒 言

血小板輸血不応 (platelet transfusion refractoriness ; PTR) の原因は、免疫機序と非免疫機序の 2 つに分けて理解されている。前者は、HLA 抗体に起因する場合、血小板特異抗原 (human plate-

let antigens ; HPA) に対する抗体に起因する場合、その両者が関与する場合あるいは赤血球表面抗原 (ABO 型) に対する抗体が関与する場合などがある。後者は脾腫、DIC、発熱、アムホテリシン B など薬剤の関与および血栓性血小板減少性紫斑

病などが知られている¹⁾。

HPA の1つである HPA-5 抗原は1988 年に Kiefel らによって新生児血小板減少性紫斑病 (neonatal alloimmune thrombocytopenic purpura ; NAITP) 児の母血清中に発見された²⁾。HPA-5 抗原は血小板膜上の GPIa 上に局在しているが、その抗原決定基はホモ接合体で2,000 個と、HPA-1 抗原の50,000 個や HPA-4 抗原の40,000 個に比して明らかに少ない³⁾。このためか HPA-5 抗原系が PTR に関与したとする報告例は少なく、本邦では HPA-5 b 抗体を保有した MDS 症例1 例⁴⁾、HPA-5 a 抗体を保有した再生不良性貧血の1 例⁵⁾のみの報告しかなく、いずれの症例も HLA 抗体との共存例であった。

今回我々は HLA 抗体は共存せず、HPA-5 a 抗体のみを保有し、PTR を示した成人急性骨髄性白血病 (AML) 症例を経験したので報告する。

症 例

患者 (K.I.) は輸血歴が無く、2 回の妊娠歴を持つ46 歳の女性である。家族歴は父親が胃癌であること以外、特記すべきことはない。現病歴は1995 年10 月に全身倦怠感、発熱および股関節痛が出現し、近医を受診した。末梢血血液検査では白血球数 $9,300/\mu\text{l}$ で、芽球を28% 認めた。急性白血病が疑われ、同年11 月10 日に当院を紹介され入院となった。入院時検査所見を Table 1 に示す。骨髓穿刺所見では芽球を85.6% 認めた。塗抹標本の特殊染色 (Pox 陰性、 α -NBE 陰性)、表面形質検査 (CD 13^+ , CD 19^+ , CD 33^+ , CD 34^+) および病理組織などの検査より AML (FAB 分類 M_0) と診断され、JALSGAML-87 による化学療法が11 月14 日より開始された。化学療法開始後9 日目 (11 月22 日) より赤血球輸血、13 日目 (11 月26 日) より血小板輸血が必要となり、血小板輸血開始9 日後 (12 月4 日) より PTR を生じた。

方 法

1. 赤血球型、HLA 型および HPA 型判定

赤血球型検査は市販の各種抗血清 (Dade 社、Ortho 社など) を用いた。

HLA 型は Class I はリンパ球細胞毒性試験 (lymphocyte cytotoxicity test ; LCT)⁶⁾を市販の

Table 1 Laboratory data at onset

(1995. 11)			
RBC	$403 \times 10^4 / \mu\text{l}$	GOT	141 IU/l
Ret	12 %	GPT	81 IU/l
Hb	11.2 g/dl	LDH	626 IU/l
WBC	$8,900 / \mu\text{l}$	ALP	175 IU/l
blast	40 %	γ GTP	121 IU/l
promy	0 %	Amylase	57 IU/l
my	0 %	T-Bil	0.4 mg/dl
meta	0 %	T-Cho	138 mg/dl
band	5 %	BUN	10 mg/dl
seg	31 %	TP	6.7 g/dl
eos	0 %	Alb	54.5 %
bas	0 %	α 1-gl	5.5 %
mon	1 %	α 2-gl	12.9 %
lym	23 %	β -gl	10.4 %
Plt	$27.9 \times 10^4 / \mu\text{l}$	γ -gl	16.7 %

テラサキトレイ (One Lambda 社) で行い、Class II は PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法⁷⁾で行った。

HPA 型は混合受身凝集法 (mixed passive hemagglutination ; MPHA)⁸⁾、又はPCR-RFLP法⁹⁾、PCR-sequence specific primer (PCR-SSP) 法¹⁰⁾で行った。

2. 赤血球、HLA および HPA の各種抗体検査

赤血球抗体検査は市販のスクリーニング用血球3 種 (Gamma 社) を用い、Saline 法、Bromelin 法、Polyethylene Glycol Coombs (PEG-Coombs) 法で行った。HLA 抗体検査はランダムリンパ球20 cell を用いた LCT 法と κ , λ 血清を用いた anti human globulin LCT (AHG-LCT) 法で行った⁶⁾。

血小板抗体検査のスクリーニングは anti-PLT・オリビオ・MPHAI (OLYMPUS 社) を用い、同定は大阪府赤十字血液センター製パネルをそれぞれ用いて MPHA 法で行った。HPA-5 a 抗体力価測定は凍結保存しておいた患者血清を用いた。

3. 輸血効果の評価

血小板の輸血効果は、補正血小板増加数 (CCI : corrected count increment) を用いて評価した。CCI = ((輸血後血小板数 - 輸血前血小板数) $\times$ 体表面積 (m^2)) / 輸血血小板数 ($\times 10^{11}$) により求めた。20 時間 CCI 値が $4,500/\mu\text{l}$ 以上である場合を有効とした¹¹⁾。

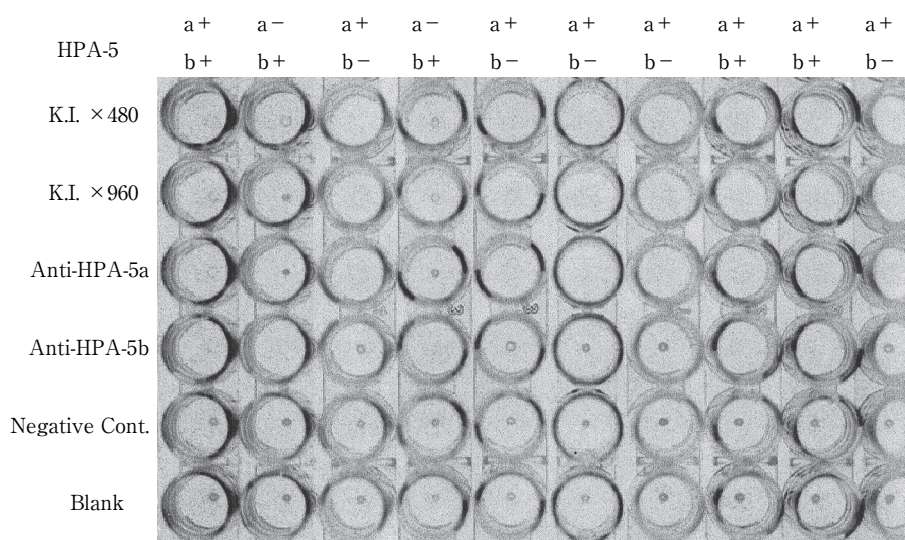
Table 2 Blood types of the patient's family

relationship	ABO, Rh	HPA-												HLA			
		1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b	6b	NaK ^a	A	B	C	DR
I-2	O, ccDEE	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	2, -	13, 61	w3, -	12, 8
II-1	A _i , ccDEE	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	2, 24	7, 61	w3, w7	1, 8
II-2	A _i , CcDEe	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	n.t.	2, 26	13, 56	w3, w7	11, 12
II-3	O, CcDEe	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	2, 24	7, 61	w3, w7	1, 8
II-4	A _i , CcDEe	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	2, 24	7, 61	w3, w7	1, 8
III-1	A ₁ B, ccDEE	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	2, 26	7, 13	w3, w7	12, 14
III-2	A ₁ B, ccDEE	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-, 26	7, 56	-, w7	11, 14

n.t.: not tested

I-2: mother, II-1: elder sister, II-2: patient, II-3: younger sister,

II-4: youngest sister, III-1: first daughter, III-2: second daughter



Panel by Osaka Red Cross Blood Center

Fig. 1 Detection of HPA antibody using MPHA method

結 果

1. 血液型

赤血球型は A₁ 型, MNss, P_i, CcDEe, Le (a-b-), Jk (a+b+) 型, HLA 型 は A (2, 26), B (13, 56), C (w 3, w 7) および DRB1*1101, 1202, DQB1*0301, 0301 型で HPA 型は HPA-1 (a+b-), -2 (a+b-), -3 (a+b-), -4 (a+b-), -5 (a-b+), -6 (a+b-) 型であった。

2. 家族の血液型

稀な HPA-5 (a-) の適合供血者を見つける目的と、妊娠による HPA-5 a 抗原感作の有無を調べるため、母親、姉、2 名の妹、2 名の子供について ABO

型, HLA 型および HPA 型を調べた。Table 2 に示すように家系内に HPA-5 a 陰性者はいなかった。

3. 赤血球, HLA および HPA の各種抗体検査
赤血球の抗体スクリーニングは 4 回 (1995. 12. 11, 1996. 9. 13, 10. 23, 1997. 2. 14), HLA 抗体のスクリーニングは 5 回 (1995. 12. 13, 1996. 7. 29, 12. 10, 1997. 1. 16, 3. 12) それぞれ行ったが、いずれの時期においても赤血球抗体および HLA 抗体は認められなかった。

HPA 抗体検査は 1996 年 11 月 29 日に陽性で Fig. 1 に示すように 10 人のパネル血小板に反応させたところ、HPA-5 (a-b+) のセル (写真左

Table 3 CCI values of platelet transfusion and anti-HPA-5a titer during the clinical course

date	Course of chemotherapy	plt. transfused		CCI(20hr)	Titer of antibody	
		count	units	range	anti-HPA-5a	anti-HLA
951114 ~ 951225	BHAC-DMP	25	480	- 5,495 ~ 7,850		
951129				7,850	n.t.	n.t.
951130				7,850	n.t.	n.t.
951213				- 785	4,096	0/20
960109 ~ 960531	BHAC-DMP, etc.	24	460	n.t.		
960716 ~ 960913	high dose-Ara-C	23	465	- 5,103 ~ 7,065		
960729				785	32	0/20
961017 ~ 961115	CAG	10	167	- 5,888 ~ - 785		
961120 ~ 970110	MEC	44	940	- 3,402 ~ 3,402		
961125				- 1,570	8	n.t.
961129				n.t.	4	n.t.
961210				3,402	±	0/20
970110				785	1	n.t.
970113 ~ 970207	low dose-Ara-C	15	190	- 785 ~ 785		
970117				0	1	0/20
970124				785	4	n.t.
970208 ~ 970321	low dose-Ara-C + ETP	31	320	- 2,355 ~ 1,570		
970214				0	8	n.t.
970219				n.t.	4	n.t.
970224				n.t.	4	n.t.
970228				523	2	n.t.
970312				0	2	0/20
Total		172	3,022			

1995. 11. 10 admission

1995. 11. 14 start of chemotherapy

1995. 11. 26 start of plt transfusion

1995. 12. 4 beginning of PTR

plt. : platelet

n.t. : not tested

CCI : corrected count increment

$$CCI = \frac{(\text{posttransfusion platelet count} - \text{pretransfusion platelet count}) \times \text{body surface area (m}^2\text{)}}{\text{count of platelet transfused} \times (10^{11})}$$

から2番目と4番目)が陰性でHPA-5a抗体と同定した。

4. 血小板輸血効果およびHPA-5a抗体力価

血小板輸血には白血球除去フィルター(ポール社)を用いた。化学療法期間別の血小板輸血回数、単位数、CCIおよびHPA-5a抗体力価などはTable 3に示した。

1995年11月26日より血小板輸血が開始され9日後の12月4日よりPTRを生じた。PTRを生じる以前の11月29日と30日はCCIは各々7,850/ μ lと有効であったが、この時期の血小板抗体は未検査のため不明である。PTRを発生後の12月13日にはCCIはマイナス(輸血後血小板数が輸血前

血小板数より低値)を示し、4,096倍と高力価のHPA-5a抗体が検出された。その後抗体価は1996年12月10日には1倍以下まで低下し(CCIは3,402/ μ l)、1997年2月14日には一時的に8倍まで再上昇が観察された。1997年3月21日(死去)までの約1年半の間に、延べ172回3,022単位の血小板輸血が行われたが、長期にわたりHPA-5a抗体が検出され血小板輸血は無効であった。

CCIが4,500/ μ l以上と有効であったのは、PTR発症後は1996年8月1日(CCI=7,065/ μ l)のみであった。その時の3名のドナーのうち2名については検査が行えたがHPA-5aは陽性であり、残り1名については検査が行えずHPA型の確認は出

来なかった。

HPA 適合血小板輸血は 1997 年 3 月 2 日に一度行われたが、CCI は 1 時間値が $2,616/\mu\text{l}$ 、20 時間値が $0/\mu\text{l}$ と低値であった。

考 察

PTR の原因として HPA-5 a 抗体の関与が考えられる報告例は、調べ得た範囲では 1 例のみであったが、HLA 抗体との複合症例であったため、PTR の原因が HLA 抗体によるものか HPA-5 a 抗体によるものか明らかにされていない⁵⁾。

本例は HPA-5 a 抗体が単独で存在し、発熱、脾腫あるいは DIC 等の PTR の非免疫的原因が考えられない状態においても長期間にわたり PTR を示したので、HLA 抗体の関与なく HPA-5 a 抗体が PTR に強く関わったと考えられる非常に稀な症例である。

本抗体の産生原因は、輸血開始前の抗体検索ができていないため、輸血によるものか妊娠によるものかは明らかではない。患者の 2 名の子供は HPA-5 a 抗原陽性であるが、出生時期の詳しい検索は行っていない。輸血開始 9 日後という短期間で PTR を生じていること、300 単位の輸血が行われた 18 日後には 4,096 倍と高力価の HPA-5 a 抗体が検出されたことから、妊娠によって産生されていた HPA-5 a 抗体が二次免疫応答により急激な抗体価の上昇をきたした可能性が高いと推察される。本例は最終分娩から 21 年が経過しているが、HPA 抗体の長期保有例が知られており、HPA-4 b 抗体を 32 年間保有した症例もある¹²⁾。

HPA-5 抗原の本邦における抗原頻度は HPA-5 a が 99.8%、HPA-5 b が 8.5% といわれている¹³⁾。このことから、本例で輸血した 3,022 単位の血小板は殆どが HPA-5 a (+) であったと推察され、これにより PTR をきたしたと考えられる。PTR 発症後 CCI が $7,065/\mu\text{l}$ (1996 年 8 月 1 日) と有効な時が一度あり、HPA-5 a (-) の頻度が約 0.2%¹³⁾であることから HPA-5 a (-) が偶然供給された可能性も考えられるが、残念ながらドナーの HPA 型は確認出来なかった。

1997 年 3 月 2 日に日赤より一度だけ HPA 適合血小板の供給を受けたが、CCI は低値であった。

HPA 適合血小板輸血にもかかわらず有効性が確認できなかった理由として、この時期は既に全身状態が悪化した末期状態であり、血小板が消費される非免疫的因子(肝臓感染、発熱および出血)が存在したためと考えられる。

本患者は 3,022 単位の大量血小板輸血を受けたにもかかわらず最期まで HLA 抗体を産生しなかった。100 単位以上の血小板輸血を受けた患者の約 53% に HLA 抗体が産生された報告¹⁴⁾があるが、その後、白血球除去フィルター使用による頻回輸血血液疾患患者の HLA 抗体保有率が 22.9% と低下している¹⁵⁾。本例においても白血球除去フィルター使用が奏効した可能性が高い。

血漿蛋白に対する抗体も PTR の原因となりうることが知られている¹⁶⁾¹⁷⁾。本例は血漿蛋白の検索は行えなかったが、輸血後しばらくして腋窩、鼠径部に掻痒感が出現しており、血漿蛋白に対する抗体が存在した可能性も否定できない。一般的に PTR の原因が免疫機序によるものか非免疫機序によるものの鑑別には、CCI 1 時間値の測定が重要といわれており¹⁸⁾、本例においても積極的に CCI 1 時間値の測定が必要であった。

本例は当初、HLA 抗体のスクリーニングとして行っている LCT 法が陰性であり、MPHA 法を行わなかったため、HPA 抗体の検出が遅れた。我々が以前に報告した本邦初の HPA-3 b 抗体¹⁹⁾は、LCT 法に続いて MPHA 法を行ったため早期に検出できた。PTR を認めた場合はすみやかに MPHA 法による血小板抗体検査も行うべきと考える。そのためには臨床と輸血部の間の詳細な患者情報の交換が重要である。

HPA 抗体保有者に対する HPA 適合血小板輸血の臨床効果では、HLA、HPA-2 b 抗体保有者において HLA 適合、HPA-2 b 不適合輸血の有効率が 0% であるのに対し、HLA 適合、HPA-2 b 適合輸血の有効率が 72.2% と明らかな臨床効果が認められている²⁰⁾。HLA 抗体および HPA-1 b や HPA-5 b 抗体を保有し、PTR を示した急性骨髄性白血病患者においても HLA-HPA 適合血小板輸血の効果が報告されている²¹⁾。日本においても HLA-HPA 適合血小板²²⁾が供給される体制が早期

に確立されることが望まれる。

結 語

1. 本例は HLA 抗体の関与がなく、稀な HPA-5a 抗体が PTR に関与したと思われる興味深い症例である。

2. PTR を示した場合は LCT 法のみならず、MPHA 法の併用が HPA 抗体検出に不可欠で、適合血選択に有用であると思われた。

本論文の要旨は、第 42 回日本輸血学会中国四国地方会において発表した。

文 献

- 1) 石田 明, 半田 誠: 血小板輸血不応状態, 検査と技術, 25: 266—269, 1997.
- 2) Kiefel, V., et al.: A new platelet-specific alloantigen Br-a. *Vox Sang.*, 54: 101—106, 1988.
- 3) Kiefel, V., et al.: The Br-a/Br-b alloantigen system on human platelets. *Blood*, 73: 2219—2223, 1989.
- 4) 三谷孝子, 他: HPA-5b (Br-a) 抗原感作による血小板輸血不応例. *日輸血会誌*, 39: 714—719, 1993.
- 5) 森田庄治, 他: 血小板輸血不応患者から検出された抗 HPA-5a 抗体の 1 例. *日輸血会誌*, 43: 217, 1997.
- 6) 荒木千枝子, 十字猛夫: 抗白血球抗体検査法. *日本臨床*, 42: 1499—1504, 1984.
- 7) Ota M., et al.: HLA-DRB1 genotyping by modified PCR-RFLP method combined with group specific primers. *Tissue Antigens*, 39: 187—202, 1992.
- 8) Shibata Y., et al.: Detection of platelet antibodies by a newly developed mixed agglutination with platelets. *Vox Sang.*, 41: 25—31, 1981.
- 9) Unkelbach, K., et al.: Genomic RFLP typing of human platelet alloantigens Zw (Pl-A), Ko, Bak and Br (HPA-1,2,3,5). *Br. J. Haematol.*, 89: 169—176, 1995.
- 10) Tanaka S., et al.: Simultaneous DNA typing of human platelet antigens 2, 3 and 4 by an allele-

specific PCR method. *Vox Sang.*, 68: 225—230, 1995.

- 11) Murphy, M.F., et al.: Guidelines for platelet transfusions. *Transfusion Medicine*, 2: 311—318, 1992.
- 12) 永尾暢夫, 他: 血小板抗体の生体内における持続期間および血小板抗原の頻度と免疫の機会. *日輸血会誌*, 38: 435—440, 1992.
- 13) 森田庄治, 他: 経産婦献血者 8 万人からスクリーニングされた抗血小板同種抗体について. *日輸血会誌*, 37: 40—43, 1991.
- 14) 荒木延夫, 他: 頻回血小板輸血された患者に認めた抗 HLA 抗体と HLA 抗原の関係. *日輸血会誌*, 38: 740—747, 1992.
- 15) 廣瀬政雄, 他: IL-II 活性化リンパ球を用いた抗 HLA 抗体検出法の有用性と抗 HLA 抗体保有率. *日輸血会誌*, 39: 828—834, 1993.
- 16) Heal, J.M., et al.: Antibodies to plasma proteins: an association with platelet transfusion refractoriness. *Br. J. Haematol.*, 80: 83—90, 1992.
- 17) 安田広康, 他: 適合血小板輸血における非溶血性非発熱性副作用と血小板輸血無効の関連性. *日輸血会誌*, 40: 644—649, 1994.
- 18) 品田章二: 血小板輸血の適応と実際. *日内会誌*, 85: 806—810, 1996.
- 19) 廣瀬政雄, 他: 本邦初の抗 HPA-3b 抗体を保有した小児骨髓異形成症候群の 1 症例. *日輸血会誌*, 40: 90—94, 1994.
- 20) 坊池義浩, 他: 頻回血小板輸血患者の血小板同種抗体と HPA-2b 適合の重要性. *日輸血会誌*, 38: 441—445, 1992.
- 21) Kekomaki, S., et al.: Successful treatment of platelet transfusion refractoriness: the use of platelet transfusions matched for both human leucocyte antigens (HLA) and human platelet alloantigens (HPA) in alloimmunized patients with leukaemia. *Eur. J. Haematol.*, 60: 112—118, 1998.
- 22) 森下勝哉, 他: HLA 適合者の凍結リンパ球を用いた HPA-DNA タイピングによる HLA-HPA 適合献血者の選択. *日輸血会誌*, 43: 883—889, 1997.