

白血球除去フィルター使用輸血における同種免疫感作の 頻度と危険因子：プロスペクティブ研究

安田 広康¹⁾ 大戸 斉¹⁾ 色摩 弥生¹⁾ 山口 脩¹⁾
七島 勉²⁾ 丸山 幸夫²⁾ 菊田 敦³⁾ 鈴木 仁³⁾
福島県立医科大学医学部附属病院 輸血・移植免疫部¹⁾ 第一内科²⁾ 小児科³⁾

(平成 11 年 8 月 2 日受付)

(平成 11 年 11 月 26 日受理)

ALLOIMMUNIZATION RATE AND ITS RISK FACTORS IN RECENT TRANSFUSIONS USING LEUKOCYTE-REDUCTION FILTERS : PROSPECTIVE STUDY

Hiroyasu Yasuda¹⁾, Hitoshi Ohto¹⁾, Yayoi Shikama¹⁾, Osamu Yamaguchi¹⁾, Tsutomu Shichishima²⁾,
Yukio Maruyama²⁾, Atsushi Kikuta³⁾ and Jin Suzuki³⁾

Division of Blood Transfusion and Transplantation Immunology¹⁾, Department of Internal Medicine²⁾,
Department of Pediatrics³⁾, School of Medicine, Fukushima Medical University

Seventy-eight patients multitransfused using leukocyte-reduction filters at bedside were prospectively studied to determine the rate of post-transfusion alloimmunization and its risk to platelet transfusion. HLA- and HPA-antibodies were detected by standard lymphocytotoxicity test (LCT), antihuman globulin-lymphocytotoxicity test (AHG-LCT) and mixed passive haemagglutination method (MPHA).

Of these 78 patients, all of whom had a negative antibody screening on admission, 11 (14%) developed HLA antibodies but only one (1%) developed an HPA antibody. HLA antibodies were detected in 9 (24%) of 38 patients with previous transfusion, pregnancy or both but in only 2 (5%) of 40 patients with no presensitization ($p < 0.02$). Among children (< 20 years), one (3%) of 35 patients developed HLA antibodies whereas 10 (23%) of 43 adult patients (≥ 20 years) developed HLA antibodies ($p < 0.01$). An HPA antibody (anti-HPA-2b) was detected with multireactive HLA antibodies in a woman with previous pregnancy.

We conclude that WBC-reduced transfusions decrease primary immunization for HLA and HPA antigens. In presensitized adults, however, these transfusions may provide sufficient antigenic stimulation to boost or sustain a secondary alloimmune response. Women with previous pregnancy were identified as a high-responder group with regard to alloimmunization.

Key words : Alloimmunization ; HLA antibodies ; HPA antibodies ; Leukocyte-reduction filter

目 的

白血球除去フィルター（以下白除フィルター）は、血液製剤中に残存し様々な非溶血性副作用をもたらす白血球を効率よく除去し、特に頻回輸血を必要とする血液疾患患者には同種免疫感作予防のため広く使用されている。近年、臨床で用いら

れている白除フィルターの多くは、これらの原因となる白血球を $4 \sim 5 \log_{10}$ 以下にまで減少させる性能を有している。しかし、それにもかかわらず輸血患者の中にはなおも免疫感作され、産生した HLA 抗体によって血小板輸血を困難にする場面は依然なくならない。

Table 1 Characteristics of the 78 patients entered in the study

	No. of Patients
Diagnosis	
Acute myelocytic leukemia (AML)	35
Acute lymphocytic leukemia (ALL)	10
Malignant lymphoma (ML)	11
Myelodysplastic syndrome (MDS)	5
Aplastic anemia (AA)	4
Chronic myelocytic leukemia (CML)	3
Multiple myeloma (MM)	3
Neuroblastoma (NB)	3
Chronic lymphocytic leukemia (CLL)	1
Others	3
Gender	
Male	46
Female	32
Age (years)	
median (range)	29 (0-83)
Adults (≥ 20 years)	43
Children (< 20 years)	35

本検討では、血液疾患を対象に抗血小板抗体検査のプロスペクティブな観察から、HLA 抗体および HPA 抗体による同種免疫感作の頻度と危険因子について検討し、白血球除去フィルター時代における血小板輸血戦略を新たに再考する。

対象・方法

1995年1月～1997年12月の3年間に、当院にて白血球除去血液のみを使用した血液疾患患者78例を対象とした。対象患者の病名、男女比、年齢の内訳については Table1 に示した。また、成人と小児との間で同種免疫感作に差があるかを明らかにする目的で、対象を20歳以上の成人群 (n = 43) と20歳未満の小児群 (n = 35) に分けて HLA 抗体陽転率を比較した。観察期間は輸血開始日から最終輸血日までの週数とし、抗血小板抗体を産生した症例では抗体検出日までとした。観察期間内に輸血された濃厚赤血球 (RC-MAP) および濃厚血小板 (PC) の輸血量は、単位数およびドナー数に分けて評価した。なお、輸血前に抗血小板抗体が確認された症例は評価から除外した。

RC-MAP および PC は、それぞれ 4 ± 2 , 22 ± 2 で有効期限内に保存されたものを、随時、ベッドサイドにて白除フィルターを用いて輸血し

Table 2 Alloimmunization rate in patients with hematological disorders after allogeneic blood transfusions

	Patients with antibody (%)	
	anti-HLA	anti-HPA
Total	11/78 (14)	1/78 (1)
Male	5/46 (11)	0/46 (0)
Female	6/32 (19)	1/32 (3)
Pregnancy and/or Transfusion	9/38 (24)	1/38 (3)
No history of presensitization	2/40 (5)	0/40 (0)
Adults (≥ 20 years)	10/43 (23)	1/43 (2)
Children (< 20 years)	1/35 (3)	0/35 (0)

* p < 0.02 ** p < 0.01

た。検討期間に使用した白除フィルターは RC-MAP 用 2 種 (RC400 H, RC-EZ1V2 残存白血球数：それぞれ 6×10^4 以下, 2×10^5 以下, Pall) および PC 用 3 種 (PL-PXL8H, PL-PXL8V2, PL8PLUS-VSP, 残存白血球数：すべて 5×10^5 以下, Pall) である。

抗血小板抗体検査は、リンパ球細胞毒試験 (LCT), 抗ヒトグロブリン LCT 法 (AHG-LCT), 混合受身赤血球凝集法 (MPHA) の 3 法により、プロスペクティブに 2 週ごとに行なった。HLA 抗体および HPA 抗体の検出に用いたパネルは、ともに共通の O 型健常ドナー 5 名とした。抗体特異性の同定には更に 10～15 名のパネルドナーを追加し、LCT 法および MPHA 法により同定した。パネルは日本人 HLA-class I 抗原頻度の約 95% をカバーする。なお、MPHA 法のインジケーター血球には抗 IgG セル (オリンパス) を用いた。

2 群間の抗体陽転率の比較には、Fisher の直接確率計算法を用い、男女比、輸血量、観察期間等の比較には Mann-Whitney を用いて評価した。

結 果

1. HLA 抗体と HPA 抗体陽転率に関する因子

白血球除去した RC-MAP または PC の輸血によって、血液疾患患者 78 例中 11 例 (14%) に HLA 抗体の陽転を認めた。陽転率は女性では 32 例中 6 例 (19%) と、男性の 46 例中 5 例 (11%) に比し高頻度傾向であったが有意差はなかった。前感作として輸血歴・妊娠歴のいずれかを有した 38 例

Table 3 Comparison of HLA-alloimmunization rates between adults and children

	Adults (> 20 years)	Children (< 20 years)	p Value
Total	43	35	
Male : Female	24 : 19	22 : 13	NS
Age : median (range)	54 (23 83)	7 (0 17)	
Transfusion : median (range)			
RBC : unit number	23 (0 246)	25 (4 234)	NS
donor number	14 (0 169)	22 (2 151)	p < 0.05
PC : unit number	205 (10 2510)	305 (20 3,730)	NS
donor number	18 (0 232)	43 (2 266)	p < 0.05
Observation period, weeks median (range)	18 (1 105)	33 (2 111)	p < 0.01
Ablative chemotherapy for stem cell transplant, number (%)	4 (9)	17 (49)	p < 0.001
Alloimmunized, number (%)	10/43 (23)	1/35 (3)	p < 0.01
previous Preg. and Tf.	2/4 (50)		
previous Preg. only	4/14 (29)		
previous Tf. only	3/10 (30)	0/11 (0)	NS
None	1/15 (7)	1/24 (4)	NS

Abbreviation : Transplant., Transplantation ; Preg., pregnancy ; Tf., transfusion ; NS, not significant

中9例(24%)にHLA抗体の陽転を認めた。輸血歴・妊娠歴のいずれも有しなかった40例中2例(5%)に比しその陽転率は有意($p < 0.02$)に高値であった。また、成人群では43例中10例(23%)にHLA抗体の陽転を認めたのに対し、小児群では35例中1例(3%)と陽転率は有意($p < 0.01$)に低値であった。一方、HPA抗体は78例中1例(1%)に抗HPA-2b(Sib^a)を輸血後に検出した。この例では妊娠歴を有していたが、前感作が無かった群ではHPA抗体の産生は皆無であった。

2. 成人と小児の抗体陽転率の比較

輸血歴・妊娠歴を有さない症例での抗HLA陽転率は成人群では15例中1例(7%)、小児群では24例中1例(4%)と共に低く、白除フィルターによって同種免疫感作が予防された。しかし、成人群では輸血歴・妊娠歴のいずれかを有すると28例中9例(32%)にHLA抗体の陽転を認めた。一方、輸血歴のみを有した小児群の症例10例中3例(30%)で陽転した。しかし、小児群では輸血歴を有した11例すべてでHLA抗体およびHPA抗体の産生を認めなかった。

成人と小児群の輸血量および観察期間を比較した。RC-MAPおよびPCの200mlを1単位と換算した輸血単位数は、成人群では中央値でそれぞれ

23単位および205単位で、小児群ではそれぞれ25単位および305単位と両者に有意差は認めなかった。しかし、RC-MAPおよびPC輸血を実ドナー数でみた場合、成人群では中央値でそれぞれ14ドナーおよび18ドナーであったのに対し、小児群はそれぞれ22ドナーおよび43ドナーと有意($p < 0.05$)に多かった。また、観察期間は成人群では中央値で18週であったのに対し、小児群では33週と有意($p < 0.01$)に長かった。小児群では、小単位数の血液製剤が長期に渡って使用されていた。さらに、成人群では43例中4例(9%)に末梢血幹細胞の採取および移植のために大量化学療法が施行されたが、小児群では35例中17例(49%)と有意に($p < 0.001$)施行例が多かった。

3. 抗血小板(HLA, HPA)抗体の陽転時期と輸血への対応

HLA抗体は、輸血歴・妊娠歴を有した群では輸血後、中央値2(1~8; $n=9$)週目に陽転化し、前感作が無かった群でも中央値2.5(2~3; $n=2$)週目に認められた。一方、HPA抗体の陽転化も輸血後2週目に妊娠歴を有した1例で認めた。このことから、白除フィルターを用いても、抗血小板(HLA, HPA)抗体の陽転時期を延長する効果は認めなかった。

HLA 抗体や HPA 抗体を検出した症例への血小板のサポートには、HLA および HPA 適合血小板製剤を用いた。また、赤血球輸血に対しては引き続き白除フィルター処理した濃厚赤血球製剤を使用した。いずれの製剤においても、抗血小板抗体によると思われる副作用は認めなかった。

考 察

同種免疫応答には、ドナー抗原提示細胞とレシピエントのヘルパー T (T_h) 細胞が直接感作しあう直接経路と、ドナー抗原がレシピエント抗原提示細胞によって捕獲、断片化された後、HLA-class II 抗原と共にレシピエント T_h 細胞へ提示される間接経路の 2 経路が考えられている¹⁾²⁾。従って、血小板抗体産生に際しては抗原提示細胞上に存在する HLA 抗原は主として直接経路によって認識され、血小板上の HPA 抗原は主として間接経路によって認識されると考える。このことは、輸血用血液から白除フィルターによって抗原提示細胞を含む白血球を 5×10^6 以下まで減少させると HLA 抗体産生が抑制されること³⁾⁴⁾や、レシピエント HLA-class II 抗原と産生されたドナー HPA 抗体との相関 (抗 HPA-1^b は DR3⁵⁾, 抗 HPA-5^b は DR6⁶⁾, 抗 HPA-4^b は DR2⁷⁾保有者で産生されやすい)に関する報告によっても支持される。

現在、直接経路を介する 1 次同種免疫感作を予防するための手段として、国内ではベッドサイドでの白除フィルターによる処理が主流となっている。我々は、血液疾患 78 名に対しベッドサイドで白除フィルター処理した血液製剤を輸血し、同種免疫感作の頻度とリスクについて検討した。その結果、全症例における HLA 抗体および HPA 抗体陽転率はそれぞれ 14%、1% であった。以上の結果は、同様にベッドサイドで白除フィルター処理 (混入白血球数: 5×10^6 以下) した Legler⁸⁾らの結果とほぼ一致した (HLA 抗体 vs HPA 抗体: 11.7% vs 2.1%)。また、前感作のない群での HLA 抗体陽転率は 5% まで抑制されていたが、前感作を有した群では 24% と有意に高かった ($p < 0.02$)。中でも、輸血歴のみを有した症例では 30% (3/10)、妊娠歴を有した女性では 33% (6/18) とさらに高値

であった。このことから、輸血歴および妊娠歴は同種免疫における危険因子であり、特に妊娠歴を有する女性の 3 人に 1 人は、同種血輸血後に HLA 抗体が関与する反応を誘発する可能性がある。

同種免疫感作が白除フィルターによって完全に克服できない理由として、フィルターの性能とは無関係にいくつか考えられている。血小板輸血に際しては、血小板上に既存する HLA-class I 抗原が刺激となって、間接経路を介し 2 次免疫応答が誘導されている可能性がある。前感作のあった群で白除フィルターの効果が低いのはそのためである⁹⁾¹⁰⁾。また、保存製剤を用いたベッドサイドでの白血球除去処理では同種免疫感作を完全には予防できないとする指摘もある¹¹⁾¹²⁾。保存中に残存白血球膜から逸脱する soluble HLA 抗原や微細な膜断片が、白除フィルターによって捕獲されずに過され、免疫原となっている可能性がある。Saarinen ら¹³⁾によれば、採血後まもなく血液から白除フィルターによって混入白血球数を 1×10^6 以下まで除去 (prestorage) すると、同種免疫感作は完全に抑えられたという。prestorage 白血球除去血液製剤は、残存白血球から逸脱してくるサイトカインによる副反応だけでなく、同種免疫感作の防止効果についても期待されている¹⁰⁾¹⁴⁾。

本検討で、HPA 抗体陽転率は 1% (前感作歴のない群では 0%) と低値であった。この結果がすなわち、白除フィルターが HPA 抗体産生を抑制することを意味するものではないが、その抗体産生機序に HLA 抗体と同様に直接経路が関与している可能性がある。近年、この観察を示唆する知見が報告されている¹⁵⁾¹⁶⁾。

小児群では、成人群に比べ長期にわたり複数のドナーから輸血を受けたが、HLA 抗体の陽転率は成人群に比し有意に低いことが明らかになった (3% vs 23%, $p < 0.01$)。前述したように、白除フィルターには 2 次免疫感作を防止する効果がないことから、成人群では特に妊娠歴を有した女性患者が陽転率を引き上げていたと考える。

しかしながら、寛解導入療法時や骨髄移植などに行われる大量化学療法によって、同種免疫応答が抑制されるという報告がある¹⁷⁾。小児群では未

梢血幹細胞移植 (PBST) のために幹細胞採取および移植や同種骨髄移植が積極的に施された症例が成人群に比し有意に多かった。輸血歴のみを有した症例で成人群が 10 例中 3 例 (30%) に HLA 抗体陽転を認めたのに対し、小児群では 11 例すべてにおいて検出されなかった。この結果から、小児では成人よりも同種免疫応答能が未熟である可能性と、PBST によるさらなる大量化学療法によって 2 次同種免疫感作も抑制されている可能性が示唆された。

結 論

白血球除去製剤の使用により、前感作のない群での HLA 抗体および HPA 抗体の陽転率はそれぞれ 5%・0% と良好に抑制されていた。しかし、輸血歴や妊娠歴のある症例では HLA 抗体陽転率は 24% と依然として高率であることも明らかとなった。同種免疫の観点から、女性は妊娠によって受ける前感作から免れることは不可能である。血小板輸血を要する輸血歴や妊娠歴を有す症例では、輸血血小板不応に備えて HLA (class I 抗原) 検査をあらかじめ施行し、輸血後に HLA 抗体が産生された場合には速やかに HLA 適合血小板が供給依頼できる体制を整えておくのが望ましい。

文 献

- 1) 前田平生：輸血による免疫修飾。日輸血会誌，853-861, 1997.
- 2) Lechler, R.I. and Batchelor, J.R. : Restoration of immunogenicity to passenger cell-depleted kidney allografts by the addition of donor strain dendritic cells. *Journal Express Medicine*, 155 : 31-41, 1982.
- 3) Eernisse, J.G. and Brand, A. : Prevention of platelet refractoriness due to HLA antibodies by administration of leuko-poor blood components. *Exp. Hematol.*, 9 : 77-83, 1981.
- 4) van Marwijk Kooy, M., van Prooijen, H. C., Moes, M. et al. : Use of leukodepleted-platelet concentrates for the prevention of refractoriness and primary HLA alloimmunization : A prospective, randomized trial. *Blood*, 77 : 201-205, 1991.
- 5) Reznikoff-Etievant, M.F., Muller, J.Y., Julien, F. et al. : An immune response gene linked to MHC in man. *Tissue Antigens*, 22 : 312-314, 1983.
- 6) Muller-eckhardt, C., Kiefel, V., Kroll, H. et al. : HLA-DRw6, a new immune response marker for

- immunization against the platelet alloantigen Bra. *Vox Sang.*, 57 : 90-91, 1989.
- 7) 永尾暢夫，谷上純子，安原佳津江，他：患者および献血者に見いだした血小板抗体の特異性，特に HPA-4b 抗原の免疫と HLA-DR2 (A24-B52-Cw-DR2) 抗原の相関について。日輸血会誌，37 : 32-39, 1991.
 - 8) Legler, T.J., Fischer, I., Dittmann, J. et al. : Frequency and cause of refractoriness in multiply transfused patients. *Ann. Haematol.*, 74 : 185-189, 1997.
 - 9) Sintincolaas, K., van Marwijk Kooy, M., van Prooijen, H.C. et al. : Leukocyte depletion of random single-donor platelet transfusions does not prevent secondary human leukocyte antigen - Alloimmunization and refractoriness : A randomized prospective study. *Blood*, 85 : 824-828, 1995.
 - 10) Novotny, V. M.J., van Doorn, R., Witvliet, M. D. et al. : Occurrence of allogeneic HLA and non-HLA antibodies after transfusion of prestorage filtered platelets and red blood cells : a prospective study *Blood*, 85 : 1736-1741, 1995.
 - 11) Williamson, L.M., Wimperis, J.X., Williamson, P. et al. : Bedside filtration of blood products in the prevention of HLA alloimmunization - A prospective randomized study. *Blood*, 83 : 3028-3035, 1994.
 - 12) Ramos, R.R., Curtis, B.R., Duffy, B.F. et al. : Low retention of white cell fragments by polyester fiber white cell-reduction platelet filters. *Transfusion*, 34 : 31-34, 1994.
 - 13) Saarinen, U.M., Koskimies, S. and Myllylä, G. : Systematic use of leukocyte-free blood components to prevent alloimmunization and platelet refractoriness in multitransfused children with cancer. *Vox Sang.*, 65 : 286-292, 1993.
 - 14) Killick, S.B., Win, N., Marsh, J.C.W. et al. : Pilot study of HLA alloimmunization after transfusion with pre-storage leukodepleted blood products in aplastic anemia. *Br. J. Haematol.*, 97 : 677-684, 1997.
 - 15) 椿 和央：輸血フィルターによる同種免疫の防止。日輸血会誌，34-38, 1997.
 - 16) 岡井 幹，齋田美江，西村元子，他：血小板抗原 HPA-5b に特異的な CD4 陽性インデューサー T 細胞の樹立 第 8 回日本組織適合性学会抄録集，6 : 96, 1999.
 - 17) Tomas, V., Terasaki, P.I. and Deisseroth, A.B. : Suppression of transfusion-related alloimmunization in intensively treated cancer patients. *Blood*, 58 : 122-127, 1981.