

原 著

## 赤血球 M・A・P「日赤」を選択的 IgA 欠損者に投与して 発生した非溶血性輸血副作用と洗浄操作の効果

嶋田 英子<sup>1)</sup> 黒澤みち子<sup>1)</sup> 島野 佳恵<sup>1)</sup> 池田 和代<sup>1)</sup>  
長橋 久方<sup>1)</sup> 高野 明雄<sup>2)</sup> 小島 直美<sup>3)</sup> 石井 規子<sup>3)</sup>  
五味 邦英<sup>3)</sup> 三輪 裕介<sup>4)</sup> 根岸 雅夫<sup>4)</sup> 井出 宏嗣<sup>4)</sup>  
光永 滋樹<sup>1)</sup> 田所 憲治<sup>1)</sup> 十字 猛夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>日本赤十字社中央血液センター

<sup>2)</sup>東京都南赤十字血液センター

<sup>3)</sup>昭和大学病院輸血部

<sup>4)</sup>昭和大学病院第一内科

(平成 11 年 11 月 22 日)

(平成 12 年 2 月 4 日)

### ANAPHYLACTIC REACTIONS FOLLOWING TRANSFUSION OF RC-MAP TO A SELECTIVE IGA DEFICIENT PATIENT WITH ANTI-IGA EFFECTS OF WASHING PROCESSES

E. Shimada<sup>1)</sup>, M. Kurosawa<sup>1)</sup>, K. Shimano<sup>1)</sup>, K. Ikeda<sup>1)</sup>, H. Nagahashi<sup>1)</sup>,  
H. Takano<sup>2)</sup>, N. Kojima<sup>3)</sup>, N. Ishii<sup>3)</sup>, H. Gomi<sup>3)</sup>, Y. Miwa<sup>4)</sup>, M. Negishi<sup>4)</sup>,  
H. Ide<sup>4)</sup>, S. Mitsunaga<sup>1)</sup>, K. Tadokoro<sup>1)</sup> and T. Juji<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>The Japanese Red Cross Central Blood Center

<sup>2)</sup>The Southern Tokyo Red Cross Blood Center

<sup>3)</sup>Division of Blood Transfusion, Showa University School of Medicine

<sup>4)</sup>The First Department of Internal Medicine, Showa University School of Medicine

A 69-year-old woman with rheumatoid arthritis was given a transfusion of a bag of red cell concentrate in mannitol-adenine-phosphate solution (RC-MAP) to improve anemia before she received an operation for gall bladder cancer. About 30 minutes after the start of the transfusion, anaphylactic reactions consisting of chills, nausea, vomiting and hypotension developed. She was found to have selective IgA deficiency and elevated anti-IgA antibodies, suggesting that these adverse reactions had been triggered by immunological reactions between patient anti-IgA and transfused IgA in the RC-MAP. She was, however, given saline-washed RC-MAP without any side effects in the subsequent transfusion.

The content of plasma protein in RC-MAP is lower than that in whole blood (WB) or concentrated red cells (CRC) with a resultant lower incidence of non-hemolytic transfusion reactions. However, its IgA content was high enough to develop anaphylactic reactions in the patient. Sequential dilution-concentration washing of RC-MAP with saline was effective in preventing the reactions.

**Key words** : Anaphylactic transfusion reactions, selective IgA deficiency, RC-MAP

## はじめに

免疫グロブリンのうち IgA のみが単独で欠損している選択的 IgA 欠損症は、欧米では健常人約 1,000 人に 1 人と高頻度で認められる<sup>1)</sup>。欠損者の血中にしばしば検出される抗 IgA 抗体は、輸血時に、投与された製剤中に含まれる IgA と抗原抗体反応を起こし、アナフィラキシー反応惹起の原因となるとされる<sup>2,3)</sup>。選択的 IgA 欠損症は、日本国内でも、頻度は約 10,000 人に 1 人と欧米に比べ低いものの存在し<sup>4)</sup>、抗 IgA 抗体産生例に対する濃厚赤血球「日赤」(RC-RC)の輸血によって非溶血性副作用が発生したとの報告がある<sup>5)</sup>。

著者らは、血漿成分等の除去工程を含む赤血球 M・A・P「日赤」(RC-MAP)の輸血によって即時型アナフィラキシーを発生し、さらに本剤の洗浄操作により副作用が抑制できた症例を経験した。そこで、RC-MAP の IgA 含量と洗浄操作での IgA の除去効果について検討したので併せて報告する。

## 症 例

69 歳女性慢性関節リウマチ患者、胆嚢癌の手術のため 1997 年 10 月に入院。輸血歴は無いが妊娠歴が有った。子供の 1 人が血清 IgA 値正常域下限であった。11 月 16 日術前貧血改善の目的で 400 ml 採血由来の同型 RC-MAP 2 単位製剤 (RC-MAP-2)  $\gamma$  線照射済み 1 Bag を輸血した。開始 10 分後より発汗過多、吐気を認めた。さらに開始 30 分後、約 30 ml を投与された時点で、著しい発汗とともに悪心、嘔吐、血圧低下 (BP130/70 から 90/58) を認めた。輸血を中止することにより症状は回腹した。11 月 17 日、白血球除去フィルター (旭メデイカル社製セパセル) を用いて再度 RC-MAP ( $\gamma$  線照射) を輸血、10 分後から悪感戦慄、60 分後に発熱 (37.9) を認め、輸血を中止した。輸血前後の患者血の分析を行ったところ、IgA 含量が測定感度以下であり、かつ IgG クラスの高力価抗 IgA 抗体が検出された。そこで、製剤中に含まれる IgA と患者血中の抗 IgA 抗体との反応が副作用発生の原因と推定し、以後の輸血では製剤中の IgA の除去が必要と考えた。11 月 20 日に、2 回洗浄操作を施した RC-MAP-2 を投与したところ、副

作用も無く輸血効果も認められた。12 月 8 日に腹腔鏡下胆嚢切除術が無輸血で行われ、回復、退院した (Fig. 1)。

## 方 法

### 1. 抗 IgA 抗体 (IgG クラス) の検出

抗 IgA 抗体は、プールヒト血漿由来 IgA (アテンズリサーチ社製) を抗原に、Horseradish Peroxidase 標識抗ヒト IgG (Fc) マウスモノクローナル抗体を二次抗体として用いた ELISA<sup>6)</sup> で検出した。抗 IgA 抗体価は、抗体の含量の指標となる Peroxidase の基質の酸化による発色の吸光度が、健常人血清に比較して平均 + 2SD 以上の増加が認められる被検血清の最終希釈倍率をもって表示した。抗体の性質は、ウェスタンブロット法<sup>6)</sup> で確認した。プールヒト血漿由来 IgA、ヒトミエローム由来 IgA1、IgA2m (1)、および IgA2m (2) (ノルディック社製) を 2% 2-メルカプトエタノール還元および非還元条件下 SDS-PAGE で泳動、ポリビニリデンフルオライド (PVDF) 膜に転写後、患者血清と反応させ、Horseradish Peroxidase 標識抗ヒト IgG (Fc) マウスモノクローナル抗体およびエンハンスケミルミネセンス (ECL, アマシャムファルマシア社製) を用いて検出した。抗体は 3% ポリエチレングリコールと PBS を含む 1.2% アガロースゲル中での患者血清に対する精製 IgA、健常人および IgA 欠損者血清を用いた二重拡散による沈降線形成反応によっても確認した。

### 2. 血中 IgA 含量の測定

総 IgA 含量はピークレートネフェロメトリー法 (アレイ 360 システム, ベックマン社製) で測定した。IgA1、IgA2 の 2 つのサブクラス含量は一元免疫拡散法 (バインディングサイト社製) で測定した。

### 3. RC-MAP の洗浄操作

洗浄操作は、常法<sup>7)</sup> に従い滅菌生理食塩水の製剤への添加、遠心分離、上澄除去を繰り返すことにより行った (Fig. 2)。洗浄工程は 3 回繰り返した。遠心後の上澄 (洗浄液) を回収し、3 回洗浄調製した RC-MAP 最終製剤の上澄とともに、IgA 含量を測定し、洗浄の効果を検討した。

### 4. RC-MAP および洗浄液中の IgA

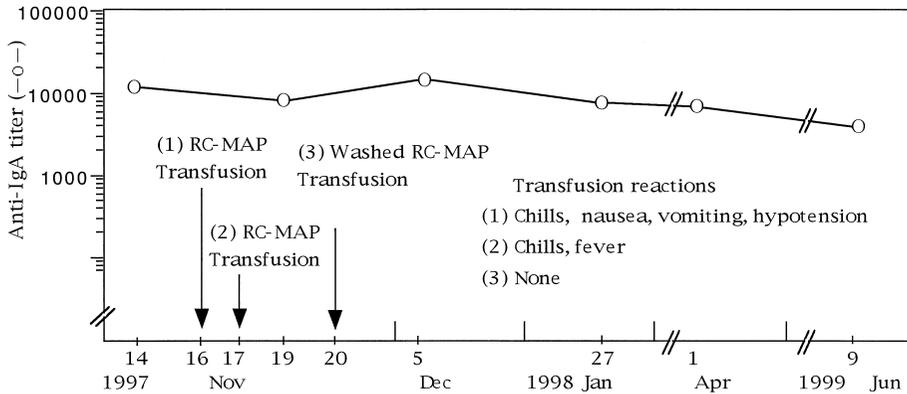


Fig. 1 Clinical course

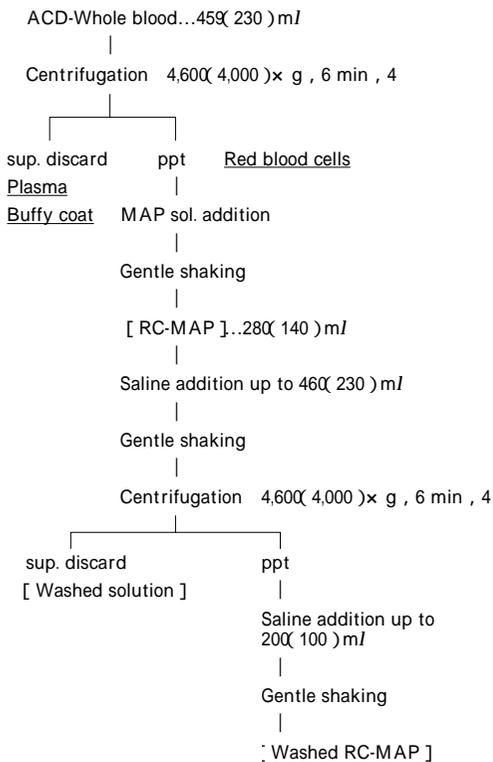


Fig. 2 Preparation processes of RC-MAP and saline-washed RC-MAP

This figure shows the preparation and washing processes of RC-MAP-2, prepared from 400 ml of donated blood. Numbers in parentheses represent the volume or the conditions of centrifugation for RC-MAP, prepared from 200 ml of donated blood.

RC-MAP およびセグメントの上澄の含量測定はピークレートネフェロメトリー法で行い, 洗浄液および洗浄製剤の上澄の含量測定は, サンドイッチ ELISA で行った. 本法では, Nunc 社製 ELISA 用 96 ウェルプレート, 一次抗体として, 抗ヒト IgA ウサギ IgG (ダコ社), 二次抗体として, HRP 標識抗ヒト IgA ヤギ IgG (E. Y. ラボラトリー社製), 発色基質としては TMB マイクロウエル基質 (KPL 社製) を用いて測定した.

### 結果

#### 1. 患者血中に検出された抗 IgA 抗体と IgA 含量

副作用を発生したのは, 患者にとっての初回の輸血であったが, 患者の輸血前の血中に既に高力価の抗 IgA 抗体が検出された. ウェスタンブロットの結果から, IgA の H 鎖とすなわち α 鎖と反応するクラス特異抗体であることが示唆された (Fig. 3). また, 患者血清は, 健常人血清, 精製ヒト血漿由来 IgA, ミエローマ IgA1, IgA2m(1), IgA2m(2) に対し, アガロースゲル内拡散法で沈降線の形成が観察された (Fig. 4). 血中 IgA 含量は, 二年間の観察で常にネフェロメトリー法の検出限界以下 (<3.3 mg/dL) であり, IgA1, IgA2 のサブクラスも検出されなかった (Fig. 5). 一方, ネフェロメトリー法で同時に測定した IgG および IgM 含量は正常域であり, 患者が選択的 IgA 欠損症であることが確認された. 患者の抗 IgA

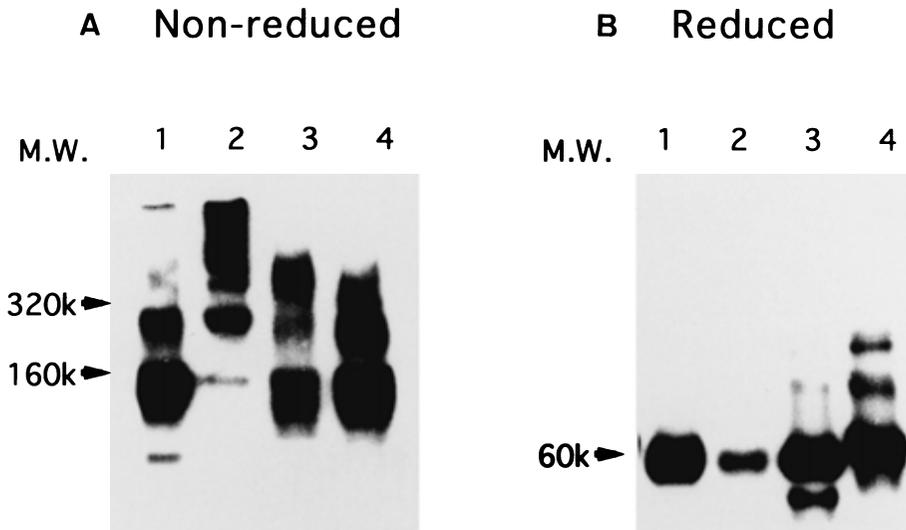


Fig. 3 Anti-IgA ( $\alpha$ -chain) antibody detected in patient's serum by Western blot

A. Samples were electrophoresed under non-reducing conditions on 2 ~ 15% polyacrylamide gel. B. Samples were reduced and electrophoresed. Following the transfer of the proteins to the PVDF, the membrane was incubated with patient's serum and the antibody against IgA was detected using horseradish peroxidase-conjugated anti-human IgG (Fc) mouse monoclonal antibody and enhanced chemiluminescence.

Lane 1 : Human IgA purified from pooled plasma Lane 2 : Myeloma IgA1

Lane 3 : Myeloma IgA2m (1) Lane 4 : Myeloma IgA2m (2)

抗体価は、その後新たな抗原との接触が無いにもかかわらず、2年間にわたり高力価で維持されていた (Fig. 1)。

2. RC-MAP 中の IgA 含量と洗浄操作による除去

RC-MAP 2 単位製剤 (400ml 採血全血由来) 12 Bag について、添付のセグメントと Bag 本体の上澄の IgA 含量を測定した (Table 1)。全血採血時の IgA 含量を表すと考えられるセグメント上澄の濃度  $178 \pm 134$  mg/dL に対し、RC-MAP 上清では  $15.0 \pm 7.8$  mg/dL と、 $8.3 \pm 1.6\%$  に減少していた。また、製剤の総容量と Ht から推定される製剤中の総 IgA 含量は  $3.4 \pm 0.7\%$  に減少した。

200 ml および 400 ml 採血全血由来 RC-MAP 各 3bag を日本赤十字社業務標準に従い洗浄し (Fig. 2)、その洗浄液の IgA 含量を測定した。上澄の

IgA 含量は指数関数的に減少し 2 ~ 3 回の洗浄によって  $0.01 \sim 0.1$  mg/dL と健康人血漿の  $1$  千 ~  $1$  万分の  $1$  以下となった (Fig. 6)。

### 考 察

選択的 IgA 欠損症は欧米で健康人の約 1,000 人に 1 人<sup>1)</sup> 日本国内では約 10,000 人に 1 人<sup>4)</sup> の頻度で存在すると報告されている。一般に、選択的 IgA 欠損者は易感染性が認められるものの健康に日常生活を営むことが可能であり、したがって欠損や抗体産生に関して情報の無いまま、他の疾患や事故などで輸血を受けるおそれがある。欠損者には、しばしば同種あるいは自己抗 IgA 抗体が血中に産生されており、その様な症例に、血漿成分すなわち IgA を含む血液製剤が輸血され、アナフィラキシーショック、アナフィラキシー様反応などの重篤な即時型副作用を発生したとの報告が多数あ

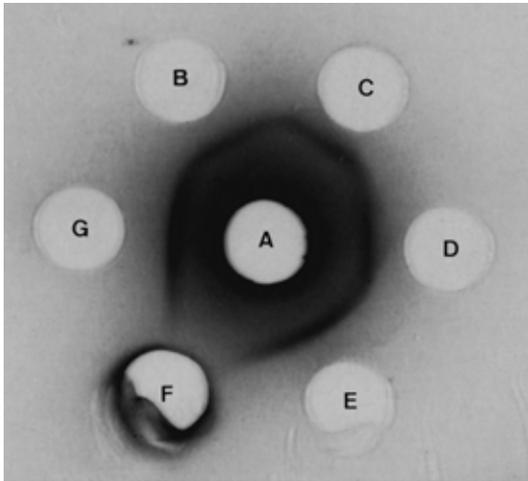


Fig. 4 Class specific anti-IgA in patient serum detected by double immunodiffusion

Samples were added to the wells and precipitation lines were observed for three days at room temperature. The agarose gel was stained with Coomassie Brilliant Blue after removing the soluble proteins with excess volume of saline for 5 days at 4

- A. Patient serum
- B. Polyclonal IgA purified from pooled human plasma (0.2 mg/ml)
- C. Myeloma IgA1 (0.2 mg/ml)
- D. Myeloma IgA2m (1  $\times$  0.2 mg/ml)
- E. Myeloma IgA2m (2  $\times$  0.2 mg/ml)
- F. IgA deficient serum without anti-IgA
- G. Normal human serum diluted 10 times with PBS

る<sup>2)3)</sup>.

本症例では慢性関節リウマチの治療過程で血中の免疫グロブリンの測定を行い、IgA が検出されなかったことから IgA 欠損の可能性を指摘されていたが、抗体に関しては未検査であった。副作用発生時に輸血歴はなかったが、事後の検査で輸血前にすでに血中に高力価抗 IgA クラス特異 IgG 抗体が存在していたことが明らかとなった。したがって、11月16日の初回の輸血でアナフィラキシー反応を惹起した主因は患者血中の抗 IgA 抗体と投与製剤中の IgA との間の免疫複体の形成によって引き起こされた反応であると思われる。翌日の2回目の輸血の際の発熱性副作用については、IgA 欠損者に対する輸血の際の副作用で

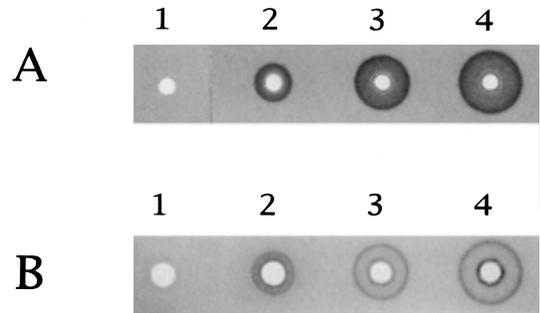


Fig. 5 IgA subclass measurement of patient serum by single radial immunodiffusion

Patient serum and standard samples were added to the wells on the agarose gel plates containing mono-specific antibodies against the IgA subclass. After three days at room temperature, diameters of the precipitation rings were measured. Concentrations of IgA subclasses of the patient serum were shown to be under the detection limits, 0.57 mg/dL for IgA 1 and 0.53 mg/dL for IgA2, calculated from the calibration curves obtained from those of the standard samples. The agarose gels were stained with Coomassie Brilliant Blue after removing the soluble proteins with saline.

Agarose plates containing anti-IgA1 ; A and anti-IgA2 ; B.

Patient serum ; well 1 and standard samples ; well 2-4 were added ( plate A ; 2. 4.25 IgA1 mg/dL, 3. 25.5 IgA1 mg/dL, 4. 42.5 IgA1/dL and plate B ; 2. 2.55 IgA2 mg/dL, 3. 15.3 mg IgA2/dL, 4. 25.5 mg IgA2/dL ).

発熱反応の記載は比較的少ないので、副作用発生への抗 IgA 抗体の関与は初回程明白でない。しかし、患者は血中の抗 HLA 抗体、抗 HPA 抗体、抗赤血球不規則抗体が陰性であること、RC-MAP が白血球除去フィルターを使用して輸血されたこと、採血後 15 日で投与され、ケミカルメディエーター等の蓄積も少ないと考えられること、細菌感染の兆候が認められないことなど、他の原因は否定的であることと 洗浄 RC-MAP で副作用が惹起されなくなったことから、初回と同様に患者血中の抗 IgA 抗体と投与 IgA の反応に由来する可能性は否定できない。

抗 IgA 抗体を有する選択的 IgA 欠損者に対して安全な輸血を行うには、血漿成分を除去した製

Table 1 IgA content of RC-MAP

	IgA conc( mg/dL )			Estimated total IgA( mg/Unit )		Recovery
	Original whole blood sup. <sup>A</sup>	RC-MAP sup. <sup>B</sup>	B/A × 100 (%)	Original whole blood <sup>C</sup>	RC-MAP <sup>D</sup>	D/C × 100 (%)
1	140	12.3	8.8	369	13.5	3.6
2	223	20.4	9.1	589	22.3	3.8
3	137	13.7	10.0	362	15.0	4.1
4	198	14.0	7.1	523	15.3	2.9
5	167	14.4	8.6	441	15.8	3.6
6	164	7.7	4.7	433	8.4	1.9
7	169	12.4	7.3	446	13.6	3.0
8	122	10.8	8.9	322	11.8	3.7
9	282	29.5	10.5	744	32.3	4.3
10	177	16.4	9.3	467	18.0	3.8
11	204	15.3	7.5	538	16.8	3.1
12	661	37.0	5.6	1,745	40.5	2.3
13	239	21.8	9.1	631	23.9	3.8
Mean	178	15.0	8.3	585	19.0	3.4
SD	134	7.8	1.6	353	8.5	0.7

C = A × vol. <sup>\*1</sup> × (1-Ht <sup>\*2</sup>) D = B × vol. <sup>\*3</sup> × (1-Ht <sup>\*4</sup>)  
<sup>\*1</sup> : 4.95 dL <sup>\*2</sup> : 0.425<sup>8</sup>) <sup>\*3</sup> : 2.8 dL <sup>\*4</sup> : 0.609<sup>9</sup>)

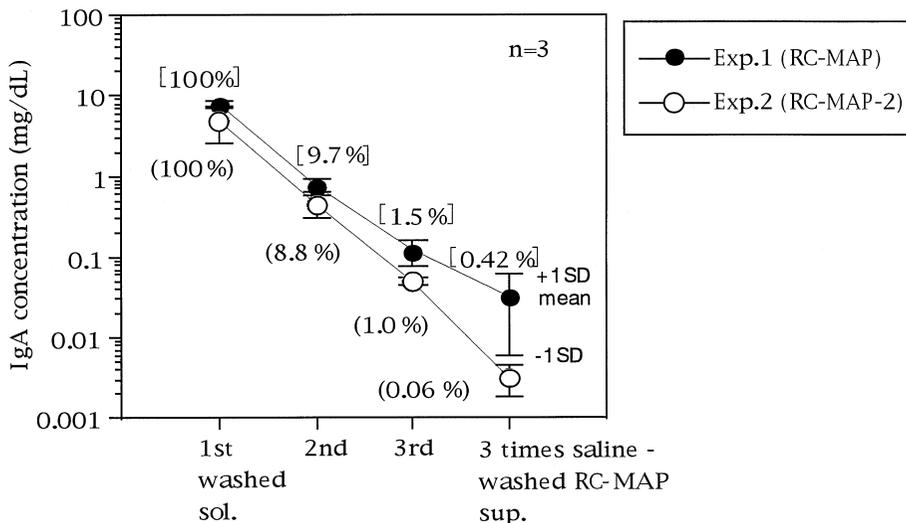


Fig. 6 IgA elimination by washing

RC-MAPs were washed three times in saline. These were diluted with saline and then centrifuged. The supernatant ( washed solution ) was removed. Washed RC-MAPs were resuspended in saline. IgA concentrations of the washed solutions and of the supernatant of washed RC-MAPs were determined.

Experiments were performed for RC-MAP ( ) and for RC-MAP-2 ( ).

剤があるいはIgA 欠損供血者由来の製剤が必要とされる。副作用防止には、血球成分を輸注する

場合製剤中のIgA 含量を極力低下させる必要が指摘されている<sup>10,11)</sup>。RC-MAPは1992年に第

VIII 因子等の血漿分画製剤の原料血漿の国内自給と赤血球製剤の保存期間の延長を目的として日本赤十字社らによって開発された製剤である。製造工程に血漿やバファイコートの除去工程が含まれるので、従来の人全血(WB)あるいは濃厚赤血球(CRC)に比べこれらの成分に由来する輸血副作用は減少すると考えられている。結果で示した様に RC-MAP の IgA 含量は採血時の全血に比べ濃度で 8%、総量で 3% に減少した。しかしながら、本剤中に含まれる IgA (上澄濃度  $15.0 \pm 7.8$  mg/dL) は IgA 欠損に対する輸血の際に副作用を惹起するのに十分な量であると考えられた。洗浄操作は IgA の除去に効果的であり、その効率は回数に比例して上昇するものと思われた。1 回洗浄操作あたりの IgA の回収率は、手動操作による若干の差異が考えられるが、10% 前後と推定された。本症例では 2 回洗浄した RC-MAP の使用で、副作用発生を防止できた。当該製剤中の IgA 含量は測定が実施できなかったので明らかではないが、十分に低下し得たものと推定される。一般にはさらに 1~2 回、すなわち 3~4 回の洗浄操作を行えば、採血時の全血の IgA 含量や手動操作による上澄除去率のばらつき等を考慮しても、確実に推奨される IgA 含量の値 ( $0.2\text{mg/unit}$ )<sup>1)</sup> を下回る製剤を調製できるものと思われた。

IgA 欠損に対する輸血副作用の防止には、患者の欠損の同定のための血中 IgA 含量の測定、輸血前の抗 IgA 抗体の有無の検査、抗体陽性症例には極力 IgA を含まない製剤の投与が必要である。血中の IgA 含量は、入院患者では種々の診断の目的で他の血清タンパクと同時にしばしば測定されている。欠損の疑いの有る症例では特に輸血前の抗体検査が推奨される。本症例のように、長期に渡り抗原感作の有無にかかわらず高力価抗体を有する例があり注意を要する。また、抗体陽性者への

血球成分の輸血は充分洗浄操作を施した製剤が投与されるべきと思われる。

謝辞

本症例の検討にご協力いただきました昭和大学第二外科嘉悦 努先生、藤森 聰先生に深謝します。

#### 文 献

- 1) Koistinen J: Selective IgA deficiency in blood donors. *Vox Sang* 22: 192-202, 1975.
- 2) Vyas GN, Perkins HA, Fudenberg HH: Anaphylactoid transfusion reactions associated with anti-IgA. *Lancet* 2: 312-315, 1968.
- 3) Sandler SG, Mallory D, Malamut D, Eckrich R: IgA anaphylactic transfusion reactions. *Transfusion Medicine Review* IX: 1-8, 1995.
- 4) Kanoh T, Mizuno N, Yasuda N, Koya M, Ohno Y, Uchino H, Yoshimura K, Ohkubo K, Yamaguchi H: Selective IgA deficiency in Japanese blood donors: Frequency and statistical analysis. *Vox Sang* 50: 81-86, 1986.
- 5) 田村 操, 酒井隆信, 深田謙二, 松下喜八郎, 徳永和夫, 清川博之, 前田義章: 抗 IgA 抗体による輸血副作用の 1 症例. *日本輸血学会雑誌* 36: 452-457, 1990.
- 6) 嶋田英子, 平野昌子, 鈴木雅治, 高梨美乃子, 中島一格, 田所憲治, 十字猛夫: 非溶血輸血副作用惹起患者より検出された同種 IgA 抗体について. *日本輸血学会雑誌* 42: 96-102, 1996.
- 7) 赤十字血液センター業務標準技術部門製剤部門 第 4 章 1998.
- 8) 小田 貢: ACD 液, CPD 液による全血および赤血球濃厚液の経時変化. *日本輸血学会雑誌* 27: 11-23, 1981.
- 9) 柴 雅之, 村 徹, 増山哲也, 長橋久方, 田山達也, 笹川滋他: MAP 加濃厚赤血球の製造と長期保存試験. *日本輸血学会雑誌* 37: 404-410, 1991.
- 10) Fox SM, Staveland-Haiber LM: Immunoglobulin A (IgA) levels in blood products and plasma derivatives. *Immuno-hematol* 4: 5-9, 1988.
- 11) Baroti Toth C, Kramer J, Pinter J, Thek M, Szabo JS: IgA content of washed red blood cell concentrates. *Vox Sang* 74: 13-14, 1998.