

症 例

抗 HPA-6b 抗体が血小板輸血不応状態に
関与したと考えられる症例

岩本 通子¹⁾ 市村 和子¹⁾ 内田 和人¹⁾ 嶋 裕子¹⁾
足立 豊彦¹⁾ 谷上 純子²⁾ 福森 泰雄²⁾ 永尾 暢夫²⁾
柴田 洋一³⁾ 林 孝昌⁴⁾

¹⁾奈良県赤十字血液センター

²⁾大阪府赤十字血液センター

³⁾東京大学医学部附属病院輸血部

⁴⁾天理よろづ相談所病院血液内科

(平成 14 年 12 月 20 日受付)

(平成 15 年 2 月 13 日受理)

FIRST CASE OF PLATELET-TRANSFUSION REFRACTORINESS
CAUSED BY HPA-6b ANTIBODY Reported IN JAPAN

Michiko Iwamoto¹⁾, Kazuko Ichimura¹⁾, Kazuhito Uchida¹⁾, Hiroko Shima¹⁾,
Toyohiko Adachi¹⁾, Atsuko Taniue²⁾, Yasuo Fukumori²⁾, Nobuo Nagao²⁾,
Yoichi Shibata³⁾ and Takamasa Hayashi⁴⁾

¹⁾Nara Red Cross Blood Center

²⁾Osaka Red Cross Blood Center

³⁾Faculty of Medicine, The University of Tokyo, Department of Transfusion Medicine

⁴⁾Division of Hematology, Tenri Hospital

Here we report the first case of platelet-transfusion refractoriness due to anti-HPA-6b antibody in Japan. The patient was a 49-year-old woman, diagnosed as having myelodysplastic syndrome (MDS). She has been followed for more than 10 years, receiving frequent blood transfusions. In this interval, she developed platelet transfusion refractoriness, with only completely HLA-matched (HLA-identical) platelet concentrates (PC) being effective.

Gradually, however, the effectiveness of the two completely HLA-matched (HLA-identical) donors' PCs also decreased. The patient's HPA typing as well as the detection of anti-HPA antibodies in her serum were therefore performed.

The patient's HPA-6 phenotype was a + b -, whereas that of the two donors' was a + b +. In contrast, the HPA-6 phenotype of other PC donors, which were also effective, was a + b -. Anti-HPA-6b was detected in the patient's serum, with its titer increasing gradually during repeated transfusions from these two a + b + donors' PCs.

From the above findings, we concluded that the platelet transfusion refractoriness in this patient was due to anti-HPA-6b antibody, produced in consequence of the frequent transfusions of HLA-matched PCs, which were HPA-6b +.

In conclusion, in patients receiving repeated platelet transfusions, their effectiveness should be

carefully checked using parameters such as the CCI, and when it is lower than expected, the patient's serum should be screened for both anti-HLA and anti-HPA antibodies.

Key words : platelet-transfusion refractoriness, HLA-matched PC, Anti-HPA-6b antibody, anti-HLA antibody, anti-HPA antibody

はじめに

ヒト血小板特異抗原 (human platelet-specific antigen : HPA) は, 1959 年 van Loghem ら¹⁾によって初めて発見され, 以後 1999 年までに HPA 系として 13 の系が公認されている²⁾.

HPA 系は, 母児不適合による新生児血小板減少症 (neonatal alloimmune thrombocytopenia : NAIT) と血小板輸血不応状態 (platelet-transfusion refractoriness : PTR) が臨床上的問題としてよく知られている.

我が国では抗 HPA-3a, -4a, -4b, -6b 抗体などが NAIT 症例^{3,4)}で, 抗 HPA-2b 抗体などが PTR 症例^{5,6)}でよく検出される抗体の特異性として報告されている.

抗 HPA-6b 抗体は 1993 年カナダ⁷⁾とフィンランド⁸⁾において NAIT 患児から, 初めて検出された抗体である. 日本人の HPA-6b 抗原の頻度は約 4%⁹⁾と低く, PTR の原因抗体としての報告もなく, 血小板輸血においてはあまり問題とされていなかった.

今回, 我々は輸血効果の経過観察により PTR に抗 HPA-6b 抗体が関与したと考えられる症例を経験したので報告する.

症 例

患者は 49 歳の女性. B 型 Rh(D) 陽性, 妊娠歴 3 回. 1991 年 12 月, 汎血球減少にて近医を受診し, Hb 7.3g/dl, plt $7.8 \times 10^3/\mu\text{l}$, WBC 2,800/ μl , hypercellular marrow, Megakryocyte 329/ mm^3 , micromegakryocyte (+), megaloblastoid change (+), Ferrokinetics : 無効造血 pattern, 染色体検査異常なし. 以上より MDS と診断される. その後, 無治療で経過観察していたが, 1999 年 9 月, 貧血増強のため RC-MAP 及び PC 輸血を開始した. 1999 年 11 月, 抗 HLA 抗体産生により, HLA 適合血小板の供給を開始した. 2000 年 5 月に赤血球抗原 Rh 系の抗 E 抗体 (抗グロブリン法

で活性を示す) を検出し, 同年 11 月には抗 E 抗体に加えてパイン法のみで活性を示す抗 c 抗体の存在を認めるようになった.

輸血経過

1999 年 11 月, 患者血清とパネルリンパ球 30 例との反応を試みたところ, リンパ球細胞障害試験 (lymphocytotoxicity test : LCT) で 22 例, 抗グロブリン加リンパ球細胞障害試験 (antiglobulin-lymphocytotoxicity test : AHG-LCT) で 23 例に陽性反応を示した. 以後 2000 年 11 月までに 53 回の HLA 適合血小板輸血を行った. その結果, 新たな抗 HLA 抗体の産生を認めるようになり, 同年 12 月からは完全マッチ (適合度 B1U 及び B2U を含む) の HLA 適合血小板のみが輸血効果を認め, 他の適合度では輸血効果を認めなくなった. この時点で当センターの本症例の患者に対する HLA 適合血小板献血登録者は 3,960 人中 11 人となり, 全国需給調整の対象となった.

2001 年 3 月 25 日以降は, それまで血小板補正増加数 (corrected count increment : CCI) $2.0 \sim 2.5$ と輸血効果を認めていた献血者 2 名 (YN と YM) の血小板が, 患者血清との LCT 法, AHG-LCT 法が陰性であるにもかかわらず CCI が $0 \sim 0.6$ と輸血効果を認めなくなった. このことから, 抗 HPA 抗体の産生を疑い精査を行った.

方 法

血小板抗体検査は Shibata ら¹⁰⁾の開発した混合受身血球凝集反応 (mixed passive hemagglutination : MPHA) 法を用いて行い, 抗体同定は, 市販の抗 HPA 抗体同定パネル (オリンパス製) と HPA-6b 抗原を保有する血小板固層 10 パネルをクロロキン処理したものと未処理のものを用いて行った.

抗 HPA-6b 抗体の抗体価測定は, PBS で 2^6 希釈した患者血清と HPA-6 (a+b+) 型血小板を用いて MPHA 法で行った.

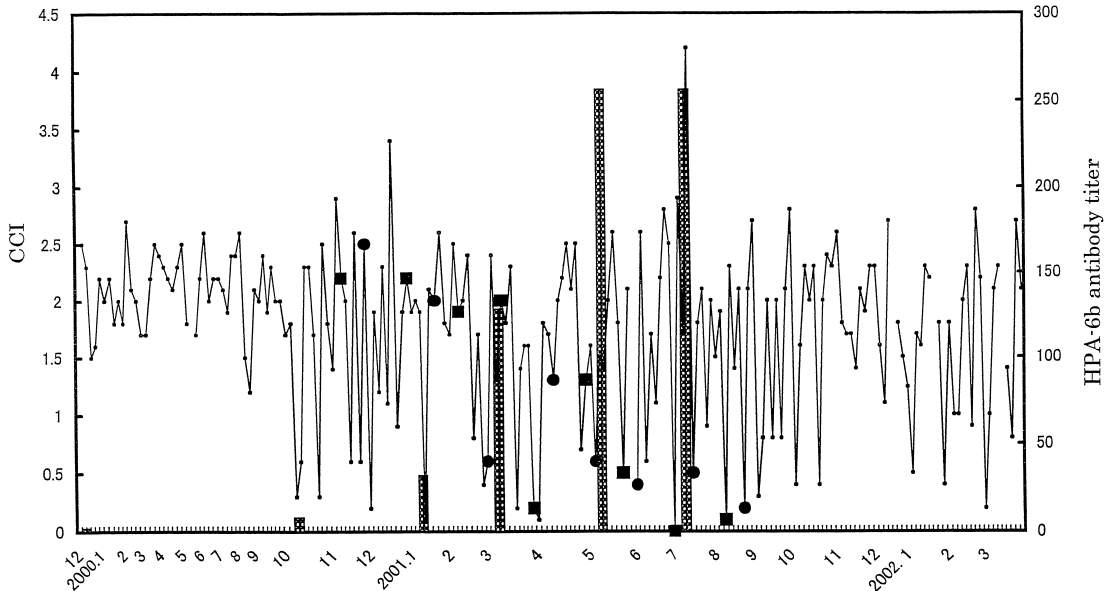


Fig. 1 Changes in response to platelet transfusion and the titer of HPA-6b antibody in the serum of a patient with platelet refractoriness due to HPA-6b antibody.
 The extent of response to transfusion of HLA-matched platelets for the patient is expressed as CCI (●). CCIs of the transfusion of platelets from two donors whose HPA-6 phenotypes were a + b +, and thus incompatible with the patient's (HPA-6 (a + b -)), are shown as (Y N) and (Y M). Meshed columns (■) indicate the titer of the patient's HPA-6b antibody.

臨床効果の判定は、輸血してから1時間後のCCIで判定した。

抗HLA抗体検査は、成分献血登録者由来のリンパ球にてLCT法とAHG-LCT法で行った。

結 果

抗HPA抗体検査の結果、患者血清中に抗HPA-6b抗体の存在を認めた。患者はHPA-6(a + b -)型であった。HPAを検査し得た献血者30名のうち、輸血効果を認めなくなった献血者2名(YN, YM)は、共にHPA-6(a + b +)型、他の28名はいずれもHPA-6(a + b -)型であった。

患者の抗HPA-6b抗体価は、HLA適合血小板供給開始時の1999年11月に2倍、2000年10月に8倍、2001年1月(完全マッチのHLA適合血小板供給開始1カ月後)に32倍、2名の献血者(YN, YM)に対して輸血効果を認めなくなってきた3月に128倍、5月に256倍と上昇した。

患者と当センター成分献血登録者9名のHLA

及びHPAをTable 1に、患者の抗HLA抗体の変遷についてはTable 2に示した。

考 案

PTRの原因としてのHPAは、HLAを適合させてもPC輸血の効果がないときに初めて問題とされることが多い。大阪府赤十字血液センターで1989年4月から2002年3月までの13年間で経験したHPAが関与したPTR 72例の検討では、抗HPA-2b抗体が一番多く61.1%を占め、次いで抗HPA-5b・5a抗体が9.7%、抗HPA-3a抗体が6.9%、抗Nak³抗体が5.6%であったという。諸家の報告^{5) 11)}でも同様に、抗HPA-2b抗体が一番多く認められている。

今回、我々が経験した症例では、HLAを完全適合(A座とB座の4抗原)させた血小板を供給したにもかかわらず、輸血効果が得られなくなり、抗HPA抗体を検索したところ、抗HPA-6b抗体が検出された。

Table 1 HLA and HPA types of the patient and 9 donors

	ABO blood type	HPA								Nak	HLA				effect
		1	2	3	4	5	6	7	8		A	B	C	DR	
patient	B	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+	(0206, 24)	(1511, 7)	(w9, w7)	(0101, 1201)	
[donor]															
YN	B	a+b-	a+b-	a+b+	a+b-	a+b-	a+b+	a+b-	a+b-	a+	(24, -)	(7, -)	(w7, -)	(01, -)	bad
YM	A	a+b-	a+b-	a+b+	a+b-	a+b-	a+b+	a+b-	a+b-	n.t.	(2, -)	(7, -)	(w7, -)	(01, -)	bad
OM	A	a+b-	a+b-	a-b+	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+	(2, 24)	(7, -)	(w7, -)	(0101, 15021)	good
SJ	A	a+b-	a+b-	a+b+	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	n.t.	(24, -)	(7, -)	(w7, -)	(0101, -)	good
SM	AB	a+b-	a+b-	a-b+	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	n.t.	(2, 24)	(7, 75)	(w7, w9)	(01, 04)	good
HS	A	a+b-	a+b-	a+b+	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	n.t.	(24, -)	(7, -)	(w7, -)	(01, -)	good
TE	A	a+b-	a+b-	a+b+	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	n.t.	(2, -)	(7, 75)	(w7, w9)	(01, 09)	good
SA	O	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	n.t.	(24, -)	(7, -)	(w7, -)	(01, -)	good
YY	AB	a+b-	a+b-	a+b+	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	a+b-	n.t.	(2, 24)	(7, -)	(w7, -)	N.T.	good

Table 2 Decrease in the number of cross-reactive HLA antigens during the repeated HLA-matched platelet transfusions

tested in	Cross reactive groups HLA antigen
1999. 11	A2, A24, B7, B75, B35, B13, B40, B46, B62
2000. 11	A2, A24, B7, B75, B35
2000. 12	A2, A24, B7, B75

HLA-type of patient : (A2, A24 & B7, B75)

本患者に供給した HLA 適合血小板の中で HPA を調べることができたのは 30 名であった。そのうち、輸血効果が得られなくなった献血者 2 名 (YN, YM) は HPA-6 (a+b+) 型で、他の 28 名は HPA-6 (a+b-) 型であった。

このことから、患者は 2 名の HPA-6 (b+) 型献血者 (YN, YM) の血小板輸血によって抗原刺激を受け、輸血開始時には 2 倍しかなかった抗 HPA-6b 抗体価が上昇し、PTR を引き起こしたと考えられた。

患者は HLA 適合血小板の輸血開始時にすでに抗 HPA-6b 抗体を低力価ながら保有していた。患者は、過去 3 回の妊娠歴があり、3 人の息子がいる。そのうちの 2 名の HPA タイピングを行ったが、結果は 6b 陰性であった。残りの 1 名と夫の検査が行われていないので、抗体の獲得機序は不明であるが、妊娠、あるいはそれまでに行われた輸血によるものと考えられる。

その後、輸血回数が増加するにつれ、徐々に抗体価は上昇し、2 名 (YN, YM) の HLA 完全適合の献血者から得た血小板輸血が効果を示さなくなった 2001 年 3 月には 128 倍、それ以降は 256 倍となった。

本例の血小板輸血は抗体価の上昇とともに、その効果が得られなくなった。

わが国の 3 例の抗 HPA-6b 抗体による NAIT 例は抗体価がそれぞれ 256 倍、1,024 倍と 8 倍であったと報告^{4) (2)}されている。

抗 HPA-6b 抗体は、抗体価が低い時には本当に問題が生じないのか、また抗体価が何倍以上になれば危険なのかがまだよく判明していない。輸血効果と抗 HPA-6b 抗体価の相関性の有無については、今後、多くの症例の積み重ねが必要と考える。

現在、全国の血液センターでは抗 HLA 抗体が検出された時に、HLA 適合血小板を供給する体制は整備されている。HLA 適合血小板を供給する場合、病院から輸血効果についての情報を提供してもらっているが、CCI をチェックし、確実に輸血効果を確認することが重要である。輸血効果を認めなくなった場合には、抗 HLA 抗体のみならず抗 HPA 抗体の検索も必要になってくる。そして、抗 HPA 抗体が検出された時には、その抗体と反応しない (抗原を保有しない) 適合血小板 (HPA 適合血小板) を供給することが望ましいが、このよう

な場合の血液センターの対応は、まだ統一されていない。HPA 適合血小板を供給するためには、患者と成分献血者の HPA タイピングが必要になる。しかし各血液センターで個別にタイピングを行うには、経済的にも人的にも限界がある。

全国数カ所の血液センターで集中して検査を行い、センター間の連絡を密にして HPA 適合血小板を供給できるような体制を作ることも必要と思う。現在一部の血液センターでは、日本人の PTR の原因として一番多い抗 HPA-2b 抗体に対する抗原を成分献血登録者についてあらかじめ検査して、必要な時に迅速に供給できるようにしている。このような対応を広げていくことが今後大切である。

今回は、主治医の輸血効果表の早い返却ときめ細かな患者観察、血液センターの適切な対応等によって患者にタイムリーで適切な輸血が行えた。併せて抗 HLA、抗 HPA 両抗体の産生の推定と力価上昇も確認することができた。

今後、HLA 適合血小板を供給している症例は、医療機関との連絡を密にして、必ず輸血効果表の迅速な返却を求め、対応していくことが必要と考える。

まとめ

抗 HPA-6b 抗体による PTR 例の、本邦第 1 例を報告した。

本症例では、抗 HPA-6b 抗体価が低い時には輸血効果を認め、高い時には輸血効果を認めなかった。本症例から抗 HPA-6b 抗体は、低い抗体価では一見臨床的に問題とならないように思えるが、今後多くの症例を重ねて検討する余地があると思われる。

文 献

1) Loghem, J.J. van., Dorfmeier, Hanny., Hart, Mia, van, der. : Serological and genetical studies on a platelet antigen (Zw). *Vox Sang.*, 4 : 161-169,

- 1959.
- 2) Santoso, S., Kifel, V. : Human platelet-specific alloantigens ; update. *Vox Sang.*, 74 : 249-253, 1998.
- 3) 永尾暢夫 : 新生児血小板減少性紫斑病 (減少症) と HPA 抗体 . 日本産婦人科新生児血液学会誌, 7 : 116-124, 1997.
- 4) Taniue, A., Nagao, N., Tomita, T., Okubo, Y., Kinoshita, N., Okinaga, A., Shibata, Y. : Two cases of NAITP due to anti-HPA-6bw in Japanese population. Abstracts of 25th Congress of the ISBT, *Vox Sang.*, 1414, 1998.
- 5) Saji, H., Maruya, E., Fujii, H., Maekawa, T., Akiyama, Y., Matsuura, T., Hosoi, T. : New platelet antigen, Sib^a, involved in platelet transfusion refractoriness in a Japanese man. *Vox Sang.*, 56 : 283-287, 1989.
- 6) 永尾暢夫 : HLA 適合血小板の供給 . 日輸血会誌, 43 : 30-33, 1997.
- 7) McFarland, J.G., Blanchette, V., Collins, J., Newman, P.J., Wang, R., Aster, R.H. : Neonatal alloimmune thrombocytopenia due to a new platelet-specific alloantibody. *Blood*, 81 : 3318-3323, 1993.
- 8) Kekomäki, R., Jouhikainen, T., Ollikainen, J., Westman, P., Laes, M. : A new platelet antigen, Tu^a, on glycoprotein a associated with neonatal alloimmune thrombocytopenia in two families. *Br. J. Haematol.*, 83 : 306-310, 1993.
- 9) Tanaka, S., Taniue, A., Nagao, N., Tomita, T., Ohnoki, S., Shibata, H., Okubo, Y., Yamaguti, H., Shibata, Y. : Genotype Frequencies of the Human Platelet Antigen, Ca/Tu, in Japanese, Determined by a PCR-RFLP Method. *Vox Sang.*, 70 : 40-44, 1996.
- 10) Shibata, Y., Juji, T., Nishizawa, Y., Sakamoto, H., Ozawa, N. : Detection of platelet antibodies by a newly developed mixed agglutination with platelets. *Vox Sang.*, 41 : 25-31, 1981.
- 11) 岸野由貴子, 尼岸悦子, 小島芳隆, 松山宣樹, 谷上純子, 福森泰雄, 吉村敬次, 山野 孟, 柴田洋一 : HPA 適合血小板製剤の供給について . 第 50 回日本輸血学会総会抄録集, 135, 2002.
- 12) 松山宣樹, 坂元悦子, 遠藤真由美, 富田信子, 大谷智司, 谷上純子, 永尾暢夫, 富田忠夫, 斉藤三佳, 沖永晶子, 須藤博明, 柴田洋一 : HPA-5b 抗体, HPA-6bw 抗体による NAIT の 3 例 . 第 22 回日本血液事業学会総会抄録集, 160, 1998.