

症 例

一次免疫応答より惹起されたと考えられる
遅発性溶血性輸血副作用の1症例

石丸 健¹⁾ 天満 智佳¹⁾ 藤原 義一¹⁾ 大江 真司²⁾
加藤 俊明¹⁾ 池田 久實¹⁾

¹⁾北海道赤十字血液センター

²⁾北海道社会保険病院内科

(平成16年7月16日受付)

(平成16年8月16日受理)

A CASE OF DELAYED HEMOLYTIC TRANSFUSION REACTION PROBABLY CAUSED
BY A PRIMARY IMMUNE RESPONSE

Ken Ishimaru¹⁾, Chika Tenman¹⁾, Yoshikazu Fujiwara¹⁾, Masashi Ohe²⁾
Toshiaki Kato¹⁾ and Hisami Ikeda¹⁾

¹⁾Hokkaido Red Cross Blood Center

²⁾Department of Internal Medicine, Hokkaido Social Insurance Hospital

We report here a rare case of delayed hemolytic transfusion reaction (DHTR) probably caused by a primary immune response. The patient was a 32-year-old Japanese female who underwent surgery for ectopic pregnancy. For treatment of intraoperative hemorrhage shock, she received 5 units of RBCs (all positive for Jk^a, C and e antigen) that were crossmatch-compatible by indirect antiglobulin testing using polyethylene glycol (PEG-IAT). On day 22 after transfusion, she showed symptoms of hemoglobinuria, reticulocytosis, and elevated serum levels of LDH (1,106IU/L) and total-bilirubin (5.6mg/dL). She did not receive further transfusion during this period. On irregular antibody screening of patient serum collected 24 days after transfusion, anti-Jk^a was detected by PEG-IAT. Her blood was typed as B, DccEE, Jk(a - b +). She then received 1 unit of RBCs (Jk^a-negative but C, e-positive). Her anemia improved after transfusion and no hemolytic transfusion reaction was observed. IgM type anti-C + e in the patient detected on day 24 after the first transfusion did not seem to be involved in the DHTR because transfusion of C + e + RBCs on the 24th day did not cause DHTR. Further, we demonstrated that the immunoglobulin (Ig) class of the anti-Jk^a switched from IgM to IgG during the clinical course. These results suggest that the DHTR was probably due to anti-Jk^a caused by a primary immune response.

Key words : delayed hemolytic transfusion reaction, primary immune response, anti-Jk^a antibody, anti-C + e antibody

1. はじめに

遅発性溶血性輸血副作用 (delayed hemolytic transfusion reaction, DHTR) は、輸血による抗原

刺激により産生あるいは増加した抗体が、輸血赤血球と反応して血管内外で溶血反応を起こす現象である。DHTRは、輸血後数日から十数日以内に

症状が現れることが多く、その発生頻度は5,000から10,000回の輸血に1回程度とされ¹⁾⁻³⁾、我が国においても報告が散見されている⁴⁾⁻⁷⁾。従来、DHTRのほとんどは、過去の輸血や妊娠によって産生された抗体が二次免疫刺激により急激に増加することが原因であり、一次免疫応答による抗体が原因になることは非常にまれとされてきた⁸⁾⁻¹⁰⁾。今回我々は、原因抗体の免疫グロブリンクラスの推移から輸血後22日目に一次免疫応答により発症したと考えられるDHTR症例を経験し、産生された抗体の各種検査法による反応性について検討したので報告する。

2. 症 例

32歳、女性。輸血歴はないが人工中絶の既往があった。血液型は、B, DccEE, Jk(a-b+)。2001年5月1日、子宮外妊娠のため緊急手術となった。術中、出血性ショックのため輸血が必要となり、ポリエチレングリコール添加間接抗グロブリン法(PEG-IAT)による交差適合試験陰性の400ml由来赤血球MAP(RC-MAP400)5バックが輸血され、その後は順調な経過をみた。しかし、輸血後22日目の5月23日にヘモグロビン尿出現、網状

赤血球数増加(45.9%)、LDH 1,106IU/L、総ビリルビン(T-Bil)5.6mg/dl、間接ビリルビン 5.3mg/dlと急激に上昇し、ハプトグロビンは12.0mg/dl以下と低値を示した。更に5月25日にはLDH 1,787IU/L、T-Bil 6.8mg/dlとピークに達し、ヘモグロビン(Hb)も7.6g/dlに低下した(Fig. 1)。そのためDHTRを疑い、不規則抗体検査を実施したところ、PEG-IATで抗Jk^a抗体が検出されたため、Jk(a-)のRC-MAP400 1バックが輸血された。しかし、同一血清を用いたカラム凝集法のパイン2段法によるretrospectiveな検討で、更に抗C+e抗体も検出された。2回目の輸血血液はJk(a-b+)、C+e+であったが、更なる溶血所見はみられず、52日目にはLDH、T-Bil、Hbの値が正常域に回復し、退院後もDHTRを疑う所見は認められなかった。

なお、初回到輸血されたRC-MAP400のC、e、Jk^a抗原は、5バックとも陽性であった(Table 1)。DHTR発症時の直接抗グロブリン試験および赤血球抗体解離試験は陰性を示し、C、e、Jk^a抗原陽性赤血球も認められなかったことから、初回到輸血された赤血球(約1,000ml)は、短期間に破壊

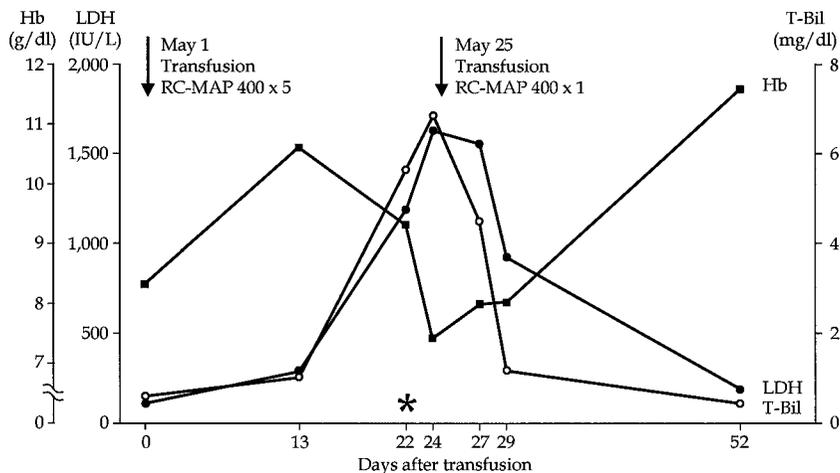


Fig. 1 Clinical course

The asterisk indicates the delayed hemolytic transfusion reaction. Closed circles : lactate dehydrogenase (LDH); open circles : total bilirubin (T-Bil); closed boxes : hemoglobin (Hb)

Table 1 Antigens of transfused blood

Date of transfusion	Component	RBC phenotype	
		Rh	Kidd
May 1	RC-MAP 400	D+C+c - E - e+	Jk (a+b -)
	RC-MAP 400	D+C+c - E - e+	Jk (a+b+)
	RC-MAP 400	D+C+c+E+e+	Jk (a+b -)
	RC-MAP 400	D+C+c+E+e+	Jk (a+b -)
	RC-MAP 400	D+C+c+E+e+	Jk (a+b+)
May 25	RC-MAP 400	D+C+c+E+e+	Jk (a-b+)

RC-MAP 400: 400 mL-equivalent blood deprived of most buffy-coat and about 90% of plasma and mixed with additive solution (MAP)

された可能性が示唆された。

3. 材料および方法

1) 患者検体

輸血後 24, 31, 38, 52, 66, 79, 108 日目の 7 検体を血清分離後に使用時まで凍結保管し, 抗 Jk^a 抗体および抗 C + e 抗体産生過程のシリーズ血清とした。

2) 不規則抗体の免疫グロブリンクラスの測定

各血清をパピイン処理した Jk(a+b -)C - e - 血球と Jk(a-b+), C+e+ 血球に感作した後, 二次抗体として抗ヒト IgM および IgG・PE 標識抗体 (Jackson) を用いて FACSCalibur (Becton Dickinson) で平均蛍光強度を測定した。

3) 各種検査法による不規則抗体の検出

以下の不規則抗体検査法を用いて, 各血清中の抗 Jk^a 抗体および抗 C + e 抗体の反応性を確認した。

- ・酵素法: 試験管法によるプロメリン 1 段法 (Tube 1-Bro), カラム凝集法の Micro Typing System (MTS; Olympus) と BioVue System (BVS; Ortho) によるパピイン 2 段法 (MTS 2-Pap と BVS 2-Pap) の計 3 種類。

- ・間接抗グロブリン法: 試験管法による重合アルブミン添加間接抗グロブリン法 (Alb-IAT) と PEG-IAT, MTS と BVS による間接抗グロブリン法 (MTS IAT と BVS IAT) の計 4 種類。

- ・固相法: Capture-R Ready-Screen (CR-RS; Immucor)。

4. 結果

1) 不規則抗体の免疫グロブリンクラスの測定

抗 Jk^a 抗体の免疫グロブリンクラスは, DHTR 発症直後の輸血後 24 日目の検体で IgM と IgG を認めたが, IgM は 52 日後に陰性化し, 66 日後に IgG がピークをむかえた後, 79 日, 108 日後では減少傾向を示した。また, 抗 C + e 抗体の免疫グロブリンクラスは DHTR 発症時には IgM であったが, 52 日後に IgG が確認され, その後は IgG の増加傾向が認められた (Fig. 2)。

2) 各種検査法による不規則抗体の検出

抗 Jk^a 抗体は, Tube 1-Bro, MTS 2-Pap, BVS 2-Pap 法の何れの酵素法でも検出できなかった。間接抗グロブリン法は PEG-IAT が最も早く抗 Jk^a 抗体を検出し, 次にカラム凝集法と続いたが, Alb-IAT は何れのシリーズ血清においても陰性であった。固相法の CR-RS は, PEG-IAT と同様に早期から抗 Jk^a 抗体を検出した (Fig. 3)。

抗 C + e 抗体については, MTS 2-Pap と BVS 2-Pap のカラム凝集法によるパピイン 2 段法が最も早く抗体を検出した。また, 間接抗グロブリン法では, 先の抗 Jk^a 抗体と同様に, PEG-IAT が早期から抗 C + e 抗体を検出し, CR-RS も同様であった (Fig. 4)。

5. 考察

DHTR の原因の多くは, 過去の輸血や妊娠で生じた検出限界以下の抗体が輸血による二次免疫刺激で急激に上昇したものであり, 一次免疫応答による抗体が直接原因となることは極めてまれで,

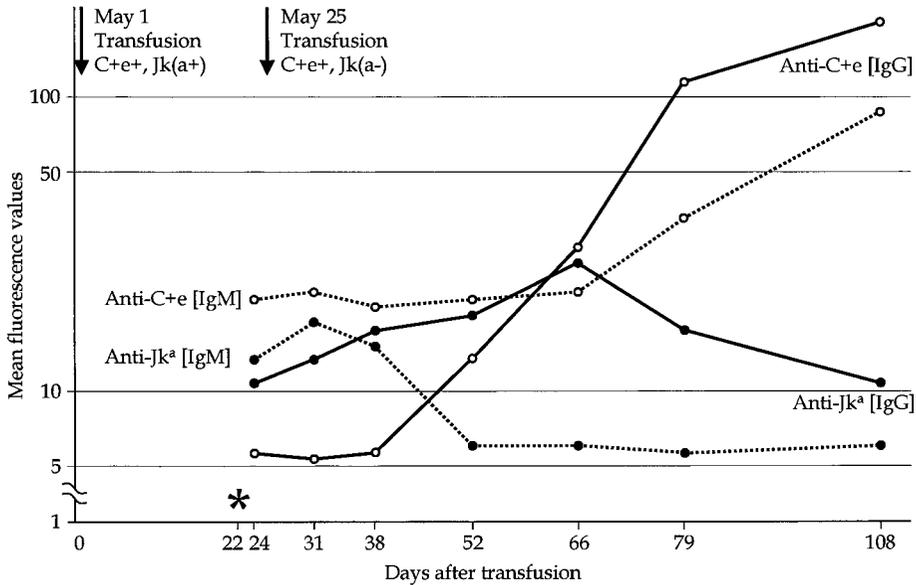


Fig. 2 Flow cytometric results for immunoglobulin class and determination of antibodies levels

The asterisk indicates the delayed hemolytic transfusion reaction. Closed circles : anti-Jk^a ; open circles : anti-C + e. Dotted line : IgM ; thick line : IgG.

その臨床症状は非常に軽いと考えられている⁸⁾⁻¹⁰⁾。しかし、一次免疫応答を惹起させた輸血赤血球が体内に残存している間に抗体が産生され、その抗体によって輸血赤血球が破壊される可能性は否定できない。Redmanら¹¹⁾は外科手術のため輸血を受けた免疫能が正常な患者452名について、輸血後約9カ月にわたって追跡調査を行い、その中で輸血後に同種抗体を産生した輸血歴・妊娠歴がない患者16名の抗体検出時期は輸血後2週から16週(平均8.1週)であったと報告している。この成績は、輸血の一次免疫応答で生じた抗体がDHTR発症の原因抗体になり得る可能性を示唆している。

通常、DHTRは輸血後数日から十数日以内に発症するが¹²⁾、本症例は溶血症状が輸血後22日目に見られ、その発症時期はかなり遅いものであった。また、患者には人工中絶の既往があるものの、DHTR発症後に確認された抗Jk^a抗体および抗C+e抗体は、その免疫グロブリンクラスの推移から、初回の輸血により産生された一次免疫による

抗体であると推測された。但し、2回目の輸血血液はJk(a-b+)、C+e+であったにもかかわらず、輸血後に溶血所見が見られなかったこと、またDHTR発症時の抗C+e抗体はIgMであったことから、カラム凝集法のパペイン2段法でretrospectiveに検出された抗C+e抗体がDHTRに関与した可能性は低いと考えられた。これらの結果から、本症例は、初回輸血の一次免疫応答で産生された抗Jk^a抗体に起因するDHTRと考えられた。

本症例のDHTR発症後の血清を抗体産生初期のシリーズ血清として、各種不規則抗体検査法による反応性を検討した結果、抗Jk^a抗体は酵素法で全て陰性を示し、産生初期のIgMを検出できなかったものと考えられた。IgGの抗Jk^a抗体についてはPEG-IATと固相法のCR-RSが最も早く検出した。従来から、PEG-IATとCR-RSは高感度にIgG抗体を検出することが知られているが¹³⁾¹⁴⁾、本症例の検討により産生初期抗体の検出においても優れていることが確認された。また、

Immumoglobulin class of anti-Jk ^a	Days after transfusion						
	24	31	38	52	66	79	108
	IgM			IgG			
Tube 1-Bro	0	NT	NT	NT	0	0	0
MTS 2-Pap	0	0	0	0	0	0	0
BVS 2-Pap	0	0	0	0	0	0	0
Alb-IAT	0	0	0	0	0	0	0
PEG-IAT	w+	w+	1+	1+	2+	1+	w+
MTS IAT	0	0	0	0	2+	1+	w+
BVS IAT	0	0	0	1+	2+	w+	w+
CR-RS	w+	w+	1+	2+	2+	2+	2+

Fig. 3 Results of testing the patient's DHTR samples with Jk(a +) RBCs by eight antibody-detection methods

Tube 1-Bro : tube agglutination 1-stage bromelin test ; MTS 2-Pap : Micro Typing System(MTS)2-stage papain test ; BVS 2-Pap : BioVue System(BVS)2-stage papain test ; Alb-IAT : indirect antiglobulin test(IAT)using albumin ; PEG-IAT : IAT using polyethylene glycol ; CR-RS : Capture-R Ready-Screen ; NT : not tested.

Immumoglobulin class of anti-C+e	Days after transfusion						
	24	31	38	52	66	79	108
	IgM						IgG
Tube 1-Bro	0	0	0	1+	2+	3+	3+
MTS 2-Pap	3+	3+	3+	3+	3+	4+	4+
BVS 2-Pap	1+	2+	2+	NT	2+	4+	4+
Alb-IAT	0	0	0	0	2+	2+	2+
PEG-IAT	0	0	w+	1+	2+	3+	3+
MTS IAT	0	0	0	1+	3+	3+	3+
BVS IAT	0	0	0	NT	2+	3+	3+
CR-RS	0	0	w+	2+	3+	4+	4+

Fig. 4 Results of testing the patient's DHTR samples with C + e + RBCs by eight antibody-detection methods

Tube 1-Bro : tube agglutination 1-stage bromelin test ; MTS 2-Pap : Micro Typing System(MTS)2-stage papain test ; BVS 2-Pap : BioVue System(BVS)2-stage papain test ; Alb-IAT : indirect antiglobulin test(IAT)using albumin ; PEG-IAT : IAT using polyethylene glycol ; CR-RS : Capture-R Ready-Screen ; NT : not tested.

本症例の原因抗体とされる抗 Jk^a 抗体は、IgG のピーク時においても Alb-IAT では検出できなかった。PEG-IAT や CR-RS といった高感度検査法が普及する以前にも、抗体が検出されず低力価抗体が原因と疑われた DHTR の症例¹⁵⁾⁻¹⁷⁾が報告されていることから、低力価抗体であっても DHTR に関与する可能性は十分考えられる。抗

C + e 抗体については、Rh 系の初期抗体検出に優れる酵素 2 段法¹¹⁾の MTS 2-Pap と BVS 2-Pap が最も早く抗体を検出した。また、同様に Rh 系抗体を感度よく検出する方法である酵素 1 段法¹⁸⁾の Tube 1-Bro は、Alb-IAT より早期に抗 C + e 抗体を検出したものの、PEG-IAT や CR-RS よりも検出時期が若干劣っていた。この結果から、Rh 系の

初期抗体の検出においても、PEG-IATとCR-RSは、酵素1段法と同等以上の感度を持つことが示唆された。

高感度な検査法を用いることによりDHTRのリスクを減らすことは可能であるが³⁾、本症例のような一次免疫応答によって産生された抗体が原因のDHTRを未然に防ぐことは極めて難しい。しかし、本症例はDHTR発症後の検体を高感度な検査法(PEG-IAT)で検査したことにより、抗Jk^a抗体による2回目の溶血性副作用を防止できたものと考えられる。従って、DHTRを事前に予測することは極めて困難であるが、臨床および検査学的に溶血所見を認めた場合や期待する輸血効果が得られない場合には、次回の輸血に備えて高感度な検査法を用いることも重要であると考えられた。

文 献

- 1) Ness, P.M., et al. : The differentiation of delayed serologic and delayed hemolytic transfusion reaction : incidence, long-term serologic findings, and clinical significance. *Transfusion*, 30 : 688-693, 1990.
- 2) Vamvakas, E.C., et al. : The differentiation of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reactions : incidence and predictors of hemolysis. *Transfusion*, 35 : 26-32, 1995.
- 3) Pineda, A.A., et al. : Trends in the incidence of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reactions. *Transfusion*, 39 : 1097-1103, 1999.
- 4) 石田萌子 : パネルディスカッション . 話題提供 : 溶血性輸血反応に関連して . *日輸血会誌*, 37(5) : 682-686, 1991.
- 5) 澤部孝昭, 他 : 遅発性溶血性輸血副作用の検討 過去10年間の検討 . *日輸血会誌*, 39(6) : 974-978, 1993.
- 6) 山口富子, 他 : 複数抗体(抗C, 抗e, 抗Jk^a, 抗P₁抗体)により短時間に2回連続して発症した遅発性溶血性輸血副作用 . *日輸血会誌*, 43(6) : 896-900, 1997.
- 7) 佐久間志津枝, 他 : 抗Di^a, 抗Jk^b, 抗E抗体により3回の遅発性溶血性輸血副作用を呈した血友病Bと, 病院内輸血システムの改善 . *医学検査*, 49(8) : 1198-1201, 2000.
- 8) Issitt, P.D., Anstee, D.J. : *Applied Blood Group Serology*, 4th ed. Montgomery Scientific Publications, Durham, NC, 1998, 907-937.
- 9) Brecher, E.B., ed. : *Technical Manual*, 14th ed., American Association of Blood Banks, Bethesda, 2002, 585-612.
- 10) Mollison, P.L. : *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 10th ed. Blackwell Science Publications, Oxford, UK, 1997, 358-389.
- 11) Redman, M., et al. : A prospective study of the incidence of red cell allo-immunisation following transfusion. *Vox Sang*, 71 : 216-220, 1996.
- 12) 遠山 博, 他 : 輸血学, 改訂第3版, 中外医学社, 東京, 2004, 384-385.
- 13) 松田幸子, 尾崎牧子 : 不規則抗体スクリーニング用キット Capture-R Ready-screen の検討 . *医学検査*, 49(3) : 258-261, 2000.
- 14) 寺岡敦子, 他 : 不規則抗体検査における赤血球膜固相化法とカラム凝集法および試験管法との比較検討 . *機器・試薬*, 24(6) : 369-374, 2001.
- 15) 野上昭彦, 他 : 遅発性溶血性輸血反応が疑われたにもかかわらず不規則抗体が検出されなかった一症例 . *日輸血会誌*, 29(5) : 545-546, 1984.
- 16) 小島俊彦, 他 : 遅延性溶血性輸血副作用を起こしたと考えられる2症例 . *日輸血会誌*, 31(2) : 129-131, 1985.
- 17) 松尾祐子, 他 : 不規則抗体が検出されない溶血性輸血副作用をRh因子適合血により予防しえた1症例 . *日輸血会誌*, 36(1) : 73-76, 1990.
- 18) 社団法人日本臨床衛生検査技師会 : 輸血検査の実際, 改訂第3版, 東京 : 高山, 2002.