

原 著

## 免疫学的血小板輸血不応症例の解析 血小板輸血効果の向上のために

齊藤 敏 小松 由美 大田 智 玉木 啓子  
瀬下 秀幸 山崎雄一郎 野村 節夫  
長野県赤十字血液センター

(平成 17 年 3 月 7 日受付)

(平成 17 年 6 月 10 日受理)

### ANALYSIS OF IMMUNOLOGICAL FACTORS IN PLATELET TRANSFUSION-REFRACTORY PATIENTS COMPATIBLE PLATELETS TO IMPROVE TRANSFUSION EFFICACY

Satoshi Saito, Yumi Komatsu, Satoshi Ota, Keiko Tamaki, Hideyuki Seshimo,  
Yuichiro Yamazaki and Setsuo Nomura  
Japanese Red Cross Nagano Blood Center

Refractoriness to platelet transfusions is considered one of the major obstacles in treating patients with hematological disorders. Although various transfusion procedures have been tried to prevent HLA alloimmunization, some patients still develop HLA and/or HPA antibodies and become refractory to platelet transfusions. We investigated the AHG-LCT, MPHA, LIFT and FlowPRA methods for detecting HLA antibodies and MPHA using chloroquine-treated platelets for HPA antibodies to analyze immunological factors in platelet transfusion-refractory (PTR) patients. Results showed that HLA antibodies were detected in 55 patients, HPA antibodies in 2 and both HLA and HPA antibodies in 2 patients. HLA-A and -B-compatible platelet transfusions were successful in boosting platelet levels in 27 of the patients. Nine patients developed not only HLA-A and/or -B antibodies but also HLA-C antibodies and became refractory to HLA-A and -B-compatible platelet transfusions. Matching of the HLA-C antigens was required in these patients to ensure the effectiveness of platelet transfusions. In some patients, ABH incompatibility reduced the effectiveness of transfusions. In these patients, platelet crossmatching was useful for predicting platelet survival. Of the 68 ABH-incompatible transfusions evaluated at 24 hours post-transfusion, 20 with positive crossmatches had corrected platelet count increments of  $3.1 \pm 4.1 (\times 10^9)/L$ . In contrast, 48 transfusions with negative crossmatches had corrected platelet count increments of  $18.1 \pm 7.6 (\times 10^9)/L$ . Other weak HLA antibodies in ten patients were not detected by the conventional methods but were detected by the FlowPRA method. Owing to screening and crossmatch tests, platelet transfusion efficacy was improved in 59 immunological PTR patients.

**Key words** : ABH compatibility, HLA-C compatibility, HLA compatible platelet concentrates (HLA-PC) Platelet transfusion refractoriness (PTR)

## はじめに

血小板減少や出血予防のために血小板輸血を必要とする造血器疾患患者において、20～50%の血小板輸血不応状態 (platelet transfusion refractoriness: PTR) が存在し、Novotny はその要因として、HLA 抗体、血小板 (HPA) 抗体等の免疫学的要因、発熱、DIC、脾腫等の臨床的要因、輸血血小板数、保存日数、残存白血球数等の製剤に係わる要因を報告している<sup>1)</sup>。

HLA 抗体等の免疫抗体の産生を抑えるための方法として、血小板輸血に際し、フィルターにより血小板製剤 (PCs) 中の白血球を除去する方法、PCs に紫外線を照射する方法を用いても、それぞれ4%、5%の患者において HLA 抗体や HPA 抗体が産生され血小板輸血に対し不応状態になることが報告されている<sup>2)</sup>。PTR により十分な輸血効果が得られない患者に、最も適した PCs を供給するために、過去5年間の免疫学的要因によると考えられる59症例の PTR の詳細な原因と呼吸困難等による輸血副作用のため輸血が中止された2症例の原因について解析を行ったので報告する。

## 方 法

### 1. 対象

1999年12月から2004年11月までの5年間に、長野県内の医療機関から PTR の原因究明の検査依頼があった160症例と、Transfusion related acute lung injury 以外の症例で、呼吸困難等の輸血副作用により輸血が中止された8症例について HLA 抗体、HPA 抗体、顆粒球抗体のスクリーニングを行った。

### 2. HLA タイピング

患者およびドナーの HLA クラス I タイピングは、リンパ球細胞毒試験 (LCT) により行い、HLA-C 抗原は polymerase chain reaction with sequence-specific primers<sup>3)</sup> によるアレルタイピングも行った。

### 3. 抗体スクリーニング

#### 1) HLA 抗体

12種類のO型リンパ球、血小板を用い、抗ヒト免疫グロブリン-LCT (AHG-LCT)<sup>4)</sup>、Lymphocyte immunofluorescence test (LIFT)<sup>5)</sup>、Mixed

passive hemagglutination test (MPHA) 法<sup>6)</sup>により行った。これら検査法により、HLA 抗体が検出できなかった場合には、Flow Cytometric Reagents for Detection of Panel-Reactive antibody against HLA Class I antigens (FlowPRA) 法<sup>7)</sup>による検査を行った。また、HLA-C 抗体を特定するために、HLA-A、B が患者と適合のパネルを用いた HLA 抗体スクリーニングを行った。

#### 2) HPA 抗体

HPA-1a, 2a, 2b, 3a, 3b, 4a, 4b, 5a, 5b, 6a, 6b, Nak<sup>8)</sup> 抗原が網羅できるように選択したクロロキン処理をした12種類のO型血小板を用いたMPHA法により行った。

#### 3) 顆粒球抗体

HNA-1a, 1b 抗原陽性の3種類の顆粒球を用いたGIFT法<sup>9)</sup>を行った。

### 4. HLA-PC 供給時の交差試験

LCT, AHG-LCT とMPHA法を通常法とし、患者の保有する抗体の種類によりLIFT, Platelet immunofluorescence test (PIFT) 法<sup>5)</sup>もあわせて実施した。なお、2002年4月からはMPHA法にかえ、磁性粒子を使用するMPHA (M-MPHA) 法<sup>8,9)</sup>を用いた。M-MPHA法では、抗ABH抗体による疑陽性反応が起こることから、その影響を調べるため、HLA、HPA抗体のない抗体価512倍の2種類のIgG型抗A血清、健常O型男性由来血清と抗A抗体によりNAIT (新生児血小板減少症)を発症した児の母親由来血清、に対し50人のA型パネル血小板を用いM-MPHAによる交差試験を実施した。

### 5. フローサイトメトリー法

LIFT, PIFT, GIFT および FlowPRA 法はフローサイトメトリー (FCM: FACSCalibur: Becton Dickinson & Co., Sunnyvale, CA) を使用して行った。FCM データの解析は、陰性対照により感作された細胞の99%以上を含む領域を陰性領域とし、それ以外の領域を陽性領域 (M1) とし、被検血清により感作を受けたそれぞれの細胞のM1を比較することにより行った。陰性陽性の閾値は10%に設定した。

Table 1 Immunological factors of PTR over 5 years

PTR Factors	Number of patients
1. HLA antibodies	55
• HLA-A and/or -B antibodies	27
• HLA-A and/or -B antibodies + HLA-C antibodies	9
• HLA-A and/or -B antibodies + Anti-ABH antibodies	9
• Weak HLA antibodies detected by FlowPRA	10
2. HPA antibodies	2
• Nak <sup>a</sup> antibodies	1
• HPA-3a antibodies	1
3. HLA antibodies + HPA antibodies	2
• HLA-B antibodies + HPA-2b antibodies	2
non-Hemolytic Transfusion Reaction caused by anti-HNA-1b antibody	2

## 6. 輸血効果の判定

輸血効果は輸血1時間または24時間後のCCI(補正血小板増加数)値を次の式により求め判定した(CCI<sub>1hour</sub>, CCI<sub>24hours</sub>)。

$$CCI(10^9/L) = [ \text{輸血後血小板数}(10^9/L) - \text{輸血前血小板数}(10^9/L) ] \times \text{体表面積}(m^2) \div \text{輸血血小板数}(10^{11})$$

なお、輸血効果判定に当たり、臨床的要因によるPTRを除くため、輸血後に発熱、感染症、敗血症、脾腫、出血、DIC等の臨床的要因が考えられる症例は対象から除外した。

## 結 果

### 1. PTRの原因

160症例中55症例(34.4%)にHLA抗体が、2症例(1.3%)にHPA抗体が、2症例(1.3%)にHLA抗体+HPA抗体が検出された(Table 1)。詳細な原因として、HLA-A,-B抗体が27症例、HLA-A,-B抗体+HLA-C抗体が9症例、HLA-A,-B抗体+抗ABH抗体が9症例、FlowPRA法のみにより検出ができた弱いHLA抗体が10症例、Nak<sup>a</sup>抗体が1症例、HPA-3a抗体が1症例、HLA-B抗体+HPA-2b抗体が2症例存在した。また、輸血副作用原因検査を実施した8症例中2症例(25.0%)に顆粒球抗体のHNA-1b抗体が検出された。

### 2. HLA-C抗体によるPTR

#### 1) スクリーニング

HLA-A,-B適合のパネルを用いたスクリーニングにより、全症例においてHLA-C抗体が検出された(Table 2)。MPHA法陽性の反応は、血小板をクロロキン処理することにより全て陰性化し、HPA抗体は、いずれの症例からも検出されなかった。また、症例Fの抗HLA-Cw3+Cw7はLIFT法のみでしか検出できなかった。

#### 2) 輸血効果

HLA-A,-B適合,-C不適合輸血では、平均CCI<sub>1hour</sub>, CCI<sub>24hours</sub>が、 $1.5 \pm 1.8 (\times 10^9/L)$ ,  $1.1 \pm 1.4 (\times 10^9/L)$ を示し輸血効果が得られなかった(Table 3)。一方、HLA-A,-B,-C適合輸血では、平均CCI<sub>1hour</sub>, CCI<sub>24hours</sub>が、 $21.0 \pm 6.9 (\times 10^9/L)$ ,  $13.5 \pm 3.7 (\times 10^9/L)$ を示し輸血効果を得ることができた。

### 3. 抗ABH抗体によるPTR

ABH不適合は、輸血PCsが患者血清中の抗ABH抗体と不適合である場合とした。

#### 1) 症例の解析

A型患者では、8人中2人の患者に、B型患者では7人中2人の患者にABH不適合輸血無効症例が存在した。これら4人のIgG型抗B,抗A抗体価は64倍(2<sup>6</sup>)と128倍(2<sup>7</sup>)であった(Table 4)。ABH不適合輸血無効症例の割合は、A型の二

Table 2 Clinical characteristics of patients in whom HLA-C-incompatible transfusions were ineffective

Patient I.D.	Blood Type	Patient HLA type						Primary antibody screening tests					Additional antibody screening tests using HLA-A and-B compatible cells				
								AHG-LCT	LIFT	MPHA <sup>†</sup>	MPHA <sup>‡</sup>	Specificity of alloantibody	AHG-LCT	LIFT	MPHA <sup>†</sup>	MPHA <sup>‡</sup>	Additional specificity
		A	B	Cw*		P/N#	P/N	P/N	P/N	P/N	P/N		P/N	P/N			
A*	B+	2	24	52	60	1202	0801	12/12	12/12	12/12	0/12	Unidentified	4/10	4/10	4/10	0/10	Anti-Cw3
B*	A+	2	24	54	60	0102	0304	12/26	12/26	12/26	0/26	Anti-B52	5/15	5/15	5/15	0/15	Anti-Cw8
C*	A+	24	31	13	61	0304		12/12	12/12	12/12	0/12	Unidentified	6/10	6/10	6/10	0/10	Anti-Cw8
D	O+	26	11	13	61	0304		18/24	18/24	18/24	0/24	Anti-B5CREG	0/8	4/8	4/8	0/8	Anti-Cw8
E*	A+	2	26	54	61	0102	0801	12/12	12/12	12/12	0/12	Unidentified	6/13	6/13	6/13	0/13	Anti-Cw3
F*	O+	2	24	52	61	1202	0801	0/20	16/20	0/20	0/20	Anti-Cw3 + Cw7	0/20	10/20	0/20	0/20	Anti-Cw3 + Cw7
G	O+	2	11	62		0102	0401	12/12	12/12	12/12	0/12	Unidentified	0/12	7/12	7/12	0/12	Anti-Cw3 + Cw7
H*	A+	2	31	51	62	1402	0303	12/12	12/12	12/12	0/12	Unidentified	3/10	3/10	3/10	0/10	Anti-Cw7
I	O+	2	26	39	62	0702		12/18	12/18	12/18	0/18	Anti-B40CREG	5/8	5/8	5/8	0/8	Anti-Cw3

\* : Cases reported in reference 11

# : Number of positive panels/Number of tested panels

† : MPHA with chloroquine-untreated platelets

‡ : MPHA with chloroquine-treated platelets

人の患者では、20.0%と14.3%で、B型の二人の患者では18.2%と13.6%であった。

一方、O型患者では、5人全ての患者においてABH不適合輸血無効症例が存在した。それぞれの患者のIgG型抗ABH抗体価は256~2,048倍(2<sup>8</sup>~2<sup>11</sup>)であった。5人のABH不適合輸血無効症例の割合は、33.3%~100%で、症例により違いが認められた。

#### 2) アクリーニング

MPHA法陽性の反応は、血小板をクロロキン処理することにより全て陰性化し、HPA抗体は、いずれの症例からも検出されなかった (Table 5)。

#### 3) 輸血効果

ABH適合HLA-PC輸血では、A法の交差試験が全て陰性で、平均CCl<sub>24hours</sub>は188 ± 7.9 (×10<sup>8</sup>/L)を示し輸血効果が得られた (Table 6)。ABH不適合HLA-PC輸血では、M-MPHA法による交差試験が陽性の場合には、平均CCl<sub>24hours</sub>は3.1 ± 4.1 (×10<sup>8</sup>/L)を示し輸血効果が得られなかった。一方、ABH不適合輸血でもM-MPHA法による交差試験が陰性時には平均CCl<sub>24hours</sub>は18.1 ± 7.6 (×10<sup>8</sup>/L)を示し、ABH適合輸血と同等の輸血効果が得られた。

#### 4) M-MPHA法への抗ABH抗体の関与

由来の違う同一力価の2種類の抗A血清を使用したM-MPHA法による交差試験において、50パネル中12パネルが健常者血清に対して陽性となり、45パネルがNAITの母親血清に対して陽性となった。

#### 4. 弱いHLA抗体によるPTR

Table 7にFlowPRA法のみによりHLA抗体が検出できた10症例中、適合HLA抗原が対照的であった2症例の輸血効果を示し、Fig. 1にそれら症例のFlowPRA法による抗体アクリーニングの結果を示す。M1が10.3%の症例Sでは、患者のHLA型と一致していないHLA-A11、B54、Cw1血小板でも輸血効果が得られた。しかし、M1が64.8%の症例Tでは、HLA型が患者のHLA型と完全に一致した血小板でないといふ輸血効果が得られなかった。

Table 3 Response ( mean  $\pm$  SD ) to platelet transfusions in patients

Patient I.D.	HLA-A and -B-compatible but HLA-C incompatible					HLA-A, -B and -C-compatible				
	N#	Crossmatch test			CCI ( $\times 10^9$ /L )	N	Crossmatch test			CCI ( $\times 10^9$ /L )
		LCT	AHG-LCT	LIFT			MPHA	LCT	AHG-LCT	
A*	11	(-)	(+)	(+)	0.9 $\pm$ 1.5	4	(-)	(-)	(-)	15.7 $\pm$ 3.9
B*	2	(-)	(+)	(+)	0	3	(-)	(-)	(-)	16.7 $\pm$ 2.8
C*	8	(-)	(+)	(+)	2.9 $\pm$ 1.4	4	(-)	(-)	(-)	22.2 $\pm$ 6.4
D	2	(-)	(-)	(+)	2.1 $\pm$ 1.6	18	(-)	(-)	(-)	25.7 $\pm$ 6.6
E*	2	(-)	(+)	(+)	0	14	(-)	(-)	(-)	20.7 $\pm$ 2.9
F*	3	(-)	(-)	(+)	2.1 $\pm$ 0.5	8	(-)	(-)	(-)	13.1 $\pm$ 2.9
G	4	(-)	(-)	(+)	0	4	(-)	(-)	(-)	11.9 $\pm$ 2.0
H*	8	(-)	(+)	(+)	2.1 $\pm$ 2.3	19	(-)	(-)	(-)	25.0 $\pm$ 6.9
I	2	(-)	(-)	(+)	2.9 $\pm$ 1.5	12	(-)	(-)	(-)	19.0 $\pm$ 5.1
Total	42				1.5 $\pm$ 1.8	86				21.0 $\pm$ 6.9
					1.1 $\pm$ 1.4					13.5 $\pm$ 3.7

\* : Cases reported in reference 11

# : Number of transfusions

## 考 察

HLA-A, -B に対する抗体が原因の PTR の改善は, HLA-PC により, HPA 抗体が原因の PTR の改善は HPA 適合血小板により, 両方の抗体を持つ場合には HLA, HPA 適合血小板により輸血効果を得ることができた.

### 1. HLA-C 適合性

血小板輸血における HLA-C の適合性について, Duquesnoy らは不要であると報告していたが<sup>10)</sup>, 2002 年にわれわれは, HLA-C 不適合が原因の PTR 6 症例により, HLA-C 適合の必要性を報告した<sup>11)</sup>. 今回, 新たに 3 症例の HLA-C 不適合による PTR 症例を経験し, HLA 抗体が原因の PTR 55 症例中 9 症例 (16.4%) に HLA-C に対する抗体が関与することがわかった.

日本人において, HLA-B60 は HLA-Cw3 と強い連鎖不平衡が存在する一方で, HLA-Cw8 との連鎖不平衡も存在する<sup>12)</sup>. HLA-Cw8-B60 の症例 A では抗 HLA-Cw3 が検出され, HLA-Cw3-B60 の症例 B では抗 HLA-Cw8 が検出された. 同様なことが, HLA-Cw3 と HLA-Cw8 に強い連鎖不平衡が存在する HLA-B61 を持つ症例 C, D, E, F や, HLA-Cw1, Cw4, Cw7, Cw9 の 4 抗原との間に連鎖不平衡が存在する HLA-B62 を持つ症例 G, H, I でも確認された. これらのことより, 患者が 2 種類以上の HLA-C 抗原と連鎖不平衡が存在する HLA-B 抗原を持つ場合には, 特に HLA-C の適合性が重要となる可能性がある.

### 2. ABH 適合性

一般に, 血小板上の ABH 抗原の発現量は低いため, 抗 ABH 抗体により輸血された血小板が破壊されることは少ないと考えられている. しかし, Brand らは, 患者が保有する高力価の抗 ABH 抗体が原因の PTR の 2 症例を報告し<sup>13)</sup>, Duquesnoy らも, 輸血後 1 時間の血小板回復率を調べ, ABH 適合輸血の  $72.8 \pm 4.4$  に対し, ABH 不適合輸血では  $54.6 \pm 5.2$  と低値であると報告している<sup>14)</sup>.

#### 1) ABH 抗原 high expresser

Ogasawara らは, 血小板上の A, B 抗原量にはドナーにより大きな差があり, 約 7% が抗原量の

Table 4 Influence of ABH compatibility on efficacy of HLA-PC transfusions

Blood group	Total number of patients	Number of patients in whom ABH-incompatible transfusion was ineffective (%)	Patient I.D.	ABH antibody titer		Number of ABH-incompatible transfusions	Number of ineffective transfusions (%)
				anti-A	anti-B		
A	8	2 (25)	J	/	64 (2 <sup>6</sup> )	10	2 (20.0)
			K	/	128 (2 <sup>7</sup> )	7	1 (14.3)
B	7	2 (29)	L	128 (2 <sup>7</sup> )	/	11	2 (18.2)
			M	64 (2 <sup>6</sup> )	/	22	3 (13.6)
O	5	5 (100)	N	2,048 (2 <sup>11</sup> )	1,024 (2 <sup>10</sup> )	3	3 (100)
			O	256 (2 <sup>8</sup> )	256 (2 <sup>8</sup> )	3	3 (100)
			P	256 (2 <sup>8</sup> )	256 (2 <sup>8</sup> )	5	3 (60.0)
			Q	512 (2 <sup>9</sup> )	512 (2 <sup>9</sup> )	4	2 (50.0)
			R	512 (2 <sup>9</sup> )	512 (2 <sup>9</sup> )	3	1 (33.3)

Table 5 Clinical characteristics of patients in whom ABH-incompatible transfusions were ineffective

Patient I.D.	Blood Type	Patient HLA type						Antibody screening tests				Specificity of antibodies
		A		B		Cw	P/N#	LIFT	MPHA †	MPHA ‡		
											P/N	
J	A +	24	11	7	54	1	7	12/24	12/24	12/24	0/24	Anti-B5CREG
K	A +	24	26	52	61	8		6/24	6/24	6/24	0/24	Anti-B44
L	B +	24	11	62	75	4	9	8/24	8/24	8/24	0/24	Anti-B5CREG
M	B +	24	11	54		1		5/12	5/12	5/12	0/12	Anti-B40CREG
N	O +	2	11	62		1	4	12/12	12/12	12/12	0/12	Unidentified
O	O +	24	26	52	61	10		12/24	12/24	12/24	0/24	Anti-A2
P	O +	2	24	61		8	10	3/12	3/12	3/12	0/12	Anti-A26
Q	O +	1	2	37	62	6	8	10/24	10/24	10/24	0/24	Anti-B40CREG
R	O +	2	26	39	61	7		6/24	6/24	6/24	0/24	Anti-B22CREG

# : Number of positive panels/Number of tested panels

† : MPHA with chloroquine-untreated platelets

‡ : MPHA with chloroquine-treated platelets

きわめて多い high expressers であると報告している<sup>15)</sup>。そして、O型患者にB型のPCsが無効であった原因を high expressers 由来の血小板が輸血されたためとしている。今回の解析において、A型2人、B型2人の患者に、IgG型抗ABH抗体が検出され、いずれの症例においてもABH抗原不適合HLA-PC輸血無効症例が存在した。これら症例では、抗ABH抗体の抗体価が64倍(2<sup>6</sup>)と128倍(2<sup>7</sup>)で高力価でないこと、いずれの患者にもHPA抗体が存在しないこと、M-MPHA法による交差試験のみが約15%においてクロロキン処理後も陽性であることから、PTRの原因は、

HLA, HPA抗体によるのではなく、A, B抗原 high expressers 由来の血小板の可能性がある。

## 2) 抗ABH抗体価

O型患者のABH不適合HLA-PC輸血においても、全ての患者でHPA抗体が検出されなかったこと、M-MPHA法による交差試験のみがクロロキン処理後も陽性であったことから、PTRへの抗ABH抗体の関与が疑われる。また、抗体価が512倍(2<sup>9</sup>)の症例Rにおいて輸血無効症例が3回中1回であったのに対し、256倍(2<sup>8</sup>)と症例Rよりも抗体価の低い症例Oでは3回の輸血すべてが無効であったことから、抗体価だけで輸血効

Table 6 Relationship between the results of crossmatch tests and CCI<sub>24hours</sub> (mean ± SD) in HLA-PC transfusions

Patient I.D.	Blood Group	HLA-and ABH-compatible					HLA-compatible but ABH-incompatible										
		Crossmatch test negative					Crossmatch test negative				Crossmatch test positive						
		N*	AHG-LCT	LIFT	M-MPHA	CCI <sub>24hours</sub> (×10 <sup>9</sup> /L)	N*	AHG-LCT	LIFT	M-MPHA	CCI <sub>24hours</sub> (×10 <sup>9</sup> /L)	N*	AHG-LCT	LIFT	M-MPHA†	M-MPHA‡	CCI <sub>24hours</sub> (×10 <sup>9</sup> /L)
J	A+	6	(-)	(-)	(-)	17.6 ± 9.0	8	(-)	(-)	(-)	19.5 ± 4.4	2	(-)	(-)	(+)	(+)	2.4 ± 0.8
K	A+	5	(-)	(-)	(-)	15.4 ± 4.3	6	(-)	(-)	(-)	16.8 ± 6.2	1	(-)	(-)	(+)	(+)	3.0
L	B+	8	(-)	(-)	(-)	20.4 ± 9.1	9	(-)	(-)	(-)	16.6 ± 7.4	2	(-)	(-)	(+)	(+)	2.7 ± 0.3
M	B+	10	(-)	(-)	(-)	21.3 ± 8.7	19	(-)	(-)	(-)	17.8 ± 9.0	3	(-)	(-)	(+)	(+)	4.7 ± 6.3
N	O+	15	(-)	(-)	(-)	19.7 ± 8.1	0					3	(-)	(-)	(+)	(+)	2.5 ± 1.7
O	O+	10	(-)	(-)	(-)	17.2 ± 9.3	0					3	(-)	(-)	(+)	(+)	2.6 ± 3.1
P	O+	5	(-)	(-)	(-)	19.3 ± 7.9	2	(-)	(-)	(-)	23.0 ± 4.6	3	(-)	(-)	(+)	(+)	4.7 ± 6.3
Q	O+	4	(-)	(-)	(-)	16.6 ± 5.3	2	(-)	(-)	(-)	14.4 ± 4.8	2	(-)	(-)	(+)	(+)	1.9 ± 1.6
R	O+	8	(-)	(-)	(-)	17.4 ± 7.8	2	(-)	(-)	(-)	24.5 ± 3.2	1	(-)	(-)	(+)	(+)	0.7
Total		71				18.8 ± 7.9	48				18.1 ± 7.6	20					3.1 ± 4.1

\* : Number of transfusions

† : M-MPHA with chloroquine-untreated platelets

‡ : M-MPHA with chloroquine-treated platelets

果を予測することはできないと考えられる。

### 3) M-MPHA 法への抗 ABH 抗体の関与

2 種類の同一力価の抗 A 血清を用いた交差試験において、50 パネル中、健康者血清に対しては 12 パネル (24%) が、NAIT 母親血清に対しては 45 パネル (90%) が陽性となり結果に大きな相違が見られた。マウス由来パイオクローソ (Ortho 社) の抗 A 血清を用いた 50 パネルの A 抗原量測定において、M1 が 20% 以上を示したパネルが 4 パネル (8%)、10 ~ 19% が 8 パネル (16%)、10% 未満が 38 パネル (76%) であり、健康者血清に陽性を示した 12 パネルは全て M1 が 10% 以上であった。一方、NAIT 母親血清に陽性となった 45 パネルでは、33 パネルの M1 が 10% 未満であった (データ未提示)。このことは、抗 ABH 抗体の力価と血小板上の ABH 抗原量以外の要因が M-MPHA 法の結果に関与することを示唆している。

### 4) M-MPHA 法と輸血効果

M-MPHA 法による交差試験結果と ABH 不適合 HLA-PC 輸血効果とに相関が認められ、M-MPHA 法による交差試験が陽性の PCs 輸血においては効果が得られず、陰性の PCs 輸血においては、ABH 適合 HLA-PC 輸血と同等の効果を得ることができたことから、M-MPHA 法は ABH 不適合 HLA-PC 輸血の際の交差試験法として有用と考えられる。しかし、症例 M、症例 P のように、交差試験陽性時の CCI<sub>24hours</sub> の SD が 6.3 と高く統計的有意差が低い症例も存在することから、今後更に多くの症例により検討を重ねる必要がある。

5) ABH 不適合血小板輸血による血管内溶血  
ABH 不適合血小板輸血において、血管内溶血による致命的な症例がいくつか報告されている<sup>16)17)</sup>。当施設では、過去 5 年間に A、B、AB 型患者 43 人に対し延べ 189 回の O 型 HLA-PC 輸血が行われたが、これまで、血管内溶血の報告例はない。しかし、ゼロリヌクの血小板輸血のためには、輸血前に抗 ABH 抗体価を調べ、力価が低い場合に輸血を行うことが効果的であると考えられる。

Table 7 Response to platelet transfusions in patients carrying weak HLA antibodies

1) Case S							
		HLA-A		HLA-B		HLA-Cw	CCl <sub>24hours</sub> (×10 <sup>9</sup> /L)
Patient		26	31	51	13	10	
Donor	7,130	31		51			16.7
	14	26	31	51			26.3
	8,680	11	31	51	54	1	16.3
	13,844	2	11	54	61	1 10	3.9
	5,494	2	31	51	61	10	2.8
2) Case T							
		HLA-A		HLA-B		HLA-Cw	CCl <sub>24hours</sub> (×10 <sup>9</sup> /L)
Patient		2	24	52	54	1	
Donor	3,868	2	24	52	54	1	19.4
	4,385	2	24	52	54	1	31.1
	108	2	24	52	54	1	16.8
	2,731	2	24	51	54	1	2.1
	9,461	2	24	51	54	1	1.9

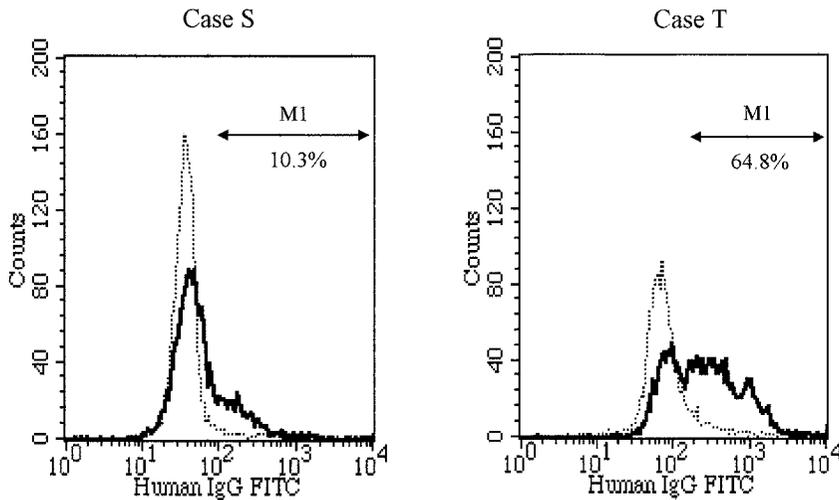


Fig. 1 Comparison of FlowPRA results in case S and case T after incubation with negative control (···) or patient's serum (—)

### 3. 弱いHLA抗体を持つ症例への対応

FlowPRA法はHLA抗体の検出において他法に比べ検出感度が高いことが報告されているが<sup>(18)</sup>, 抗体の特異性同定において, HLA-B39, B46, -B54, -B61等, 同定不可能な抗体がある. このような場合には, 医療機関からの輸血効果情報と,

PCsのHLA型から, 患者が保有している抗体の特異性を推定し適合抗原を選択するか, 患者のHLA抗原と交差反応性のある抗原, もしくは一致する抗原を選択している. Table 7の症例Sでは, 輸血効果の有無とPCsのHLA型から, 患者の保有している抗体を抗HLA-B61もしくは抗HLA-

A2と推定し、これら抗原を持たないPCsを輸血することにより輸血効果を得ることができた。一方、症例Tでは、HLA-B52と交差反応性のあるHLA-B51のPCsでも輸血効果を得ることができなかったことから、患者が保有するHLA抗体が多くのHLA抗原に対する抗体であることを推測し、患者のHLA型と完全一致のPCsを輸血することにより輸血効果を得ることができた。

#### 4. 顆粒球抗原適合血小板

直接的にはPTRに関係ないが、呼吸困難等の輸血副作用により輸血が中止された8症例中2例から顆粒球抗体のHNA1b抗体が検出され、HNA1b抗原陰性の血小板輸血により対処したところ、輸血副作用のない有効な輸血を行うことができた症例を経験した。今後、血小板輸血効果向上のためには、顆粒球抗体の関与を考える必要がある。

#### 結 語

免疫学的要因によるPTRの改善は、輸血されたPCsの有効性について、臨床サイドからのフィードバックがなければ行うことができない。そのため、免疫学的要因によるPTRと考えられる症例に対してHLA-PC輸血を行った際には、臨床サイドからの輸血効果についての情報提供が不可欠である。今後も、医療機関と連携し免疫学的原因を特定することにより、PTRの改善に協力したい。

謝辞：試薬の提供とご指導を賜りましたオリンパスの玉井豊広博士、論文のご高閲を賜りました特定非営利活動法人HLA研究所の佐治博夫先生、ならびに有効なHLA適合血小板輸血の実施に、ご協力くださいました長野県内13病院の先生方に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) Novotny VMJ : Prevention and management of platelet transfusion refractoriness. *Vox Sanguinis*, 76 : 1 13, 1999.
- 2) The trial to reduce alloimmunization to platelets study group : Leukocyte reduction and ultraviolet B I radiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusions. *N Engl J Med*, 337 : 1861 1870, 1997.

- 3) Bunce M, Barnardo MCNM, Procter J, et al : High resolution HLA-C typing by PCR-SSP : Identification of allelic frequencies and linkage disequilibria in 604 unrelated random UK Caucasoids and a comparison with serology. *Tissue Antigens*, 48 : 680 691, 1996.
- 4) Johnson AH, Rossen RD, Butler WB : Detection of alloantibodies using a sensitive antiglobulin microcytotoxicity test. *Tissue Antigens*, 2 : 215 226, 1972.
- 5) Sintnicolaas K, de Vries W, van der Linden R, et al : Simultaneous flow cytometric detection of antibodies against platelets, granulocytes and lymphocytes. *J Immunol Meth*, 142 : 215 222, 1991.
- 6) Shibata Y, Juji T, Nishizawa Y, et al : Detection of platelet antibodies by a newly developed mixed agglutination with platelets. *Vox Sang*, 41 : 25 31, 1981.
- 7) Pei R, Wang G, Tarsitani C, et al : Simultaneous HLA class I and class II antibodies screening with flow cytometry. *Hum Immunol*, 59 : 313 322, 1998.
- 8) Ohgama J, Yabe R, Tamai T, et al : A new solid-phase assay system using magnetic force on blood group serology. *Transfusion Medicine*, 6 : 351 359, 1996.
- 9) 森田庄治, 井上 進, 川田紀子, 他 : 磁性粒子を使用した迅速な血小板抗体検出の試み. *血液事業*, 25 : 33 40, 2002.
- 10) Duquesnoy RJ, Filip DJ, Tomasulo PA, et al : Role of HLA-C matching histocompatible platelet transfusion therapy of alloimmunized thrombocytopenic patients. *Transplant Proc*, 4 : 1927 1928, 1977.
- 11) Saito S, Ota S, Seshimo H, et al : Platelet transfusion refractoriness caused by a mismatch in HLA-C antigens. *Transfusion*, 42 : 302 308, 2002.
- 12) Saito S, Ota S, Yamada E, et al : Allele frequencies and haplotypic associations defined by allelic DNA typing at HLA class I and class II loci in the Japanese population. *Tissue Antigens*, 56 : 522 529, 2000.
- 13) Brand A, Sintnicolaas K, Claas FH, et al : ABH antibodies causing platelet transfusion refractoriness. *Transfusion*, 26 : 463 466, 1986.
- 14) Duquesnoy RJ, Anderson AJ, Tomasulo PA et al : ABO compatibility and platelet transfusions of alloimmunized thrombocytopenic patients. *Blood*, 54 : 595 599, 1979.
- 15) K Ogasawara, J Ueki, M Takenaka et al : Study on the expression of ABH antigens on platelets.

- Blood, 82 : 993 999, 1993.
- 16) Larsson LG, Welsh VJ, Ladd DJ : Acute intravascular hemolysis secondary to out of group platelet transfusion. Transfusion, 40 : 902 906, 2000.
- 17) Ozturk A, Turken O, Sayan O, et al : Acute intravascular hemolysis due to ABO incompatible platelet transfusion. Acta Haematol, 110 : 211 212, 2003.
- 18) 齊藤 敏, 太田正穂, 勝山善彦, 他 : 抗 HLA クラス I 抗体の方法別検出感度と血小板輸血患者における方法別抗体検出率 AHG-LCT, LIFT, PIFT, M-MPHA および FlowPRA の比較 . 日輸血会誌, 50 ( 6 ) : 753 760, 2004.
-