

症 例

一次免疫反応により産生された抗 C + e 抗体による
遅発性溶血性輸血副作用を呈した 1 例

北澤 淳一^{1,2)} 猪股真喜子^{1,3)} 鎌田 千鶴^{1,3)} 田中 一人⁴⁾
細川 和子³⁾ 斉藤 大文³⁾ 村上 知教⁵⁾ 生田 満⁵⁾
竹村 篤人⁶⁾ 長谷川聖子⁶⁾ 三上 貴史⁷⁾

¹⁾黒石市国民健康保険黒石病院輸血療法管理室

²⁾同 小児科

³⁾同 臨床検査科

⁶⁾同 脳神経外科

⁷⁾同 内科

⁴⁾弘前大学医学部附属病院輸血部

⁵⁾青森県赤十字血液センター

(平成 17 年 6 月 20 日受付)

(平成 17 年 7 月 29 日受理)

A CASE OF DELAYED HEMOLYTIC TRANSFUSION REACTION DUE
TO ANTI-C + e ANTIBODY CAUSED BY PRIMARY IMMUNE RESPONSE

Junichi Kitazawa^{1,2)}, Makiko Inomata^{1,3)}, Chiduru Kamata^{1,3)}, Kazuto Tanaka⁴⁾,
Kazuko Hosokawa³⁾, Hirobumi Saito³⁾, Tomonori Murakami⁵⁾, Mitsuru Ikuta⁵⁾,
Atsuhito Takemura⁶⁾, Seiko Hasegawa⁶⁾ and Takafumi Mikami⁷⁾

¹⁾Division of Blood Transfusion, ²⁾Department of Pediatrics, ³⁾Division of Clinical Laboratory

⁶⁾Department of Neurosurgery, ⁷⁾Department of Internal Medicine, Kuroishi General Hospital ;

Division of Transfusion Medicine, ⁴⁾Hirosaki University Hospital ; and ⁵⁾Aomori Red Cross Blood Center

We report here a rare case of delayed hemolytic transfusion reaction (DHTR) probably caused by a primary immune response. The patient was a 69-year-old Japanese female who underwent neurosurgery for subarachnoid hemorrhage. For treatment of post-operative hemorrhage, she received 2 units of packed red cells (Ir-RC-MAP) per day for 6 days, for a total of 12 units. On day 33 after the first transfusion, she showed symptoms of hemoglobinuria, anemia, thrombocytopenia, elevated levels of serum LDH and total bilirubin, and a decreased level of serum haptoglobin. Her blood was typed as A, ccDEE. Partial coagulation was observed on Rh blood-type examination for C and e but disappeared on day 37 after the first transfusion. On irregular antibody screening of patient serum collected 37 days after the first transfusion, IgM type anti-C + e was detected by MTS-Pap. We found that the immunoglobulin class of anti-C + e switched from IgM to IgG during the clinical course. These findings suggest that the DHTR was probably due to anti-C + e caused by a primary immune response.

Key words : delayed hemolytic transfusion reaction, anti-C + e antibody, primary immune response, post-transfusion thrombocytopenia, anti-HLA antibody

はじめに

溶血性輸血副作用は、非溶血性副作用に比して頻度は少ないものの、ひとたび発症すれば重篤な症状を呈する。特に ABO 不適合にみられる急性溶血反応は時に致死的で、発症防止のための対策が講じられている。しかし、ABO 以外の血液型抗原に対する不規則抗体により生じる遅発性溶血性輸血副作用 (DHTR) は、妊娠歴・輸血歴を有する患者に二次的免疫反応によって、多くは2週間以内に発症するが、輸血前には DHTR の原因となる不規則抗体が検出感度以下で、その発症を予測することは困難である¹⁾⁻³⁾。また、頻度的には少ないが一次的免疫反応による溶血反応も存在し、その発症は全く予想できない¹⁾⁻³⁾。

今回我々は、赤血球 MAP (Ir-RC-MAP) 輸血後の一次免疫反応による DHTR を経験したので報告する。

症 例

症例は、69 歳女性。妊娠歴 1 回、輸血歴あり (約 20 年前、2,000ml、詳細不明)。平成 17 年 3 月 20 日にくも膜下出血のために黒石病院脳神経外科において開頭術を受け、翌 21 日より、術後出血に対して RC-MAP 1 日 2 単位 6 日間の輸血を受けた (合計 12 単位、初回輸血日を輸血後 0 日とする) 輸血後は貧血の改善は速やかで経過は順調であった。輸血後 33 日に、頭痛、腰痛、顔色不良、全身倦怠感、褐色尿排泄あり、同内科を受診した。内科受診時にはフェノバルビタール (PB) を内服中であった。

臨床経過 (Fig. 1)

受診時には、顔色不良、貧血様眼球結膜を呈したが、肝脾腫、出血斑・紫斑、表在リンパ節腫脹は認めなかった。検査結果 (Table 1) より、貧血、血小板減少、T-Bil 高値、AST 高値、LDH 高値、腎機能障害、直接グロブリン試験 (DAT) 弱陽性、ヘモグロビン尿、ハプトグロビン (Hpt) 低下を認めた。不規則抗体スクリーニング検査は弱陽性であったが、同定不能であった。薬剤性溶血性貧血

も疑い、PB 内服を中止、プレドニン (Pred) 内服を開始した。血小板数は速やかに改善したが、貧血は遷延。輸血後 40 日ごろより網状赤血球が増加し、貧血は改善傾向となり、輸血後 48 日に退院した。貧血、Hpt 値、溶血所見は正常化、腎機能障害は軽快した。

方 法

血液型検査は常法に従って施行した。

DAT、不規則抗体スクリーニングはカラム凝集法 (MTS) (MTS-プロメリン 1 段法 (MTS-Bro)、MTS-間接抗グロブリン法 (MTS-IAT)) で行った。不規則抗体の同定は、MTS-Bro、MTS-ババイン 2 段法 (MTS-Pap)、MTS-IAT、ポリエチレングリコール添加間接抗グロブリン法 (PEG-IAT) により行い、抗原テーブルより判定した。一部の検体では、2メルカプトエタノール (2ME) 処理⁴⁾を併用して MTS-Pap 法で不規則抗体同定検査を行い、免疫グロブリンクラスを検索した。

抗血小板抗体、抗 HLA 抗体は、エス・アール・エルに依頼し、それぞれ混合受身凝集法、細胞障害試験により行った。

結 果

血液型：患者の血液型は、A、ccDEE、MNss、P₂、Le(a-b+)、Fy(a+b-)、Jk(a+b+)、Di(a+b+)、Jr(a+)、Xg(a+) であった。輸血後 33 日の検体では C、e 型検査において部分凝集を認めたが、輸血後 36 日の検体では部分凝集を認めなかった。使用した RC-MAP の血液型は当院にも血液センターにも保存血球がなく検査できなかった。

交差適合試験：輸血当日 3 月 20 日、24 日に MTS-Bro、MTS-IAT にて施行したが、いずれも陰性であった。

DAT：輸血後 33 日の検体では DAT 弱陽性であったが、解離試験は陰性であった。輸血後 34 日では DAT 陰性であった。

不規則抗体検査 (Table 2)：輸血前検体 (輸血当日) は再検査によっても陰性であった。MTS-Pap

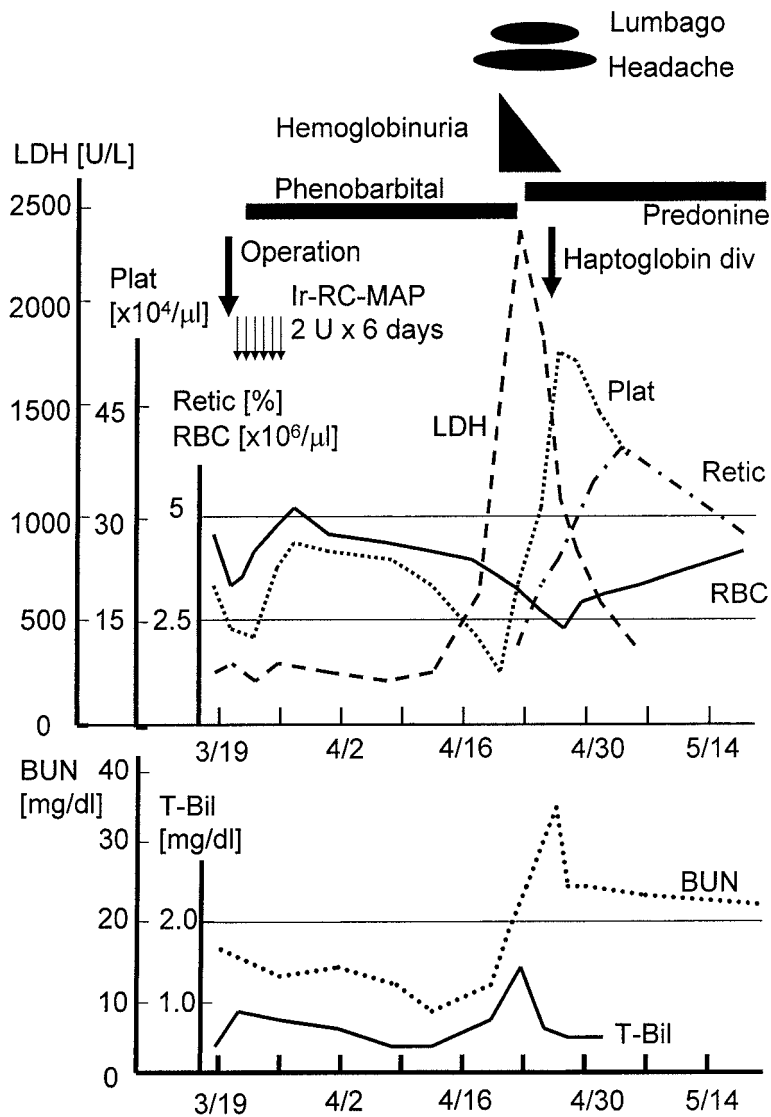


Fig. 1 Clinical course

The patient was admitted due to subarachnoid hemorrhage on Mar 19, 2005 and underwent clipping surgery on Mar 20, 2005. Ir-RC-MAP was transfused beginning on March 21, 2005, at 2 units per day for 6 days. On April 21 dark brown urine (hemoglobinuria) was observed, along with the symptoms of headache and back pain. Laboratory findings showed hemolytic anemia, thrombocytopenia, and high values for LDH, BUN, and T-Bil. After administration of prednisolone, platelet count recovered to the normal value. Hemoglobinuria continued for about 5 days. Reticulocytosis was observed from April 27, 2005, and red cell transfusion was not required for the treatment of her hemolytic anemia. Anemia was corrected without transfusion about 14 days after the occurrence of hemoglobinuria.

Table 1 Laboratory data on days 33 and 36 after first transfusion

Days after first transfusion	33	36	Days after first transfusion	33	36
WBC	7,100	9,000 / μ l	TP	7.0	6.9 g/dl
Neutro	7	69.3 %	Alb	4.2	3.9 g/dl
Lymph	64	21.6 %	T-Bil	1.6	0.4 mg/dl
Mono	6	8.5 %	D-Bil	0.2	0.1 mg/dl
Eosino	1	0.5 %	AST	90	26 U/l
Baso	1	0.1 %	ALT	33	27 U/l
RBC	3.47	2.62 \times 10 ⁶ / μ l	LDH	2,304	1,770 U/l
Hb	10.5	8.1 g/dl	LDH1		42 %
Ht	31.6	24.0 %	LDH2		37 %
MCV	91.2	91.6 fl	LDH3		17 %
MCH	33.3	31.1 pg	LDH4		3 %
MCHC	30.4	33.9 g/dl	LDH5		1 %
Plat	96	217 \times 10 ³ / μ l	Alp	311	300 U/l
Retic	23.7	33.9 ‰	γ -GTP	54	49 U/l
			ChE	142	125 U/l
PT		11.0 sec	BUN	26	36 mg/dl
		107 %	Creat	1.5	2.0 mg/dl
aPTT		22.3 sec	T-Chol	194	196 mg/dl
fibri		357 mg/dl	TG		289 mg/dl
D-dimer		4.8 μ g/ml	Na		134 mEq/l
			K		3.9 mEq/l
CRP		0.8 mg/dl	Cl		107 mEq/l
IgG		1,240 mg/dl	Ca		8.8 mg/dl
IgA		223 mg/dl	P		2.5 mg/dl
IgM		47 mg/dl	Fe		85 μ g/dl
MPHA		40 >	UIBC		144 μ g/dl
ferr		847.9 ng/ml			
C3		136 mg/dl	screening for irregular antibody	(±)	(±)
C4		24 mg/dl	anti-platelet antibody		(+)
CH50		71.2 CH50/ml	anti-HLA antibody		(+)
ANA		(-)			
LE test		(-)	Urinalysis		
			protein	100	30 mg/dl
Hpt	10 >	10 > mg/dl	glucose	0.05	0.3 g/dl
			keton	(-)	(-)
serum hemoglobin	410	mg/dl	occult blood	4 +	4 +
urine hemoglobin		1 > mg/dl	urobilinogen	0.1	0.1 Eu/dl
VB12		924 pg/ml	bilirubin	(-)	(-)
folic acid		7.9 ng/ml	sed-RBC	5 ~ 9	1 ~ 4 /hpf
direct antiglobulin test	(-)		occult blood in feces		(-)

で、33日では陰性であったが、37日は抗C、抗e抗体が確認された。MTS-Broでは34、37日ともに弱陽性で、輸血後39日以降は徐々に凝集が強くなった。MTS-IATは34、37日陰性、39日に弱陽性であった。輸血後66日に、ようやくMTS-IATでも抗C、抗e抗体が確認された。2ME処理

MTS-Pap法の検討 (Table 3)により、輸血後37日の検体では抗C+e抗体、抗e抗体の抗体価はともに1:8であったが2ME処理により<1:2となり、輸血後67日の検体では抗C+e抗体、抗e抗体の抗体価はそれぞれ1:8、1:4であったが2ME処理により抗C+e抗体1:2抗e抗

Table 2 Patient's DHTR sample test results using irregular antibody-detection methods

Days after first transfusion	33	34	37	39	41	58	66
MTS-Pap	0	NT	3+	NT	NT	NT	4+
MTS-Bro	NT	w+	w+	1+	2+	3+	4+
MTS-IAT	NT	0	0	w+	w+	w+	2+
PEG-IAT	NT	NT	0	NT	NT	NT	NT

MTS-Pap : Micro Typing System (MTS) 2-stage papain test ; MTS-Bro : MTS-1 stage bromelin test ; MTS-IAT : MTS-indirect antiglobulin test ; PEG-IAT : IAT using polyethylene glycol ; NT : not tested

Table 3 Titers of anti-C + e and anti-e antibody detected by MTS-Papain with or without 2-mercaptoethanol (2ME) treatment

	37 days after first transfusion		67 days after first transfusion		Rh-Hr (Rh typing)
	treated	untreated	treated	untreated	
anti-C + e	< 1 : 2	1 : 8	1 : 2	1 : 8	R1R1 (CCDee)
anti-e	< 1 : 2	1 : 8	< 1 : 2	1 : 4	rr (ccdee)

体 < 1 : 2 となった。

抗血小板抗体検査：輸血前検体がなく、輸血後 4 日、輸血後 37 日の検体を用いて検索し、いずれの検体からも抗血小板抗体が検出された。

抗 HLA 抗体：輸血後 37 日の検体を用いて検索し広範な高力価抗 HLA 抗体を検出した。

考 察

輸血は、一種の臓器移植であり、さまざまな副作用を惹起する¹⁾。発熱や発疹などの非溶血性副作用と、ABO 不適合に代表される溶血性副作用がある。溶血性副作用のうち、DHTR は予測不可能³⁾で、受血者の約 0.05%、輸血単位数としては約 12,000 単位に 1 回の頻度で発症するといわれ²⁾、溶血を起こさない不規則抗体獲得のみの遅発性血清学的輸血副作用(DST⁴⁾をも含めると、決してまれではない⁶⁾。

提示症例の溶血性副作用の原因として、当初は薬剤性溶血性貧血も否定できなかった。しかし、継続内服中の PB では副作用としての溶血性貧血の報告はなく、不規則抗体が検出されたこと、溶血反応が強かった輸血後 33 日に認めた部分凝集がその後消失したことから、輸血された赤血球が

患者の体内で破壊されたと考え、DHTR と診断した。

提示症例の Rh 血液型が C 陰性 (約 15%)⁷⁾、e 陰性 (約 10%)⁸⁾と比較的少ない血液型 ccDEE (9.06%)⁹⁾で、検査結果にて抗 C、抗 e 抗体が検出されたことから、DHTR の発症機序は前回輸血または妊娠時に獲得した不規則抗体による二次免疫反応と予想した。発症時 (輸血後 33 日) の DAT が弱陽性で、その弱陽性血球の解離試験が陰性であり、翌輸血後 34 日の DAT が陰性、また輸血後 37 日には部分凝集が消失したことより、輸血された C、e 抗原陽性の赤血球は検出感度以下と考えられる低力価抗 C、抗 e 抗体により速やかに溶血され体外に排出されたと考えられる。不規則抗体同定検査結果は輸血後 37 日に MTS-Pap 強陽性、MTS-Bro 弱陽性、MTS-IAT・PEG-IAT 陰性であり輸血後 66 日には MTS-Pap・MTS-Bro 強陽性、MTS-IAT 陽性を示したことから、また輸血後 37 日は 2ME に感受性を示したために不規則抗体は IgM 抗体と考えられ、輸血後 67 日には未処理で抗体価が下がって (抗 e 抗体)、2ME 処理に弱く反応 (抗 C) したことから IgG 抗体が産生されてきたと考

えられ⁹⁾、既報¹⁰⁾と同様に、抗 C、抗 e 抗体の免疫グロブリンクラスは DHTR 発症時には IgM クラス抗体、後に IgG クラス抗体が出現したと考えられた。Rh 型やそれ以外の血液型不適合による溶血性貧血の原因となる温式抗原抗体反応では、一般に IgG クラス抗体が主な役割を演じる¹¹⁾といわれるが、提示症例では IgM クラス抗体が DHTR の主な役割を演じたと考えられたこと、溶血反応が 30 日以上経過してから発症したことから、提示症例の DHTR の発症機序は一次免疫反応によると結論した。すなわち、提示症例は、一次免疫反応によって産生された、検出感度以下または酵素法のみで検出可能であったほどの低力価の IgM クラス抗 C + e 抗体によって、ヘモグロビン尿の出現、血漿ヘモグロビン高値という血管内溶血と考えられる急激な溶血反応が、輸血後 30 日以上経過してから発症した貴重な症例である。

DHTR では、発症時に肉眼的にも明らかな黄疸を認めることが多いが、提示症例では溶血性貧血の程度に比して黄疸が軽度であった。提示症例が内服していた PB は、ビリルビン代謝酵素を誘導することから、黄疸の治療薬として用いられたこともある¹²⁾。PB を内服していたために、これらの酵素誘導により黄疸が軽度であったと推測された。

後方視的な検索によって、輸血後 4 日、37 日に抗血小板抗体陽性、輸血後 37 日の検体では広範な高力価抗 HLA 抗体陽性が判明した。前回の輸血方法の詳細は不明であるが、抗 HLA 抗体は、妊娠時あるいは前回輸血時に混入した白血球・血小板に感作されて生じたと考えられる。抗 HLA 抗体により形成された免疫複合体が患者血小板を巻き込んで破壊されるという機序¹³⁾によって、同種赤血球輸血後に血小板減少を発症したと考えた。しかし、従来の輸血後紫斑病の報告よりも発症時期が遅く¹⁴⁾、三島らが RC-MAP 輸血後に血小板減少と溶血性貧血を認めた症例を報告しており¹⁵⁾、提示症例においては DHTR 発症との関連も疑われる。

抗 HLA 抗体により発症した輸血後紫斑病には免疫グロブリン大量療法が無効でステロイド投与が有効であったという報告¹⁶⁾があるが、提示症例

も Pred 投与により速やかに血小板数の増加を見た。しかし、溶血反応には Pred 投与は無効で、標的となった赤血球が速やかに溶血した。合併した腎機能障害により不幸の転帰をとった DHTR の報告¹⁷⁾もあり、ハプトグロビン投与や補液などの対症療法が重要である。

抗 HLA 抗体は急性または遅発性溶血性副作用の原因となることが報告されている¹⁸⁾¹⁹⁾。すなわち、赤血球膜上に発現される class I 抗原である Bg 抗原(HLA B7, B17, A28 に対応)が抗原抗体反応の標的となりうる。実際、提示症例の抗 HLA 抗体は、B7, B17 を含む HLA 核型に対しても強く反応した。しかし、提示症例においては不規則抗体同定検査において抗 Bg 抗体の存在は否定され、抗 HLA 抗体が輸血後 4 日でも検出されていたことから、検出された抗 HLA 抗体が DHTR 発症に関与した可能性は低いと考えた。

一般に、輸血後には DHTR のみではなく、臨床症状を呈さない DSTR に対しても、不規則抗体の検出に努めることが重要である。提示症例では、酵素 2 段法の MTS-Pap が輸血後 37 日に最も早く 3+ となり、1 段法の MTS-Bro も w +、輸血後 39 日は 1+ で、MTS-IAT では検出できなかったことから、既報⁶⁾にもあるように Rh 系の初期抗体検出には酵素法が優れていた。また、不規則抗体検出は輸血後 2~16 週(平均 8.1 週)という報告もある²⁰⁾。したがって、不規則抗体の検索は、たとえば輸血後肝炎ウイルス検査と同様に輸血後 2~3 カ月たってからも、複数の方法により繰り返し検索する必要がある。その情報を正しく患者に伝達(カードなどを作成して患者に持たせる、など)し、将来の輸血に供すれば、二次的免疫反応による輸血副作用は回避できる可能性がある⁵⁾。また、抗血小板抗体または抗 HLA 抗体の検索により、術後の輸血後紫斑病の発症を予測できる可能性がある。さらに、輸血後数週間を経過してもなお発症する副作用の原因を追及するために、輸血前患者検体の保管ばかりではなく、血液製剤のセグメントの一定期間の保管も重要である。

文 献

- 1) 前田平生, 遠山 博: 輸血の副作用・合併症. 遠山博編, 輸血学, 改訂第3版, 中外医学社, 東京, 2004, 530-587.
- 2) 澤部孝昭, 宮 達彦, 屋代 達, 他: 遅発性溶血性輸血副作用の検討. 日輸血会誌, 36: 974-978, 1993.
- 3) 山口富子, 安田広康, 佐藤久美子, 他: 複数の抗体(抗C, 抗e, 抗Jk^a, 抗P₁抗体)により短期間に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: 896-900, 1997.
- 4) 輸血検査標準部会: 母児血液型不適合検査. 日本臨床衛生検査技師会ライブラリーXII 輸血検査の実際, 改訂第3版, 日本臨床検査技師会, 東京, 2003, 92-99.
- 5) Ness PM, Shirey RS, Thoman SK, 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.
- 6) Vamvakas EC, Pineda AA, Reisner R, et al: The differentiation of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reaction: Incidence and predictors of hemolysis. *Transfusion*, 35: 26-32, 1995.
- 7) 浅井隆善: 抗C抗体. 広範囲血液・尿化学検査免疫学的検査(下巻), 1995増刊, 584-586.
- 8) 伊藤道博: 血液型の検査 Rh血液型. *Medical Technology*, 31: 1480-1490, 2003.
- 9) 安部勝美: 母児血液型不適合検査. 認定輸血検査技師制度協議会カリキュラム委員会編, スタンダード輸血検査テキスト, 医歯薬出版, 東京, 2004, 115-119.
- 10) 石丸 健, 天満智佳, 藤原義一, 他: 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副作用の1症例. 日輸血会誌, 50: 768-773, 2004.
- 11) Ware RE: Primary autoimmune hemolytic anemia. In: Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT, eds, *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*, 6th ed, WB Saunders, Philadelphia, 2003, 527-539.
- 12) 仮家公夫: ビリルビン代謝とフェノバルビタール その作用機序と薬効. 薬局, 38: 51-57, 1987.
- 13) 大戸 斉: 同種輸血による術後血小板減少症 自己血輸血による予防. 自己血輸血, 12: 259-262, 1999.
- 14) 猪狩次雄, 大戸 斉, 安田広康, 他: 抗HLA抗体を有する受血者における開心術輸血後血小板減少. 日輸血会誌, 48: 162, 2002.
- 15) 三島清司, 熊倉俊一, 田中順子, 他: MAP輸血後に血小板減少と溶血をきたした1症例. 日輸血会誌, 50: 795, 2004.
- 16) Puig N, Sayas MJ, Montoro JA, et al: Post-transfusion purpura as the main manifestation of a trilineal transfusion reaction, responsive to steroids: flow-cytometric investigation of granulocyte and platelet antibodies. *Ann Hematol*, 62: 232-234, 1991.
- 17) 上村正巳, 植野正秋, 清野詩子, 他: 抗Di^bによる遅発性溶血性輸血副作用により急性腎不全に陥った1症例. 血液事業, 20: 38-40, 1997.
- 18) Benson K, Agosti SJ, Latoni-Benedetti GE, et al: Acute and delayed hemolytic transfusion reactions secondary to HLA alloimmunization. *Transfusion*, 43: 753-757, 2003.
- 19) 馬場千華子, 小野 智, 三浦里織, 他: 症例で学ぶ輸血検査 複数赤血球抗体と赤血球交差反応性HLA抗体産生例における2回の遅発性溶血性輸血副作用. 日輸血会誌, 50: 224, 2004.
- 20) Redman M, Regan F, Contreras M: A prospective study of the incidence of red cell alloimmunization following transfusion. *Vox Sang*, 71: 216-220, 1996.