

症 例

複数の不規則抗体により適合血確保に難渋した鎌状赤血球症の1例

丸山美津子¹⁾ 田中 由美¹⁾ 中川 泰久²⁾ 藤井 忍²⁾
森口 洋子²⁾ 葛西千枝子¹⁾ 信田 憲行²⁾ 藤枝 敦史³⁾
和田 英夫⁴⁾ 登 勉⁴⁾ 今井 重美⁵⁾ 内川 誠⁶⁾
榎屋 正浩¹⁾

¹⁾三重大学医学部附属病院輸血部

²⁾三重大学医学部附属病院中央検査部

³⁾三重大学医学部血液・腫瘍内科

⁴⁾三重大学医学部臨床検査医学講座

⁵⁾三重県赤十字血液センター

⁶⁾東京都赤十字血液センター

(平成 17 年 10 月 19 日受付)

(平成 18 年 2 月 7 日受理)

我々は、複数の不規則抗体の存在により、適合血確保に難渋した鎌状赤血球症（以下 SCD）の 18 歳ブラジル人女性症例を経験したので報告する。ブラジル在住の 2 歳時に SCD と診断され、以来、輸血を繰り返して受けてきた。来日 4 日前、ブラジルにて急性アルコール中毒のため入院し、点滴と輸血を受けた。来日翌日、両側大腿部痛を主訴に当院内科へ緊急入院した。著明な溶血のため輸血が必要であった。不規則抗体検査で抗 E、抗 M、抗 S 抗体が検出されたので、E、M、S 抗原陰性 MAP を用いて交差適合試験を行ったが、数単位しか適合 MAP が得られなかった。患者の血液サンプルを東京都中央血液センターに送り、詳細な血液型検査と、不規則抗体の同定を依頼した。Percoll-Urografin 比重遠沈法により分離した患者網状赤血球と低張食塩液により分離した患者赤血球を用いて詳細な血液型が検査された。その結果、患者の血液型は、CcDee, Le (a-b-), NNss, Fy (a+b+), Jk (a+b+), Di (a-b+) であった。さらに IgG 型抗 Yk^a 抗体が同定された。我々は、全国調整により出来る限り患者の詳細な血液型と一致した MAP を得ることができた。SCD 患者への赤血球輸血に際しては、不規則抗体産生を予防するために患者の詳細な血液型に一致した MAP を確保することと白血球除去が重要であると思われる。

キーワード：鎌状赤血球症、不規則抗体、詳細な血液型検査、抗 Yk^a 抗体

はじめに

鎌状赤血球症 (sickle cell disease 以下 SCD) は β 鎖グロビンの 6 番目のグルタミン酸がバリンに置換された異常ヘモグロビン S (HbS) によって特徴的な症状を呈する。SCD 患者はマラリアが多発するアフリカの熱帯地帯に多いが、ギリシア、イタリア、イスラエル、米国、南米西部にも広く分

布している。日本では稀な疾患であったが、近年、海外特に南米からの移住者が増加しており、SCD 患者に遭遇する機会が増加すると推測される。低酸素分圧下で酸素解離が起これば HbS が線維束状のポリマーを形成し、赤血球は鎌状に変形する。SCD では溶血性貧血だけでなく、変形した赤血球による血管閉塞が原因で心、肺、肝、腎、脾、骨

Table 1 Laboratory data of the patient on admission

| Complete blood count | | Blood chemistry | | | |
|----------------------|-------------------------------------|-----------------|------------------|-------------|------------------|
| WBC | <u>30,500</u> / μ l | TP | 7.1 g/dl | BUN | 6 mg/dl |
| Myel | 1.5 % | Alb | <u>3.1</u> g/dl | Cre | 0.5 mg/dl |
| Meta | 2.5 % | AST | 24 IU/l | Na | <u>132</u> mEq/l |
| Ne | 83.5 % | ALT | 27 IU/l | K | 4.2 mEq/l |
| Mo | 3.5 % | LDH | <u>553</u> IU/l | Cl | 99 mEq/l |
| Ly | 9.5 % | T-Bil | <u>3.2</u> mg/dl | Ca | 8.9 mg/dl |
| RBC | <u>194</u> $\times 10^4$ / μ l | γ -GTP | 50 IU/l | P | 4.0 mg/dl |
| Hb | <u>6.5</u> g/dl | ALP | <u>477</u> IU/l | CRP | <u>3.2</u> mg/dl |
| Ht | <u>13.2</u> % | ChE | 0.77 Δ pH | Hp | < 7.94 mg/dl |
| MCV | 98.5 fl | T-Chol | 89 mg/dl | | |
| MCHC | 34.0 % | TG | 67 mg/dl | | |
| Ret | <u>184</u> ‰ | Glu | 126 mg/dl | Coombs test | (-) |
| PLT | <u>85.8</u> $\times 10^4$ / μ l | CK | 129 IU/l | | |

Abnormal values are underlined. WBC indicates white blood cells ; Myel, myelocytes ; Meta, metamyelocytes ; Ne, neutrophils ; Mo, monocytes ; Ly, lymphocytes ; RBC, red blood cells ; Hb, hemoglobin ; Ht, hematocrit ; MCV, mean corpuscular volume ; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration ; Ret, reticulocytes ; PLT, platelets ; TP, total protein ; Alb, albumin ; AST, aspartate aminotransferase ; ALT, alanine aminotransferase ; LDH, lactic dehydrogenase ; T-Bil, total bilirubin ; γ -GTP, γ -glutamyltransferase ; ALP, alkaline phosphatase ; ChE, cholinesterase ; T-Chol, total cholesterol ; TG, triglyceride ; Glu, glucose ; CK, creatine kinase ; BUN, blood urea nitrogen ; Cre, creatinine ; CRP, C-reactive protein ; Hp, haptoglobin.

などの臓器障害が認められる。これらの症状は高所飛行、高地での運動、急性アルコール中毒、重症肺炎などによる呼吸障害に際して出現する。

また、SCD患者においては赤血球輸血により臨床的に意義のある赤血球同種抗体または赤血球自己抗体を産生する確率が高く¹⁾²⁾、特に小児の場合、遅発性溶血性副作用を合併したとする報告がある³⁾⁴⁾。今回、我々は、重篤な溶血発作に対する輸血に際し、複数の不規則抗体のため適合血確保に難渋したSCD症例を経験したので報告する。

症 例

患者は18歳のブラジル人女性。2歳時、右前腕を骨折して病院を受診した際、初めてSCDと診断され、以後6歳まで貧血と感染症のために入退院を繰り返した。11歳時に初来日した際の当院小児科での血液型検査は、O型Rho(D)陽性、不規則抗体陰性であった。15歳時にブラジルに帰国後も、貧血に対して時々輸血を受けていた。17歳時再来日し、右腎膿瘍で当院腎泌尿器科に入院した

際、抗E抗体が検出された。今回、来日(平成16年8月4日)の4日前にブラジルにて急性アルコール中毒で入院し、点滴と輸血を受けた。再来日した翌日、両側大腿部の疼痛を主訴に当院血液内科を受診し、平成16年8月5日緊急入院した。

入院時検査所見はHb 6.5g/dl, reticulocyte 184‰, WBC 30,500/ μ l, PLT 85.8万/ μ l, LDH 553IU/l, T-Bil 3.2mg/dl, haptoglobin 7.94mg/dl以下, CRP 3.2mg/dlであった(Table 1)。入院翌日には、両下肢痛の増強、38℃台の発熱と共に、貧血(Hb 4.5g/dl)が認められたため、輸血部に赤血球MAP(以下MAP)2単位の依頼があった。

すでに抗E抗体陽性が判明していたために、E抗原陰性のMAPで交差適合試験(間接抗グロブリン法)を行ったが、不適合であった。不規則抗体同定検査を実施し、生理食塩液法(20℃)、間接抗グロブリン法(37℃)により、抗M抗体を検出した。E、M抗原陰性のMAP2単位3本で交差適合試験を行ったところ、2本は適合で、1本は不適

Table 2 Results of blood compatibility testing

| Day of examination | RBC antigens in tested blood | | | | | | Compatibility testing (PEG-IAT) | Day of transfusion |
|--------------------|------------------------------|---|----|-----------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|--------------------|
| | E | M | S | Le ^a | Le ^b | Dj ^a | | |
| Day0 | - | - | - | - | - | NT | w+ | Day0 Day1 |
| | - | - | - | 2+ | 2+ | NT | - | |
| | - | - | - | - | - | NT | - | |
| Day1 | - | - | - | - | - | NT | 1+ | Day2 |
| | - | - | 2+ | - | - | NT | 3+ | |
| | - | - | - | 2+ | 2+ | NT | - | |
| Day4 | - | - | - | - | 1+ | - | 1+ | Day4 Day6 |
| | - | - | - | NT | - | - | 1+ | |
| | - | - | - | - | 1+ | - | 2+ | |
| | - | - | - | - | 1+ | - | 3+ | |
| | - | - | - | - | 3+ | - | w+ | |
| | - | - | - | NT | - | - | - | |
| Day6 | - | - | - | - | - | - | 2+ | Day7 |
| | - | - | - | - | - | - | 1+ | |
| Day8 | - | - | - | - | - | - | w+ | |
| | - | - | - | - | - | - | 1+ | |
| | - | - | - | - | - | - | 1+ | |
| | - | - | - | - | - | - | - | |
| | - | - | - | - | - | - | - | |

Abbreviations : NT, not tested ; PEG-IAT, polyethylene glycol-indirect antiglobulin test

合であった (Table 2). 翌日も同様に E, M 抗原陰性の MAP を用いて交差適合試験を実施したが, 1 本は適合だったものの 2 本は不適合であった. 新たな不規則抗体の存在を考え, 再度不規則抗体同定検査を実施し, プロメリン法 (37°C) により, 抗 S 抗体を検出した. E, M, S 抗原陰性のパネル血球を用いてさらに詳細な抗体の同定を試みたが, 同定不能であった. 入院第 4 病日に再度 MAP の依頼があったが, 三重県赤十字血液センターでは E, M, S 抗原陰性 MAP が確保できなかつたために, 愛知県赤十字血液センターから供給を受けた. 確保した MAP 2 単位 4 本と MAP 1 単位 3 本の交差適合試験を行ったが, MAP 1 単位 1 本のみが適合であった (入院第 4 病日, Hb 4.0g/dl のためこの 1 単位を輸血). MAP 2 単位 1 本は反応が非常に弱かつたため (± と判定), Hb 3.3g/dl となった入院第 6 病日に輸血されたが, 特に蕁麻疹, 発熱, 呼吸困難などの輸血後副作用は見られな

かつた. その後の適合血確保が困難と考えられたため, 三重県赤十字血液センターに不規則抗体の精査を依頼した. 愛知県赤十字血液センターで患者の赤血球抗原を詳細に検査し, できる限り患者の抗原と類似した赤血球 MAP 2 単位 2 本を確保した⁵⁾. 交差適合試験の結果は 1+ と 2+ で不適合であったが, 著明な貧血 (入院第 7 病日, Hb 2.7 g/dl) のために, 1+ を呈した MAP 2 単位を輸血したが, 今回も輸血後副作用は認められなかつた. その後, 全国規模での血液調整で患者抗原と類似した MAP を確保し, 適合 MAP 6 単位を準備することができた. 入院第 6 病日から行ったステロイドパルス療法が奏効し, 第 10 病日から貧血は改善したため, 以後の輸血は不要であった.

検査と結果

貧血に対してブラジルと当院においてすでに輸血が施行されており, 患者自身の赤血球の詳細な解析は困難と考えられた. しかし, 東京都赤十字

Table 3 Extended RBC phenotype and genotype according to different methods

| Method | Rh | MNSs | P1 | Lewis | Duffy | Kidd | Diego | Xg | Jr | Kk |
|--------|------|------|--------|----------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------|--------|----|
| 1 | Ccee | NNss | P1 (+) | Le(a-b-) | Fy(a+b+) | Jk(a+b+) | Di(a-b+) | Xg(a-) | Jr(a+) | kk |
| 2 | NT | NT | NT | NT | Fy ^a /Fy ^b | Jk ^a /Jk ^b | Di ^b /Di ^b | NT | NT | NT |
| 3 | Ccee | NNss | P1 (+) | Le(a-b-) | Fy(a+b+) | Jk(a+b+) | Di(a-b+) | Xg(a-) | NT | NT |

Abbreviation : NT, not tested

Extended RBC phenotype was determined using several different methods.

Methods were as follows : 1, phenotype of reticulocytes separated by Percoll-Urografin density gradients centrifugation⁶⁾ ; 2, genotype of the above reticulocytes by the polymerase chain reaction method using sequence-specific primer (PCR-SSP) ; 3, phenotype of autologous red blood cells separated by washing with hypotonic (0.3%) saline⁵⁾.

Table 4 Reaction of patient's antibodies against Knops blood group antigens

| Knops blood group antigens | Reaction |
|----------------------------|----------|
| CR1 ⁺ s(3) | 3+ |
| CR1 ⁺ w(3) | -/1+ |
| McC(a-)(1) | 3+ |
| McC(c-)(1) | 3+ |
| Kn(a-)(1) | 3+ |
| Yk(a-)(3) | - |
| McC null(1) | - |

Abbreviations : CR1⁺s, red blood cells expressing a high copy of complement receptor 1(CR1) ; CR1⁺w, red blood cells expressing a low copy of CR1.

The patient's antibodies were investigated by absorbing the patient's serum with E, M, S and Di^a antigen-negative red blood cells and eluting antibodies from those cells. Numbers in parentheses indicate the number of tested blood samples.

血液センターにおいて、Percoll-Urografinによる比重遠沈法にて分離した網状赤血球を用いた血液型検査と polymerase chain reaction method using sequence specific primer (PCR-SSP) 法を用いた血液型 (Duffy, Kidd, Diego 式血液型) 検査が実施された⁶⁾。愛知県赤十字血液センター及び当輸血部でも低張食塩液に抵抗性を示す鎌状赤血球の性質を用いて患者赤血球を分離した⁵⁾。AABBのテクニカルマニュアルを参考に0.3%の低張食塩液で患者血球を6回洗浄し(輸血血球は溶血する), 0.9%の等張食塩液で2回洗浄後, 3%血球浮遊液に調製してから血液型を検討した(Table 3)。その結果, 患者の赤血球抗原は CcDee, Le(a-

b-), NNss, Fy(a+b+), Jk(a+b+), Di(a-b+) であると判定した。

東京都赤十字血液センターでは不規則抗体の同定も行われた。数十種類の E, M, S 抗原陰性赤血球と反応させたところ, 間接抗グロブリン(37°C)で強弱(-~3+)が見られたことと, 酵素処理血球との反応性から Knops 式血液型抗原に対する抗体が疑われ精査された。推定される患者の主な血液型に一致する E, M, S, Di^a 陰性血球を用いて吸着・解離を行い, その解離液と Knops 式血液型抗原との反応から新たに抗 Yk^a 抗体を検出した (Table 4)。

考 察

本症例は頻回の輸血により抗 E 抗体, 抗 M 抗体, 抗 S 抗体, 抗 Yk^a 抗体と多数の不規則抗体が産生され, 適合血の準備に難渋した。今回検出された抗 Yk^a 抗体は, 一般に IgG であり, 補体結合性はない。弱い反応性から強いものまで種々の検査結果を示すことが特徴であるが, この抗体は臨床的意義がないと言われている^{7,8)}。実際, 本症例でも著明な貧血のために交差適合試験弱陽性の MAP を輸血したが, 輸血後副作用は全く認められなかった。

SCD 患者では輸血により高率に不規則抗体が産生されるため, 米国では SCD 患者の血液型登録時には非常に詳細な血液型検査や不規則抗体検査が行われている。しかし, 本邦では SCD がきわめて稀な疾患であり, その対応は周知徹底されていない。本症例も数回の当院受診歴があり, かつ, すでに抗 E 抗体が検出されていたが, 輸血を前提にした詳細な血液型検査は行っていなかった。海

外からの移住者の増加に伴い、SCD患者の診療を行う機会が増加することが予測され、今後は、各診療科の医師と綿密な連携を取りながら適切な対応を行いたい。また、頻回輸血の必要性が予測される場合には、同種免疫を回避するために患者の赤血球表現型にできる限り一致した赤血球製剤を選択するとともに白血球除去を行う必要がある⁹⁾。

輸血前の詳細な赤血球抗原の同定が適合血選択のために非常に大切であるが、本症例ではすでに輸血が行われており、患者自身の抗原同定は通常の方法では困難であった。しかし、今回、我々は①低張食塩液を用いて分離した自己赤血球での血液型②Percoll-Urografinによる比重遠沈法を用いて分離した網状赤血球での血液型③PCR-SSP法を用いた血液型(Duffy, Kidd, Diego式血液型)の検査を行い、詳細な結果を得ることができた。特に、低張食塩液を用いた方法は、特別な試薬や機器を必要とせず、非常に簡便でかつ有用な検査法である。

まとめ

著明な溶血発作に対する輸血を準備する際に、複数の不規則抗体の存在により適合血確保に難渋したSCD症例を経験した。輸血部としては、輸血前からSCD患者の診療にあたる主治医と綿密な患者情報の交換を行うと共に、適合血確保が困難と推測される症例に対しては血液センターとの間で緊密な情報交換を行い迅速な供給体制の確保に努めることが必要である。

文 献

1) Aygun B, Padmanabhan S, Paley C, et al. : Clini-

cal significance of RBC alloantibodies and autoantibodies in sickle cell patients who received transfusions. *Transfusion*, 42 : 37—43, 2002.

- 2) Castro O, Sandler SG, Houston-Yu P, et al. : Predicting the effect of transfusing only phenotype-matched RBCs to patients with sickle cell disease : theoretical and practical implications. *Transfusion*, 42 : 684—690, 2002.
- 3) Castellino SM, Combs MR, Zimmerman SA, et al. : Erythrocyte autoantibodies in paediatric patients with sickle cell disease receiving transfusion therapy : frequency, characteristics and significance. *Br J Haematol*, 104 : 189—194, 1999.
- 4) Talano JA, Hillery CA, Gottschall JL, et al. : Delayed hemolytic transfusion reaction/hyperhemolysis syndrome in children with sickle cell disease. *Pediatrics*, 111 : e661—665, 2003.
- 5) Brown D : A rapid method for harvesting autologous red cells from patients with hemoglobin S disease. *Transfusion*, 28 : 21—23, 1998. (AABB編, Technical Manual 13th Edition, 日本語版 監訳 柴田洋一他, 2002, 709, オリンパス工業株式会社提供)
- 6) Branch DR, Hian AL, Carlson F, et al. : Erythrocyte age-fractionation using a Percoll-Renografin density gradient : application to autologous red cell antigen determinations in recently transfused patients. *Am J Clin Pathol*, 80 : 453—458, 1983.
- 7) 坊池義浩, 稲葉洋行, 荒木延夫, その他 : 本邦第1例のYk^a抗体とその輸血後臨床例. *日本輸血学会雑誌*, 38 : 563—567, 1992.
- 8) Tilley CA, Crookston MC, Haddad SA, et al. : Red blood cell survival studies in patients with anti-Cha, anti-Yka, anti-Ge, and anti-Vel. *Transfusion*, 17 : 169—172, 1977.
- 9) Blumberg N, Heal JM, Getting KF : WBC reduction of RBC transfusions is associated with a decreased incidence of RBC alloimmunization. *Transfusion*, 43 : 945—952, 2003.

A YOUNG FEMALE BRAZILIAN WITH SICKLE CELL DISEASE WHO HAD DIFFICULTY
OBTAINING COMPATIBLE BLOOD FOR TRANSFUSION DUE TO
MULTIPLE ALLOANTIBODIES (UNEXPECTED ANTIBODIES)
AGAINST ERYTHROCYTES

Mitsuko Maruyama¹⁾, Yumi Tanaka¹⁾, Yasuhisa Nakagawa²⁾, Shinobu Fujii²⁾, Yoko Moriguchi²⁾,
Chieko Kassai¹⁾, Noriyuki Shinoda²⁾, Atsushi Fujieda³⁾, Hideo Wada⁴⁾, Tsutomu Nobori⁴⁾,
Shigemi Imai⁵⁾, Makoto Uchikawa⁶⁾ and Masahiro Masuya¹⁾

¹⁾Blood Transfusion Service, Mie University Hospital

²⁾Central Clinical Laboratory, Mie University Hospital

³⁾Department of Hematology and Oncology, Mie University Graduate School of Medicine

⁴⁾Department of Laboratory Medicine, Mie University Graduate School of Medicine

⁵⁾Mie Red Cross Blood Center

⁶⁾Tokyo Metropolitan Red Cross Blood Center

We describe an 18-year-old female Brazilian with sickle cell disease (SCD) who had a difficulty in obtaining compatible blood for transfusion because of the presence of multiple alloantibodies (unexpected antibodies) against erythrocytes. A diagnosis of SCD had been made when she was 2 years old and since then had repeated blood transfusions while in Brazil. Four days before visiting Japan, she was treated with intravenous fluid and blood transfusion due to acute alcoholic poisoning. On the day after arriving in Japan, she was admitted to our hospital because of bilateral femoral pain. Severe hemolysis was determined and blood transfusion was required. Anti -E, -M and -S alloantibodies were identified by irregular antibody screening. Although we performed compatibility testing using E, M and S antigen-negative concentrated red blood cells (CRC), only a few units of crossmatch-compatible blood were found. A blood sample from this patient was sent to the Tokyo Metropolitan Red Cross Blood Center reference lab to examine the patient's extended red blood cell (RBC) phenotype and to confirm the presence of additional alloantibodies. The patient's reticulocytes and RBCs were isolated by Percoll-Urografin density gradient centrifugation and washing with hypotonic (0.3%) saline, respectively. Her RBC phenotype was determined as O, D+, C+, c+, E-, e+, M-, N+, S-, s+, Jk (a+b+), Fy (a+b+), P1+, Le (a-b-), Di (a-b+). Further, IgG anti-Yk^a alloantibody was also detected in her serum. We were able to obtain extended phenotype-matched CRC to provide blood compatible with her existing antibodies from the nationwide blood supply. We recommend both extended phenotype-matching and white blood cell reduction for transfusions to SCD patients to prevent the production of alloantibodies.

Key words : sickle cell disease, multiple alloantibodies (unexpected antibodies), extended phenotype-matching, anti-Yk^a alloantibody
